

**ET VE ET ÜRÜNLERİNDEN
LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN
İZOLASYONU
VE BUNLARIN ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

Emine DİNÇER
Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı
Ağustos-2007

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Emine Dinçer'in “**Et Ve Et Ürünlerinden Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu Ve Bunların Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi**” başlıklı **Genel Biyoloji** Anabilim Dalındaki, Yüksek Lisans Tezi 05.07.2007 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı) :	Prof. Dr. MERİH KIVANÇ
Üye :	Prof. Dr. KIYMET GÜVEN
Üye :	Doç. Dr. SEMRA İLHAN

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖZET**YÜKSEK LİSANS TEZİ****ET VE ET ÜRÜNLERİNDEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN
İZOLASYONU VE BUNLARIN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ****Emine DİNÇER****Anadolu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı****Danışman: Prof. Dr. Merih KIVANÇ
2007, 182 sayfa**

Gıda endüstrisinde fermantasyon proseslerinde renk, koku, aroma gibi özelliklerin oluşumu için starter kültür olarak kullanılan laktik asit bakterileri aynı zamanda antimikrobiyal aktiviteye de sahiptirler. Bu çalışmada 8 pastırma, 4 sucuk ve 1 kıyma örneğinden toplam 163 adet laktik asit bakterisi izole edilmiştir. İzole edilen strainlerin antimikrobiyal aktiviteleri sandvic-overlay ve agar difüzyon yöntemi ile test edilmiştir ve yüksek antimikrobiyal aktivite gösteren 52 izolat belirlenmiştir. Seçilen izolatların gösterdikleri antimikrobiyal aktivite üzerine çeşitli enzimlerin, farklı sıcaklık ve pH'nın etkisi agar difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Ayrıca seçilen 52 izolatın fizyolojik testlerle ve ribopirnter sistem ile tanımlama testleri yapılmıştır. Yapılan testler sonucunda izolatların laktik asit, proteolitik aktivite ve hidrojen peroksit miktarları sırasıyla 1,36 – 22,96 mg/ml, 0,001 – 0,487 mg/ml ve 0,001 – 1,082 µg/ml arasında bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Laktik Asit Bakterileri, Fermantasyon, Antimikrobiyal Aktivite, Et ve Et Ürünleri, Pastırma Üretimi

ABSTRACT**Master of Science Thesis****ISOLATION OF LACTIC ACID BACTERIA IN MEAT AND MEAT PRODUCTS AND INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THESE ISOLATES****Emine DİNÇER****Anadolu University
Graduate School of Sciences
Biology Program****Supervisor: Prof. Dr. Merih KIVANÇ
2007, 182 pages**

The lactic acid bacteria commonly used as starter cultures for the formation of features such as colour, odour and aroma in the fermentation processes in food industry, have also antimicrobial activity. In this study, 163 strains of lactic acid bacteria were isolated from 8 pastirma, 4 sausage and 1 minced meat products. These isolates were tested for antimicrobial activity using the sandvic-overlay and agar diffusion methods, and were identified 52 isolates that showed high antimicrobial activity. Effectes of several enzyme, different temperature and pH on antimicrobial activity of selected isolates were investigated by agar diffusion method. In addition, selected isolates were identified using physiological tests and ribopirnter system. As a result off all performed tests, amount of lactic acid, proteolytic activity and hydrogen peroxide produced by the isolates found ranged between 1,36 – 22,96 mg/ml, 0,001 – 0,487 mg/ml and 0,001 – 1,082 µg/ml, respectively.

Keywords: Lactic Acid Bacteria, Fermentation, Antimicrobial Activity, Meat and Meat Products, Production of Pastirma

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleőmesi sırasında bilgi, deneyim ve güler yüzünü benden esirgemeyen; çalıőmamı yakından takip edip, tecrübeleri ile yol gösteren hocam Prof. Dr. Merih Kıvanç'a, laboratuvar çalıőmalarım sırasında yardımcı olan Uzman Erdoğan akır'a, Yard. Doç. Dr. Nalan Yılmaz Sarıozl'ye ve aynı çalışma ortamını paylaőtıėım tüm arkadaőlarıma teőekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca beni yetiőtiren, her zaman, her koőulda maddi ve manevi yönden beni destekleyen, bana g veren aileme ve daima yanımda olan, bana moral veren ablama sonsuz teőekkürü ederim.

Emine DİNÇER

Ağustos - 2007

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x

1. GİRİŞ	1
1.1. Et ve Et Ürünleri	2
1.2. Laktik Asit Bakterileri ve Genel Özellikleri	5
1.3. Laktik Asit Bakterilerinin Gıdalarda Kullanımı	5
1.4. Laktik Asit Bakterilerinde Metabolizma.....	8
1.4.1. Karbonhidrat Metabolizması.....	8
1.4.2. Proteolitik sistem.....	9
1.4.3. Lipit Metabolizması	10
1.5. Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Metabolik Ürünler	11
1.5.1. Laktik asit üretimi	11
1.5.2. Hidrojen Peroksit Üretimi	12
1.5.3. Diasetil ve Asetaldehit Üretimi.....	14
1.5.4. Bakteriyosin Üretimi.....	16
1.5.5. Ekstraselüler Polisakkarit (EPS) Üretimi.....	19
1.6. Laktik Asit Bakterilerinin Sağlık Alanında Kullanımı	22
1.6.1. Probiyotikler ve Prebiyotikler	22
2. MATERYAL VE METOD	27
2.1. MATERYAL	27
2.1.1. Et ve Et Ürünü Örneklerinin Temini ve Laboratuara Getirilmesi.....	27
2.1.2. Test Mikroorganizmaları.....	27
2.1.3. Besi Ortamları	28

2.1.3.1. Arjinin dihidrolaz broth.....	28
2.1.3.2. Bacillus cereus agar	28
2.1.3.3. Beyin kalp infusyon yumuşak agar	29
2.1.3.4. Listeria selective agar.....	29
2.1.3.5. MRS agar	30
2.1.3.6. MRS agar % 6,0 tuz ilaveli	30
2.1.3.7. MRS agar %7,5 tuz ilaveli	31
2.1.3.8. MRS agar %10 tuz ilaveli	31
2.1.3.9. MRS agar laktoz ilaveli.....	31
2.1.3.10. MRS agar sakkaroz ilaveli	31
2.1.3.11. MRS agar fruktoz ilaveli.....	32
2.1.3.12. MRS Broth	32
2.1.3.13. Mueller hinton agar	32
2.1.3.14. Nutrient Broth	33
2.1.3.15. Nutrient Agar	33
2.1.3.16. Plate count agar	33
2.1.3.17. Patates dekstroz agar	33
2.1.3.18. Üç şekerli demir agar	34
2.1.4. Kullanılan Boyalar	34
2.1.4.1. Kristal violet.....	34
2.1.4.2. Safranin	35
2.1.4.3. Lugol	35
2.1.5. Kullanılan Çözeltiler	35
2.1.5.1. Fizyolojik tuzlu su.....	35
2.1.5.2. %20'lik gliserol çözeltisi.....	36
2.1.5.3. Süt tozu çözeltisi (% 15'lik).....	36
2.1.5.4. Laktik asit miktar tayini için standart çözelti.....	36
2.1.5.5. Laktik asit miktar tayini için A çözeltisi.....	36
2.1.5.6. Laktik asit miktar tayini için B çözeltisi	37
2.1.5.7. Laktik asit miktar tayini için C çözeltisi	37
2.1.5.8. Laktik asit miktar tayini için renk ayıracağı	37
2.1.5.9. Proteolitik aktivite tayini için standart çözelti	37

2.1.5.10. 0,72 N Triklorasetik asit çözeltisi	38
2.1.5.11. Na ₂ CO ₃ .Na ₄ P ₂ O ₇ çözeltisi.....	38
2.1.5.12. Fenol Ayıracağı.....	38
2.1.5.13. Hidrojen peroksit tespiti için standart çözelti.....	38
2.1.5.14. 1 N H ₂ SO ₄ çözeltisi.....	39
2.1.5.15. Amonyum molibden çözeltisi	39
2.1.5.16. Potasyum iyodür çözeltisi	39
2.1.5.17. Sodyum fosfat tamponu	39
2.1.6. Kullanılan antibiyotikler	40
2.2. Metot	40
2.2.1. Fermente Et Ürünlerinden Mikroorganizma İzolasyonu	40
2.2.1.1. Fermente Et Ürünlerinden Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu	40
2.2.1.2. Et ve Et Ürünlerinde Aerobik Mezofilik Mikroorganizma Sayımı.....	41
2.2.1.3. Et ve Et Ürünlerinde Maya-Küf Sayımı.....	41
2.2.1.4. Fermente Et Ürünlerinde <i>Bacillus cereus</i> Aranması	42
2.2.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	42
2.2.2.1. Sandvic Overlay Yöntemi.....	42
2.2.2.2. Agar Difüzyon Yöntemi.....	43
2.2.2.3. Sıcaklık, EDTA ve Çeşitli Enzimlerin	
Antimikrobiyal Aktivite Üzerine Etkisi.....	45
2.2.2.4. pH' nın Antimikrobiyal Aktivite Üzerine Etkisi.....	46
2.2.2.5. Sıcaklığın Antimikrobiyal Aktivite Üzerine Etkisi.....	46
2.2.3. Laktik Asit Bakteri İzolatlarının Tanımlanması	46
2.2.3.1. Gram Boyama	47
2.2.3.2. Katalaz Testi.....	48
2.2.3.3. Farklı Sıcaklıklarda Gelişim	48
2.2.3.4. Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişim	48
2.2.3.5. pH; 3,9 da Gelişim	49
2.2.3.6. Hidrojen Sülfür Oluşumu.....	49

2.2.3.7. Arjininden NH ₃ Oluşumu.....	50
2.2.3.8. İzolatların API CHL50 Sistemi İle Tanımlanması.....	50
2.2.3.9. İzolatların Riboprinter Sistem İle Tanımlanması.....	51
2.2.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi.....	52
2.2.5. İzolatların Stoklanması	53
2.2.6. Metabolik Ürünlerin Belirlenmesi	54
2.2.6.1. Laktik Asit Üretiminin Tayini.....	55
2.2.6.2. Proteolitik Aktivitenin Tayini	56
2.2.6.3. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Üretiminin Tayini	57
2.2.7. Ekstraselüler Polisakkarit (EPS) Üretimi.....	58
3. BULGULAR	60
3.1. Et ve Et Ürünlerinden Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu.....	60
3.2. Et ve Et Ürünlerinde Aerobik Mezofilik Mikroorganizma ve Maya-Küf Sayımı.....	61
3.3. Et ve Et Ürünlerinde Bacillus cereus Aranması.....	61
3.4. Antimikrobiyal Aktivite ve Bakteriyosin Benzeri Madde Aktivitesinin Tespiti Sonuçları	62
3.5. Et ve Et Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin İdentifikasyon Test Sonuçları	120
3.6. Laktik Asit Bakteri İzolatlarını Riboprinter Sistem İle Tanımlanması.....	130
3.7. Et ve Et Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakteri İzolatlarının pH ve Metabolik Ürünlerinin Tespiti	135
3.8. Antibiyotik Duyarlılık Testi Sonuçları.....	139
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	142
KAYNAKLAR	166

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1.	Saf filtratların <i>Staphylococcus aureus</i> üzerine olan antimikrobiyal aktivitesi.....	77
Şekil 3.2.	Saf filtratların <i>Bacillus cereus</i> üzerine olan antimikrobiyal aktivitesi.....	77
Şekil 3.3.	Katalaz ilaveli filtratların <i>Escherichia coli</i> üzerine olan antimikrobiyal aktivitesi.....	89
Şekil 3.4.	Katalaz ilaveli filtratların <i>Escherichia coli</i> üzerine olan antimikrobiyal aktivitesi.....	89
Şekil 3.5.	Alfakimotripsin ilaveli filtratların <i>Enterococcus faecalis</i> üzerindeki etkisi.....	94
Şekil 3.6.	Lizozim ileveli filtratların <i>L. monocytogenes</i> serovar I üzerindeki antimikrobiyal etkisi.....	94
Şekil 3.7	pH'ın antimikrobiyal aktivite üzerine etkisi	120
Şekil 3.8.	Sıcaklığın antimikrobiyal aktivite üzerine etkisi.....	120
Şekil 3.9.	149.P2.6 (<i>Lactobacillus plantarum</i>), izolatının ışık mikroskopunda görüntüsü. Büyütme; 100X, Boyama yöntemi; gram boyama.....	126
Şekil 3.10.	29.P2.6 (<i>Enterococcus faecium</i>), izolatının ışık mikroskopunda görüntüsü. Büyütme; 100X, Boyama yöntemi; gram boyama.....	126
Şekil 3.11	Laktik asit bakteri izolatlarının Riboprinter sistemi ile tür düzeyinde tanımlanması	130
Şekil 3.12	Laktik asit bakteri izolatlarının Riboprinter sistemi ile tür düzeyinde tanımlanması	131
Şekil 3.13	Laktik asit bakteri izolatlarının Riboprinter sistemi ile tür düzeyinde tanımlanması	131
Şekil 3.14	Laktik asit bakteri izolatlarının Riboprinter sistemi ile tür düzeyinde tanımlanması	132
Şekil 3.15	Laktik asit bakteri izolatlarının Riboprinter sistemi ile tür düzeyinde tanımlanması	132

Şekil 3.16	Laktik asit bakteri izolatlarının Riboprinter sistemi ile tür düzeyinde tanımlanması	133
Şekil 3.17	Laktik asit bakteri izolatlarının Riboprinter sistemi ile tür düzeyinde tanımlanması	133
Şekil 3.18.	Laktik Asit Miktarı Standart Eğrisi (MRS 400nm)	136
Şekil 3.19.	Proteolitik Aktivite Standart Eğrisi (650 nm)	136
Şekil 3.20.	Hidrojen Peroksit Üretimi Standart Eğrisi (350 nm)	137

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1.	Probiyotik bakterilerin potansiyel etkileri (Sanders 1999)	24
Çizelge 2.1.	Test Mikroorganizmaları (NRRL: Northern Regional Research Laboratory of the USDA, Peoria, Illinois, USA. ATCC: American Type Culture Colection, USA).....	27
Çizelge 2.2.	API CHL50 Sisteminde Kullanılan Karbon Kaynakları.....	51
Çizelge 3.1.	Elde Edilen İzolatların Kaynakları ve Sayıları.....	60
Çizelge 3.2.	Et ve Et Ürünlerinde Bulunan Aerobik Mezofilik Mikroorganizma Sayıları	61
Çizelge 3.3.	LAB İzolatlarına Ait Saf Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi.....	66
Çizelge 3.4.	Katalaz İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi.....	78
Çizelge 3.5.	Proteinaz K İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi.....	90
Çizelge 3.6.	Enzim İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma).....	95
Çizelge 3.7.	pH Değeri Değiştirilmiş Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi.....	113
Çizelge 3.8.	Farklı Sıcaklıklarda Bekletilmiş Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi.....	117
Çizelge 3.9.	Et ve Et Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin İdentifikasyon Test Sonuçları. (+: pozitif, -: negatif, D/Y: dip/yüzey, ±: belirsiz).....	122
Çizelge 3.10.a.	EPS Üretimi İçin Seçilen İzolatların Sukroz İçeren Ortamda Viskoziteleri	127
Çizelge 3.10.b.	EPS Üretimi İçin Seçilen İzolatların Glikoz İçeren Ortamda Viskoziteleri	128
Çizelge 3.10.c.	EPS Üretimi İçin Seçilen İzolatların Laktoz İçeren Ortamda Viskoziteleri	129

Çizelge 3.11.	Laktik Asit Bakteri İzolatlarının Riboprinter Sistem İle Tanımlanması.....	134
Çizelge 3.12.	Et ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakteri İzolatlarının pH ve Metabolik Ürünlerinin Miktarı	137
Çizelge 3.13.	Antibiyotik Duyarlılık Testi Sonuçları (Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. R: dirençli, S: duyarlı).....	139
Çizelge 4.1.	Laktik asit bakterleri tarafından üretilen bakteriyosinlerin enzim duyarlılıkları, asit ve sıcaklık toleransları	151

1. GİRİŞ

Laktik asit bakteri süt, et ve sebze gibi gıdaların fermantasyonunda ve korunmasında yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Gram pozitif, katalaz negatif olan bu bakteriler; bu tip ürünlerin raf ömrünün uzatılmasında temel rol oynayan organik asit, hidrojen peroksit, diasetil ve bakteriyosin gibi maddeleri kapsayan antimikrobiyal bileşikler üretmektedirler. Tüketilen gıdaların içerdikleri koruyucu kimyasal maddelerin toksik veya kanserojenik etki yapabilme gibi olumsuz yönlerinin bulunması, tüketicilerin doğal ve katkı maddeleri içermeyen ürünlere ilgisinin artması gibi sebepler araştırmacıları gıdalara ilave edilen kimyasal maddelerin yerini alabilecek ya da kullanımlarını azaltabilecek olan, gıdalarda koruyucu özelliğe sahip doğal inhibitör maddeleri araştırmaya sevk etmiştir. Bu bağlamda ürettikleri antimikrobiyal bileşikler ve fermantasyonda kullanılabilme özellikleri ile laktik asit bakterilerine karşı olan ilgi de artmıştır. Özellikle fermantasyonda starter kültür olarak laktik asit bakterilerinin kullanılması, laktik asit bakterilerinin ürettikleri bakteriyosinlerin eldesi ve tanımlanması pek çok araştırmacının çalışmalarına konu olmuştur. Özellikle son 20 yıl içerisinde laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal aktiviteleri geniş çapta araştırılmıştır (Zhu ve ark., 2000; Kurt ve Zorba, 2005).

Laktik asit bakterilerinin gıda sektöründeki önemi, bu bakterilerin et ve et ürünlerinde doğal koşullarda yaygın olarak bulunması ve antimikrobiyal özellik göstermesi, et ürünlerinden izole edilen laktik bakterilerinin bakteriyosin üretme potansiyellerinin yüksek olması gibi sebepler göz önüne alınarak mevcut çalışmada et ve et ürünlerinden antimikrobiyal aktivite gösteren laktik asit bakterilerinin izolasyonu, tanımlanması ve antimikrobiyal aktivitenin kaynağının belirlenmesi, bunun yanı sıra izolatların laktik asit, proteolitik aktivite ve hidrojen peroksit üretim miktarlarının belirlenmesi, EPS üretim yeteneklerinin incelenmesi ve izolatların antibiyotik dirençliliklerinin tespit edilmesi hedeflenmiştir.

1.1. Et ve Et Ürünleri

Et ve et ürünleri yüzyıllardır insan beslenmesinde önemli bir yere sahip olmuştur. Fermente et ürünleri, düşük pH ve düşük su aktivitesi, yüksek tuz konsantrasyonu, düşük nem içeriği ile uzun raf ömrüne sahip dayanıklı ürünlerdir. Fermente et ürünleri genellikle belli oranda et ve yağ parçacıklarının emülsiyonu, tuz, kür maddeleri, baharatlar gibi çeşitli maddelerin belli bir kılıf içinde fermantasyonu ve kurutulmasından ibarettir. İlk fermantasyonu bundan 2000 yıl önce Çinliler gerçekleştirmiştir. Muhtemelen 13.yy içinde fermente ürünlerde tuz ve nitrat kullanılmaya başlanmıştır. Avrupa'da ilk imal edilen fermente et ürünleri Akdeniz kıyılarında geliştirilmiştir. Daha sonra kuzey ve batı Avrupa'ya ve Avrupa'dan ise göçmenler yoluyla Amerika kıtasına yayılmıştır. 1940'lı yıllara kadar fermantasyon gelişimi hem çok yavaş hem de olumsuz şartlarda gerçekleşmiştir. Bu yıldan sonra fermantasyon metodu bilimsel esaslar doğrultusunda gelişmiş ve starter kültür kullanımı sağlanmıştır. Genellikle fermente et ürünleri basitçe kuru veya yarı kuru fermente et ürünleri şeklinde sınıflandırılırlar. Fermente et ürünleri, mikroorganizmalarının çoğalmaları ve metabolik faaliyetleri sonucunda elde edilmektedir. Son ürün kalitesi, fermantasyonda rol oynayan mikroorganizmaların tipine, hammadde seçimine ve üretim sırasındaki koşullara bağlı olarak büyük değişimler göstermektedir (Danacıoğlu, 2007).

Et ve et ürünleri kolay bozulabilir ürünler arasında yer aldığı için, ürünlerin tüketici tarafından istenilen özelliklerini kaybetmeden muhafazası üzerine pek çok teknolojik sistem geliştirilmeye çalışılmaktadır. Paketlemenin etlerin muhafazası üzerindeki etkisi yapılan pek çok araştırma ile kanıtlanmıştır. Ticari paketleme türleri; geçirgen film ile direkt etin üzerinin kaplanması, vakum paketleme ve düşük ya da yüksek düzeylerde oksijen kullanarak yapılan kontrollü ve modifiye atmosfer paketleme olmak üzere üç ana gruba ayrılmakta ve her birinin etin kalitesi üzerine farklı etkileri bulunmaktadır (Kurt ve ark., 2001).

Kendine has üretim teknolojisiyle asırlardan beri üretilen Türklere özgü kurutulmuş, kemiksiz bir et ürünü olan pastırma; sağlık kontrolünden geçmiş, büyükbaş hayvan gövde etlerinden usulüne göre ayrılan (söküm) parçaların

teknolojik işlemlerden geçirilerek, çeşitli katkı maddeleri ile şekillendirilip kurutulduktan sonra çemenlenmesi, yeniden kurutulması ile elde edilen et ürünüdür. Anavatani Orta Asya olan pastırma günümüzde Yunanistan, Ermenistan, Mısır ve birçok Müslüman ülkede tüketilmektedir. Ülkemizde pastırma yapımı Anadolu'da iklimin de uygunluğu nedeniyle özellikle Kayseri'de gelişmiştir. Ancak bugün pastırmacılık Erzurum, Kahramanmaraş, Kars, Kastamonu, Ankara, Sivas, İstanbul, Adapazarı, Gaziantep, Afyon yörelerine de yayılmıştır. Pastırma üretiminde henüz modern teknolojik imkânlardan yararlanılmıyor olması, pastırma üretiminde kalite ve hijyende sorunlara, standardizasyon eksikliğine, aşırı fiyat yükselmelerine ve belirli ustaların elinde kalması nedeniyle tekelleşmeye de neden olduğu bildirilmektedir (Kök, 2003).

Pastırma üretiminde ilk aşama olan; etin seçiminden sonra, parçalama, söküm, açım, tuzlama (I. ve II. tuzlama), yıkama, I. kurutma, soğuk denkleme (I. baskılama), II. kurutma, sıcak denkleme (II. baskılama), III. kurutma (boyunduruk), çemende bekletme, çemenleme, kurutma, ambalajlama ve muhafaza bölümleri yer almaktadır (Kök, 2003). Pastırma üretiminde önemli bir aşama olarak görülen 'kürleme' de kullanılan kürleme maddeleri ve kürleme metotları son ürün kalitesi açısından önem taşımaktadır. Pastırma üretiminde kürleme için genellikle tuz ile birlikte nitrat kullanılmakta; ancak kürleme maddesi olarak nitratın kullanıldığı proseslerde arzu edilen etkinin sağlanabilmesi için nitrat redüktaz aktivitesine ihtiyaç duyulmaktadır. Ülkemizde kuru kürleme yöntemi uygulanarak pastırma üretimi daha yaygın olmakla birlikte, salamura kürleme üzerinde de araştırmalar yapılmaktadır (Aksu ve Kaya, 2002). Pastırmanın yapım safhalarından biri olan çemenleme aşamasında da birtakım problemler mevcuttur. Pastırmanın kendine özgü tat, aroma, renk, ve lezzet kazanmasını sağlamak amacıyla yapılan bir tür soslama işlemi olan çemenleme; pastırmayı dış etkenlere karşı korur, fazla kurumasını engeller, hava ile teması keserek kokuşma ve küflenmeyi önler, lezzeti arttırır ve içerdiği yüksek orandaki sarımsak aracılığıyla bakterisidal etki yapmaktadır (Doğruer ve ark., 1998).

Temelde çiğ ve çekilmiş et ile yağın karışımı olan bir diğer et ürünü fermente sucuklar ise; et ve yağ karışımının tuz, baharat ve az miktarda katkı maddeleri ile karıştırılıp bağırsaklara doldurulması ile elde edilmektedir. Bu yolla

üretileen ürün, belli ısı ve rutubet derecesinde olgunlaştırılıp, kurutulup piyasaya sürülmektedir. Ülkemizde et ürünleri içersindeki payı %42'ye kadar çıkan fermente sucuklar, fermente et ürünleri üretiminin önemli bölümünü oluşturmaktadır. Sucuk üretimi ve olgunlaşmasının temelini mikroorganizmaların işlevleri oluşturmaktadır (Filiz, 2002; Erdoğan ve ark., 2002). Starter kültür kullanımı sucuklarda asitliği arttırarak düşük pH değerinde patojenlerin ve et yapısını bozan mikroorganizmaların inhibisyonunu sağlamaktadır. Sucuk üretiminde starter bakteri olarak laktik asit bakterilerinin kullanımı ilk kez 1940 yılında L.B. Jensen ve L.S. Paddock tarafından tanımlanmıştır (Nordal ve Slinde, 1980).

Hatalı ürün düzeyinin en aza indirmek, daha kaliteli ve standart tipte ürünler elde etmek gibi amaçlar doğrultusunda özellikle Avrupa ve ABD'de gibi gelişmiş ülkelerde, fermente gıdaların üretiminde starter bakterilerin kullanımına önem verilmiştir. Ülkemizde ise bazı üretim tesisleri dışında, fermente gıda üretimi geleneksel yöntemler ile starter bakteri kullanmaksızın yapılmaktadır (Toksoy ve ark., 1999).

Et endüstrisinde, özellikle de sucuk gibi ürünlerin fermantasyonunda laktik asit bakterileri starter kültür olarak geniş oranda kullanılmaktadır. Bu bakteriler aroma gelişimini sağladıkları gibi ürünü de korumaktadırlar. Ayrıca bu bakterilerin ilavesi ile birlikte, ürünlerin raf ömrünün uzadığı ve probiyotik karakterlerin sağlığa fayda sağlaması gibi yeni özelliklerinin de olduğu bildirilmiştir. Fermente sucuk üretiminde kontamine ham materyal kullanılmaktadır. Bu nedenle *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* gibi patojen bakterileri de içeren doğal floranın inhibe edilmesinde laktik asit bakterilerinin önemli rolü bulunmaktadır. Pek çok durumda karbohidratlardan laktik asit ve asetik asit oluşumu sonucu pH değerinin düşmesi antogonistik etkiden sorumludur (Schillinger ve Lücke, 1989; Messi ve ark., 2001; Papamanoli ve ark., 2003).

Fermente ürünlerde tat ve lezzet oluşumu oldukça karmaşık bir olay olmakla birlikte temelde starter kültürün ana kısmını oluşturan laktik asit bakterileri tarafından gerçekleştirilen glikolizis, lipolizis ve proteolizis olaylarını kapsamaktadır (Smit ve ark., 2002).

1.2. Laktik Asit Bakterileri ve Genel Özellikleri

Gram pozitif basil ve koklardan oluşan laktik asit bakterileri Firmicutes filumuna ait çeşitli bakteri cinslerinden oluşmaktadır. Spor oluşturmeyen ve katalaz negatif olan bu grubun önemli cinsleri arasında *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Melissococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weisella* yer almaktadır. Bütün laktik asit bakterileri anaerobik koşullar altında gelişim gösterebilmektedir. Ancak, pek çok anaerobik bakterinin tersine oksijene karşı duyarlı değildirler, yani oksijen varlığında da gelişim gösterebilmektedirler. Bu nedenle de aerotolerant anaerob organizmalar olarak adlandırılırlar. Fermantasyon sonucu ana ürün olarak laktik asit üreten bu bakteriler sitokrom içermezler ve elektron taşıma sistemi taşımazlar. Bu nedenle enerji eldesi yalnızca substrat düzeyinde fosforilasyon ile gerçekleştirilmektedir. Karbonhidrat metabolizmaları göz önüne alındığında homofermentatif ve heterofermentatif olarak iki alt gruba ayrılan laktik asit bakterilerinin taksonomisi uzun yıllardan beri bakterilerin fenotipik özelliklerini baz almakta ve bu değerlendirmeye göre; (i) *Thermobacterium*, (ii) *Streptobacterium* ve (iii) *Betabacterium* şeklinde üç alt gruba ayrılmaktadır. Ancak günümüzde gelişen moleküler biyoloji teknikleri, özellikle de 16 S r RNA sekans analizleri fenotip temelli sınıflandırmanın uygun olmadığını gözler önüne sermektedir (Beasley, 2004; Gürsoy ve Kınık, 2005; Madigan ve Matrinko, 2006).

1.3. Laktik Asit Bakterilerinin Gıdalarda Kullanımı

İnsanların tükettikleri gıdaların güvenilir olması, sağlıklı büyüme ve gelişmelerinde oldukça önemlidir. Gıdalara ilave edilen katkı maddeleri, gıdaların fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik özelliklerinin geliştirilmesi ve muhafaza sürelerinin uzatılması görevlerini üstlenmektedir. Ancak bu katkıların bazılarının sağlıksız oluşu ve kullanım oranına bağlı olarak kanserojenik veya toksik etki yapabilmeleri olasıdır; bu nedenle doğal ve güvenilir katkıların elde edilmesi ve kullanımını oldukça önemli hale gelmiştir. Gıdaların güvenliğinin sağlanmasında

mümkün olduğunca proses uygulamalarından kaçınılması ve doğal katkı maddelerinin kullanımı gerekmektedir (Kurt ve Zorba, 2005). Ayrıca günümüzde tüketicilerinde koruyucu olarak kullanılan sentetik kimyasallara olan ilgisi artmış ve proses uygulamaları olan ürünleri daha az kullanma trendi başlamıştır. Bununla birlikte işlenmemiş gıdalarda oksijensiz ortamda ve buzdolabı koşullarında bile tehlikeli patojen mikroorganizmaların bulunma ihtimali yüksektir. Bu ikilemin çözümü fermantatif mikroorganizmaların antimikrobiyal etkili metaboliklerinin kullanımında bulunmuştur. Tüm bu gelişmeler ışığında, günümüzde gıdaların biyokonrol yolu ile üretilmeleri ve doğal korucu kullanımı yaygın hale gelmiştir (Soomro ve ark., 2002).

Gıdaların bulunan yararlı mikroorganizmalar aracılığı ile sentezlenen pek çok madde antimikrobiyal etkiye sahiptir. Bu bağlamda özellikle organik asitlerin oldukça işlevsel olduğu bilinmektedir. Asetik asit ve laktik asit koruyucu olarak kullanılan asitler arasında yer almaktadır. Etkileri genelde ortamın pH değerini düşürmeye bağlı ise de, asetik asidin ayrıca hücre duvarını aşarak hücreye girmesi ve plazmayı denatüre etmesi şeklinde de etki yaptığı saptanmıştır. Asetik asit en çok etin olgunlaştırılmasında, sebze konserveleri, sos, mayonez, turşu ve ketçaplarda kullanılmaktadır. Laktik asit ise en fazla turşular, salamuralar, sebze ve zeytin ürünlerinde kullanılmaktadır (Coşkun, 2006).

Ürettikleri antimikrobiyal peptitler ve koruyucu olarak kullanılabilen organik asitler nedeni ile laktik asit bakterileri ve diğer bakteriler arasındaki etkileşimler çeşitli gıdaların üretiminde özellikle de fermente gıdalarda ve silaj oluşumunda oldukça geniş bir biçimde araştırılmıştır. Ayrıca laktik asit bakterilerinin insan organizması tarafından kullanılması mümkün olmayan ve toksik etkisi bulunabilen bileşenleri daha küçük molekülü, sindirilebilen ya da toksik etkisi olmayan moleküllere parçalayabilme özelliği de gıdalarda kullanımları için bir avantaj sağlamaktadır (Visser ve ark., 1986; Arıcı, 2005).

Sıklıkla tüketilen gıdalardan süt ve süt ürünlerinde laktik asit bakterilerin kullanımını çok eski tarihlere dayanmaktadır. Süt ürünlerinde starter kullanmadaki temel amaç kendine özgü duyuşsal özellikler taşıyan ürün elde edilmesidir. Fermente süt ürünlerinde asetaldehit ve diasetil karakteristik aroma bileşikleri (Aslım ve ark., 2000). Laktokoklar (*Lactococcus lactis subsp. lactis*, *L. lactis*

subsp. cremoris ve *L. lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis*); laktozu fermente ederek laktik asit oluşturma, kazein hidrolizi (proteolitik aktivite) ve bakteriyosin üretimi başta olmak üzere, üretim teknolojisi ve ürün tipine bağlı diğer biyokimyasal özellikleri de saptanmak suretiyle, starter kültür suşları olarak tanımlanmakta ve fermente süt endüstrisinde kullanılmaktadır. Laktik asit bakterileri aracılığıyla oluşturulan kazein hidroliz ürünlerinin peynirlerde tat ve aroma oluşumunda rol aldığı bilinmektedir (Akçelik ve ark., 2001). Peynir üretiminde starter olarak kullanılan ya da birçok peynir çeşidinin starter olmayan mikroflorasında dominant mikroorganizmalar olarak bulunabilen homofermentatif ve heterofermentatif laktik asit bakterileri birçok peynir çeşidinin olgunlaşmasında önemli rol oynamaktadır (Gürsoy ve Kınık, 2005).

Laktik asit bakterileri gelişimlerinde oksijene ihtiyaç duymama, tuza tolerans, karbondioksit inhibisyonuna dirençlilik gibi çeşitli özelliklerinden dolayı et ve et ürünlerinde de bol miktarda bulunabilmektedir. Etlerde nadiren bozulmalara yol açtığı görülen bu organizmalar genellikle fermantasyondan dolayısıyla da ürünün güvenilirliği ve stabilitesinden sorumludurlar. Sucuk fermantasyonunda starter kültür olarak *Lactobacillus plantarum* dâhil olmak üzere çeşitli mezofilik türler örneğin *Lactobacillus pentosus*, *Pediococcus pentosaceus*, psikrotrofik türlerden *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus sake*, termofilik türlerden de *Pediococcus acidilactici* kullanılmaktadır (Egan, 1983; Lücke, 1996).

Süt ve et ürünleri dışında bitki kökenli gıdaların fermantasyonunda örneğin zeytinlerde ve turşularda *Lactobacillus plantarum*, lahana turşularında *Leuconostoc mesenteroides* kullanıldığı bilinmektedir. Benzer şekilde çeşitli sebzelerin fermantasyonlarında da bazı türlerin kullanıldığı bilinmektedir. Bunların dışında özellikle hamurların fermantasyonunda *Lactobacillus sanfrancisco*, *Lactobacillus pontis*, *Lactobacillus reutrei*, *Lactobacillus fermentum* gibi türlerin kullanıldığı bilinmektedir (Lücke, 1996).

Lactococcus lactis tarafından üretilen ve lantibiyotik olarak adlandırılan birinci grup bakteriyosinler arasında yer alan nisin; Birleşmiş Milletler Gıda ve İlaç İdaresi tarafından 'GRAS' (Genel Olarak Güvenli Kabul Edilebilir Ürün) statüsüne kabul edilmiş ve ayrıca Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından gıda katkı maddesi olarak onaylanmış tek bakteriyosindir (Hampikyan ve Çolak,

2007). Nisin birçok Avrupa ülkesinde ve Orta Doğu ülkelerinde başta peynir olmak üzere süt ve konserve gıdalar gibi çeşitli gıdalarda güvenle kullanılmaktadır. 1988 yılından beri pastörize işlem görmüş peynirlerde *Clostridium botulinum* sporlarının gelişimini ve toksin oluşumunu önlemek amacıyla kullanılmaktadır. Avrupa birliği ülkelerinde ise irmik ve pudinglerde, ekşitilmiş kremada nisin (E 234) kullanımına izin verilmektedir. Ülkemizde de nisin halen Avrupa Birliği ülkelerinde geçerli olan gıdalarda kullanılmaktadır (Kışla ve Ünlütürk, 2003).

1.4. Laktik Asit Bakterilerinde Metabolizma

1.4.1. Karbonhidrat Metabolizması

Laktik asit bakterilerinde karbonhidratların laktata dönüştürülmesi, gıda endüstrisinde kullanılan fermantasyon proseslerinden en önemli olanı olarak değerlendirilmektedir. Her ne kadar çeşitli fermente ürünlerde laktat fermantasyonunun kullanımının tarihi çok eskilere dayansa da bilinçli starter kullanımı 19. yy. da başlamıştır. Bu proses fermente ürünlerde ilk etapta kendiliğinden oluşmuş daha sonra laktat fermantasyonunun biyokimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin anlaşılmasına paralel olarak geliştirilmiştir (Kandler, 1983; Aslım ve ark., 2000). Laktoz fermantasyonu sonucunda oluşan laktata ilaveten pürivattan diasetil, asetoin, asetaldehit ve asetik asit gibi çeşitli aroma bileşikleri de oluşturulmaktadır (Caplice ve Fitzgerald, 1999; Smit ve ark., 2002).

Laktik bakterilerde karbonhidrat metabolizmasının temel prosesleri hekzos fermantasyon yolu, laktoz birikim ve fermentasyonu ile pentozların fermantasyonudur. Laktik asit bakterilerinde hekzos fermantasyonunda üç temel yol bilinmektedir. Hekzos fermantasyonunda co-substratlar bulunmaksızın kofaktörlerin indirgenme durumu söz konusu ise ana ürün olarak laktat, etanol ve CO₂ oluşmaktadır. Eğer hidrojen akseptörü olarak O₂ ya da fruktoz mevcut ise etanol oluşmamakta fakat oksijen H₂O₂ ve suya, fruktoz da mannitole indirgenmektedir. Zorunlu homofermentatif ve fakültatif heterofermentatif Laktobasiller hekzosu Emden-Meyerhoff yolu ile parçalamakta ve genellikle bu

organizmalarda maltoz, fruktoz kullanımı glikoz yokluğunda gözlemlenmektedir. Pentoz fermentasyonu ise daha çok heterofermentatif laktik asit bakterilerinde gözlemlenmektedir (Kandler, 1983; Capliceve Fitzgerald, 1999; Ganzle ve ark., 2007).

Laktoz fermantasyonunda rol alan çeşitli enzimlerin plazmitler üzerinde taşınması diğer bir deyişle laktoz fermantasyon yeteneğinin; stabil bir özellik olamaması gıda endüstrisinde bir dezavantaj yarattığı için günümüzde detaylı genetik ve biyokimyasal çalışmalar mevcuttur (Tükel, 2004).

1.4.2. Proteolitik sistem

Laktik asit bakterilerinde, organizmanın gelişimi için gerekli olan protein ve peptitlerin yapımını kapsayan proteolitik sistem, bu organizmalar gıdalarda kullanıldığı zaman gıdanın organoleptik ve rheological özelliklerini verdiği için önemsenmektedir. Laktik bakterilerde bulunan proteolitik enzimler çeşitli özellikleri göz önüne alınarak farklı biçimlerde sınıflandırılabilir de genel olarak proteinazlar, çepere bağlı olan peptidazlar ve membrana bağlı olan peptidazlar şeklinde üç ana gruba ayrılmaktadır (Law ve Kolstad, 1983; Kılıç, 2001).

Laktik asit bakterilerinde peptit ve aminoasit metabolizması ile gerçekleştirilen proteolizis olayı çeşitli gıdalarda aroma oluşumunda ve straine özel antifungal metaboliklerin sentezinde anahtar rol oynamaktadır. Aminoasit katabolizmasında deaminasyon, dekarboksilasyon, transaminasyon ve dış zincir modifikasyonu gibi katabolik reaksiyonlarla keto asitler, amonyak, aminler, aldehitler, asitler ve alkoller gibi aroma ile ilgili bileşikler meydana gelebilmektedir. Özellikle süt içerisinde serbest aminoasitlerin ve peptitlerin konsantrasyonu düşük olduğu için süt ve süt ürünlerinde starter kültürün süt içerisindeki gelişimi kendi proteolitik sistemi ile yakından ilişkilidir. Proteolizis hücre duvarı ile ilişkili ekstraselüler proteinazlar aracılığı ile başlatılmaktadır. Laktik asit strainlerinin çoğunluğu bir ekstraselüler proteinaz içerirken, bazı strainlerde ekstraselüler proteinaz bulunmaz ve bu strainlerin peptit, aminoasit üretimi temel olarak starter kültürdeki diğer strainlere bağımlıdır (Smit ve ark., 2002; Gürsoy ve Kınık, 2005 Ganzle ve ark., 2007).

Bütün laktik asit bakterileri gelişim için çözülmüş formda aminoasitlere ihtiyaç duymaktadırlar. Yapılan detaylı deneyler sonucunda yalnızca bazı grupların bu ihtiyaçları belirlenebilmiş ve özellikle *Streptococcus* cinsi ile çalışılmıştır. Yapılan çalışmalar Laktobasillerin en geniş gereksinim duyan grup olduğunu göstermiştir. Diğer bakterilere benzer şekilde laktik asit bakterileri de aminoasit ve peptitleri konsantrasyon gradientine göre aktif olarak almaktadırlar. Aminoasit ve peptitlerin alımı *Lactobacillus*, *Leuconostoc* ve *Streptococcus* cinslerinde benzer şekilde gerçekleşmektedir, ayrıca Streptokoklarda farklı dipepdit ve oligopepdit transfer sistemleri de bulunmaktadır (Law ve Kolstad, 1983).

Laktik asit bakterilerinin proteolitik sistemlerine genel olarak bakıldığı zaman ; (i) proteinazların geniş ölçüde spesifik olduğu ve 4 ila 8 aminoasit büyüklüğünde değişebilen farklı oligopeptitler meydana getirdikleri, (ii) oligopeptit transferlerinin hücre içine nitrojen alınımında anahtar rol oynadığı ve (iii) tüm peptidazların hücre içinde yer aldıkları ve peptit degretasyonunda ortak görevler üstlendikleri söylenebilmektedir (Dupuis ve ark., 1995; Kunji ve ark., 1996).

1.4.3. Lipit Metabolizması

Laktik asit bakterilerinde görülen lipolizis olayı metilketon ve çeşitli alkoller gibi aroma ile ilişkili bileşiklerin prekürsörleri olan serbest yağ asitlerinin oluşumu ile sonuçlanmaktadır (Smit ve ark., 2002).

Laktik bakterilerin metabolik sistemleri ile ilgili olarak yapılan çalışmalara bakıldığında lipolitik-esterolitik aktivitelerinin diğer bir ifade ile lipaz-esteraz sistemlerinin daha az dikkate alındığı görülmektedir. *L. helveticus*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* gibi starter olarak kullanılan zorunlu homofermentatif laktobasiller de laktokoklar gibi esterazlar üretebilmektedirler. Fakültatif heterofermentatif olan ve birçok peynir çeşidinin starter olmayan mikrofloralarındaki dominant laktobasiller olarak tespit edilen *L. casei*, *L. paracasei* ve *L. plantarum* gibi laktobasillerin lipolitik aktiviteleri zayıftır. Suşa bağlı olmakla birlikte genel bir kabul olarak lipolitik aktiviteleri her ne kadar zayıf

olsa da, laktobasiller, bazı peynir çeşitlerinin lipolitik olgunlaşmasında son derece önemli rol oynamaktadırlar. Örneğin dondurarak şoklanmış *L. casei* T'nin lipolitik aktivitesinin yüksek olduğu ve Cheddar peynirinin olgunlaşmasında önemli olabileceği bildirilmektedir (Gürsoy ve Kınık, 2005).

Laktik asit bakterilerinin lipaz aktivitesi tür ve cinslere göre farklılık göstermektedir. Yapılan çalışmalarda *Leuconostoc mesenteroides spp. dextranicum*' un en yüksek lipolitik aktiviteye sahip olan tür olduğu belirtilmiştir. Laktik bakterilerde lipolizis olayında ilk etapta trigliseritlerden digliseritler oluşmaktadır, digliseritlerden monogliseritler bunlardan da serbest yağ asitleri ve gliserin oluşmaktadır (Kılıç, 2001).

1.5. Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Metabolik Ürünler

1.5.1. Laktik asit üretimi

Çeşitli ürünlerin doğal fermantasyonundan sorumlu olan laktik asit bakterilerinin ana fermantasyon ürünü heksozdan D (-), L (+) ya da rasemik karışım şeklinde üretilen laktik asittir. (Jehanno ve ark., 1992). Laktik asit bakterilerinde laktik asit üretimi iki farklı yolla gerçekleşebilmektedir. Laktik bakteriler oluşturdukları ürünler temel alınarak homofermentatif (aldolaz enzimine sahip olanlar) ve heterofermentatif (aldolaz ve triozfosfat izomeraz enzimlerine sahip olmayanlar) olmak üzere iki alt guruba ayrılmaktadırlar (Madigan ve Martinko, 2006).

Ekşi tatta bir organik asit olan laktik asit; membran yapısını bozmak suretiyle çeşitli mikroorganizmalar üzerinde inhibe edici etkiye sahip olan ve endüstriyel anlamda kullanılan kokusuz ve saydam bir maddedir (TSE, 1991).

Süt endüstrisinde starter bakteriler olarak kullanılan laktokok suşlarının fermantasyon süreçlerindeki en önemli rollerinden biri, süt sekeri olan laktozu fermente ederek laktik asit oluşturmalarıdır. Yapılan çalışmalar süt ürünlerinde laktik asit oluşumunun süte antimikrobiyal özellik kazandırdığını ve mikrobiyal bozulmalara karşı daha dirençli hale geldiğini göstermiştir (Kılıç, 2001). Starter bakterilerde laktoz metabolizması; diğer gram pozitif bakterilerin çoğunluğunda

bulunmayan, fosfoenol piruvata bağımlı fosfotransferaz sistemi (PEPPTS) tarafından başlatılmaktadır. Bu sistemde laktoz hücre içine fosforile formda alınmakta ve fosfo- β -galaktozidaz enzimi aktivitesi ile glikoz ve galaktoz 6-fosfata parçalanmaktadır. Bu aşamadan sonra glikoz Embden-Mayerhof-Parnas (EMP), galaktoz 6-fosfat ise tagatoz 6-fosfat yolu ile katabolize edilmektedir. Fosfotransferaz (PTS) sisteminin laktoz spesifik bileşenleri (Enzim IIIac ve Faktör IIIac), fosfo- b-D galaktozidaz ve tagatoz-6- fosfat yolunun üç enziminin (galaktoz-6-fosfat izomeraz, tagatoz-6-fosfat kinaz ve tagatoz-1,6-difosfat aldolaz) gen kodunun, *Lactococcus lactis* suşlarında farklı plazmitler üzerinde bulunduğu saptanmıştır (Tükel ve Akçelik, 2000; Aslım ve ark., 2000; Tükel, 2004).

Şaraplarda malik asidin laktik aside dönüşümü malolik fermantasyon sırasında meydana gelen en önemli olaydır. L-malik asidin L-laktik asit ile yer değiştirmesi ile asitlik biyolojik olarak azalmış olur. Asitliğin düşmesi yalnızca asitlik değerliğinin azalmasından değil ayrıca malik asidin kuvvetli ekşi tadının daha yumuşak olan laktik asidin tadıyla yer değiştirmesinden kaynaklanmaktadır (Geredeli ve Anlı, 2005).

D (-) laktik asit bebeklerde asidoz oluşumuna, yetişkinlerde de çeşitli bağırsak sendromlarına yol açmaktadır. Bu nedenle Dünya Sağlık Örgütü ne D (-) ne de DL laktik asidin gıdalara ilave edilmesini önermektedir. Vücut ağırlığına göre, 100 mg/kg D (-) laktik asit alımı üst limit olarak önerilmektedir. Bu nedenlerden dolayı fermente gıdalarda L (+) izomerinin özelliklerini arttırıcı çalışmalar yapılmış fakat L (+) izomerini yüksek miktarda üreten strainlerin kolay izolasyonu için uygun bir metot bulunamamıştır (Jehanno ve ark., 1992).

1.5.2. Hidrojen Peroksit Üretimi

Laktik asit bakterilerinden bazıları kültür ortamında eriyik halde bulunan oksijeni tüketmektedirler ve bu bağlamda oluşan oksidasyon-redüksiyon tepkimeleri sonucunda hidrojen peroksit oluşturmaktadırlar. Laktik asit üreten diğer bakterilere benzer şekilde *Lactobacillus* üyeleri hem' den yoksundurlar ve bu nedenle son oksidasyon için sitokrom sistemini kullanamamaktadırlar.

Laktobasiller, genel olarak oksijenin hidrojen peroksida dönüşümünü sağlayan flavoproteinleri kullanmaktadırlar. Bu mekanizma genelde, hem katalaz proteininin yokluğu ile birlikte diğer organizmaları inhibe edecek kadar yüksek miktarda H_2O_2 oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Laktik asit bakterileri tarafından hidrojen peroksit üretiminde 5 farklı ezim görev almaktadır. Bu enzimler sırası ile NADH: H_2O_2 oksidaz, pürivat oksidaz, α gliserofosfat-oksidaz, süperoksit dismutaz ve NADH peroksidazdır (Escehenbach ve ark., 1989; Kılıç, 2001).

Hidrojen peroksit oluşumu özellikle, katalaz peroksidaz gibi hidrojen peroksit parçalayıcı enzimleri olmayan ya da düşük seviyelerde bu enzimleri taşıyan mikroorganizmaların gelişimini inhibe etmektedir. Hidrojen peroksidin mikrobiosidal aktivitesi özellikle halojenür iyonlar varlığında peroksidaz enzimi aracılığıyla dikkate değer oranda artmaktadır. Yapılan çalışmalarda hidrojen peroksit üretimini belirlemek amacı ile kromojen oksidasyonu temelli spektrofotometrik ölçümler ya da agar plaklarında renk değişimi kullanılmaktadır (Escehenbach ve ark., 1989; Rabe ve Hillier, 2003;).

Gıda endüstrisi açısından laktik asit bakterileri tarafından H_2O_2 üretimi kullanılabilir bir özelliktir. Ortamda mevcut diğer mikroorganizmaların inhibe edilebilmeleri açısından fermantasyonun en kritik dönemi olan başlangıç aşamasında ortamda çözünen oksijen konsantrasyonu ile sınırlı miktarda üretilen H_2O_2 seçici bir ortam yaratmaktadır. Bununla birlikte bu güne kadar H_2O_2 konusunda laktik asit bakterilerinin ürettiği diğer antimikrobiyal maddelerin aksine çok eski tarihli çalışmaların haricinde literatürde pek fazla bilgi bulunmamaktadır: Değişik *Lactobacillus* türlerinin H_2O_2 üretimi ile ilgili literatürlerde 1945–1960 yılları arasında yapılan bazı araştırmalara rastlanmaktadır. Bu çalışmalarda 5°C de *Lactobacillus bulgaricus* ve *L. lactis* türlerinin *Staphylococcus aureus* 'u inhibe edebilecek düzeyde (6–12 $\mu\text{g/ml}$), yine *L. plantarum*'un ise *Pseudomonas* türlerinin adaptasyon periyodunu (lag faz) uzatacak düzeyde (3–13 $\mu\text{g/ml}$) H_2O_2 ürettiği, ayrıca laktik *Streptococcus* türlerinin de buzdolabında depolanan sütlerde psikrotrofik bakterilerin gelişmesini önleyecek düzeyde H_2O_2 ürettiği saptanmıştır. 1970 yılında yapılan bir çalışmada kıyılmış sığır etine *S. lactis* ve *Leuconostoc citrovorum* inoküle edilmiş ve bu bakterilerin 7°C de depolamada gram negatif bakterilerin gelişmesini önlediği

saptanmıştır (Turantaş, 2007). Yine 1972 yılında başka bir araştırmacı tarafından *S. diacetilactis*' in kıyılmış sığır eti, süt ve peynirde gram negatif bakterilerin gelişmesini önlediği saptanmıştır (Turantaş, 2007).

Laktik asit bakterileri tarafından üretilen hidrojen peroksit ve kullanım olanakları gıda alanı dışında tıpta, insanlarda klinik açıdan incelenmiş ve özellikle kadınlarda vajina mikroflorası üzerinde araştırmalar yapılmıştır. Bilindiği gibi insan intestinal sistemi ve vajina bu ortamlarda yaşamaya adapte olmuş çeşitli mikroorganizmalardan oluşan bir mikrobiyal flora sahiptir. Normal vajinada hidrojen peroksit üreten laktik asit bakterileri predominant organizmalardır. Vajinada bulunan *Lactobacillus* türleri'nin bel soğukluğuna ya da immün sistemde kusurlara yol açan diğer bazı virüsler gibi patojen mikroorganizmaların vajina ya da intestinal sisteme kolonizasyonunu önlediği ve bu sayede vajen mikroflorasının stabilizasyonunda önemli görevler üstlendiği düşünülmektedir. Yapılmış olan çeşitli çalışmalar bu mikroorganizmaların hamile bayanları çeşitli enfeksiyonlara karşı koruduğunu desteklemektedir. Her ne kadar hidrojen peroksit üreten *Lactobacillus* cinsi mikroorganizmaların spesifik olmayan antimikrobiyal savunma mekanizması ile vajinal ekosistemi koruduğu düşünülse de bu konuda yapılan çalışmalar ve tür seviyesinde yapılmış olan tayinler kısıtlıdır (Song ve ark., 1999; Felten ve ark., 1999; Wilks ve ark., 2004).

1.5.3. Diasetil ve Asetaldehit Üretimi

Laktik asit bakterilerinin pek çoğu elektron akseptörü olarak ortamda oksijen bulunduğu zaman laktik asidi parçalayabilme yeteneğine sahiptir. Aynı zamanda bu bakterilerin bir kısmı anaerobik koşullarda da alternatif bir elektron akseptörü bulunduğu zaman laktik asidi parçalayabilmektedirler. Örneğin *L. plantarum* ve *L. pentosus* elektron akseptörü olarak sitratı kullanıp; laktik asitten asetat, format ve CO₂ sentezleyebilmektedir (Elferink ve ark., 2001).

Laktik asit bakterileri tarafından da sentezlenen bir bileşik olan diasetilin üretim koşulları ve bu maddenin gıdalar üzerindeki etkileri ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda diasetilin tereyağındaki aromadan sorumlu olduğu yada aromatik materyallerin temel bileşeni olduğu belirtilmiştir.

Yine yapılan çalışmalarda diasetilin; süt ve süt ürünlerinde, bazen meyve sularında ve konsantre edilerek dondurulmuş meyve sularında da aroma oluşumu ile ilgili bulunduğu belirtilmiştir. (Christensen ve Pederson, 1958; Rushing ve Senn, 1960).

Çeşitli laktik asit bakterilerinde sıkça görülen diasetil üretimi ortam bileşenleri, pH ve inkübasyon sıcaklığı gibi pek çok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Hemofermentatif türler, heterofermentatif türlere nazaran daha hızlı ve daha fazla miktarda diasetil üretmektedir. Bazı örneklerde diasetil üretimi için sitrik asit gereksinimi olmaktadır. Laktik asit bakteri kültürlerinden sitrik asidi kullanabilenlerin geliştirilme ortamına sitrik asit eklendiği zaman karbon dioksit ve diasetil üretiminde artış olduğu daha önce yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (Christensen ve Pederson, 1958). Yine yapılan benzer çalışmalarda gelişim ortamında malat ya da sitrat bulunduğu zaman *Lactobacillus* türlerinin asetoin ya da diasetil ürettiklerini, fakat bu asitlerin gelişim periyoduna eş zamanlı olarak kullanılıp kullanılmadığının ölçülemediğini belirtmişlerdir (Drinan ve ark., 1976).

Drinan ve ark (1976) heterofermentatif laktik asit bakterilerinin sitratı enerji kaynağı olarak kullandığını ancak ortamda sitrat olduğu halde glikoz bulunmadığı zaman laktik asit bakteri kültürlerinde hiçbir gelişme gözlemlenemediğine dayanarak bu bilginin tam olarak doğru olmadığını belirtmişlerdir. Bu gözlemler sonucunda da sitrat yokluğunda laktobasillerin pürivat formasyonunu sınırlı biçimde sağlayabildiklerini, bu nedenle de sitratın ek pürivat kaynağı rolü üstlendiğini açıklamışlardır. Diğer araştırmacılar tarafından alternatif açıklama olarak sitrat yokluğunda çeşitli bileşenlerin sentezi daha yavaş olduğu için; sitratın temel hücre bileşenlerinin sentezinde karbon kaynağı olarak görev aldığı yorumu getirilmiştir. Çeşitli araştırmacılara göre de diasetil, gelişimin ileriki safhalarında enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bazı araştırmacılar ise diasetilin bazı türler üzerindeki inhibe edici etkisi üzerinde durarak, organizmanın diğer organizmalarla rekabet için, savunma mekanizması olarak diasetil ürettiği görüşünü desteklemişlerdir (Rushing ve Senn, 1960; Drinan ve ark., 1976;).

Ticari bitkisel fermantasyon çalışmalarında asetik asidin laktik aside dönüşüm oranı incelenmiş ve bu oranda dikkate değer farklılıklar

gözlemlenmiştir. Çeşitli laktik asit bakterileri tarafından oluşturulan fermantasyon son ürünleri kıyaslandığında bakteri türüne göre dönüşüm oranı çeşitlilikleri dikkati çekmektedir. Genel olarak, toplamda yüksek miktarda asit üreten kültürlerde asetik asidin laktik aside dönüşüm oranı daha düşük bulunmaktadır. Belli fermente ürünlerde, ürünün niteliksel kalitesinden fermantasyon son ürünleri sorumlu olduğu için asitler arasındaki dönüşüm oranı üzerinde durulmuş ve en uygun dönüşümü belirlemek için çalışmalar yapılmıştır. Normalde yüksek düzeylerde asit üreten strainler ve çeşitli şeker konsantrasyonlarına sahip farklı ortamlar kullanılarak, yüksek ve düşük asit üreten strainlerin arasındaki farklılıklar araştırılmıştır. Christinsen ve ark. (1958) tarafından bildirildiğine göre heterofermentatif laktik asit bakterileri ilgili konsantrasyonlarda glikoz, fruktoz ve sükröz içeren ortamlarda düşük miktarda karbondioksit ve asetik asit üretmektedir. Aynı çalışma sonucunda şeker konsantrasyonunda artış olduğu zaman, üretilen laktik asit miktarında da artış olduğu bildirilmiştir. Meyve suları ile yapılan araştırmalar kültürün başlangıç miktarının ve generasyon zamanının diasetil üretiminde etkili olduğunu göstermiştir. *Lactobacillus* türlerinin devam eden kültürlerinin mililitresinde bulunan bir milyon organizma saatte 2,5 ppm diasetil üretmektedir. Maksimum diasetil sentezi ve sentez mekanizması üretici straine göre değişim göstermektedir. (Rushing ve Senn, 1950).

Christensen ve Pederson (1958) yaptıkları çalışmalar sonucunda laktik asit bakterilerinin optimum büyüme koşulları altında daha az miktarda diasetil ürettiklerini bildirmişlerdir. Diasetil üretimi bu organizmaların gelişimi için temel gereksinim değildir.

1.5.4. Bakteriyosin Üretimi

Mikroorganizmalara, bitkilere ve insanlar da dahil olmak üzere hayvanlara ait olan çok çeşitli canlı hücreler, ribozomal olarak sentezlenen antimikrobiyal peptitler (AMP_s) sentezlenmektedir. Bu peptitler genellikle küçük boyutlu (20–60 aminoasit), yüksek izoelektrik noktasına sahip, katyonik, hidrofobik ya da hidrofildirler. AMP_s aracılığıyla duyarlı mikroorganizmaların öldürülmesi, genellikle hedef hücre membranının geçirgenliği ile ilişkilidir, ancak diğer

mekanizmalarında mevcut olduğu düşünülmektedir. Ökaryotik canlılarda, konağın savunma sistemini önemli bir parçasını oluşturan 750 farklı AMP_s tanımlanmıştır. Prokaryotlarda ise AMP_s daha çok gram pozitif bakterilerde gözlenmekte ve bunların 50 den fazlasını laktik asit bakterilerinin ürettiği bakteriyosinler oluşturmaktadır. Laktik asit bakterilerinin ürettiği bakteriyosinlerde de, genel olarak AMP_s için geçerli olan özellikler gözlemlenebilmektedir (Bruno ve Montville, 1993; Lüders ve ark., 2003).

Daha geniş bir ifade ile bakteriyosinler gram pozitif bakteriler özellikle laktik asit bakterileri tarafından, ribozomal olarak sentezlenen, kısmen dar spektrumda bakterisidal aktivite sergileyen, birincil ya da modifiye ekstraselüler aktif proteinlerdir. Bakteriyosinlerin özellikle üretici strain ile yakın ilişkili bakteri türleri üzerinde etkili olduğu bilinmektedir (Lewus ve ark., 1991; Bruno ve Montville, 1993; Bromberg ve ark., 2004). Bakteriyosinlerin biyokimyasal özellikleri, moleküler ağırlıkları, etki spektrumları, etki mekanizmaları ve genetik yapıları oldukça heterojendir (Piard ve Desmazeaud, 1992).

Laktik asit bakterilerinin pek çok üyesinin bakteriyosin ürettiği bilinmektedir. Antibakteriyal etki *Lactobacillus acidophilus* tarafından üretilen acidophilin ve lactocidin, *Lactobacillus plantarum* tarafından üretilen lactolin ya da *Lactococcus lactis* tarafından üretilen nisin gibi antibiyotik ve antibiyotik benzeri maddeler üzerinden tanımlanmıştır. Heterojen bir popülasyonda besin azalımı ve buna bağlı olarak oksidasyon-redüksiyon potansiyelinin düşüşü rekabete dayalı antogonizme yol açmaktadır (Visser ve ark., 1986). Üretilen bakteriyosinler aracılığıyla bakteriyosinin türüne bağlı olarak özellikle *Staphylococcus aureus*, *Listeria spp.*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* gibi gıda kökenli patojen bakterilerin inhibe edebilmektedirler. Bununla birlikte bakteriyosinlerin bazı gram negatif bakteriler üzerinde de etkili olduğu bildirilmiştir (Lewus ve ark., 1991; Messi ve ark., 2001). Laktobasiller tarafından üretilen, lactocin 27, lactacin B, helveticin J, plantacin B ve plantaricin A gibi bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri maddelerle ilgili pek çok araştırma bulunmaktadır (Schillinger ve Lücke, 1989).

Laktik asit bakterileri tarafından üretilen bakteriyosinler için farklı sınıflandırmalar yapılabilmesine rağmen, genel olarak Klaenhammer'in gram

pozitif bakteriler için yaptığı sınıflandırma (molekül büyüklüğü, ısı stabilitesi, kimyasal yapı ve etki mekanizması temel alınarak) kullanılmaktadır (Kurt ve Zorba, 2005). Bu sınıflandırmaya göre bakteriyosinler 4 büyük gruba ayrılmaktadır. Birinci grup lantibiyotiklerdir. Yapılarında bilinen aminoasitlerin yanı sıra lanthionine ve methyllanthionine içermektedirler. İkinci grup düşük sıcaklıklı stabil peptitlerdir. Bunlar lanthionine içermezler ve bazıları 121 °C' ye kadar olan sıcaklıklara karşı yapısını koruyabilmektedir. Üçüncü grup ısıya karşı duyarlı peptitlerden oluşmaktadır. Genellikle moleküler ağırlıkları büyüktür. Dördüncü grup bakteriyosinler ise bakteriyosin aktivitesini sergileyebilmek için karbonhidrat ya da lipit ilavesine gereksinim duyan kompleks proteinlerden oluşmaktadır (Caplice ve Fitzgerald, 1999; Zhu ve ark., 2000; Kurt ve Zorba, 2005). Bunu yanı sıra yapılan çalışmalar ikinci gruba ait olan bakteriyosinler için alt sınıflandırmanın yapılmasının zorunlu olduğunu göstermiştir. Özellikle de alt sınıflandırmada yer alan sınıf II a bakteriyosinleri *Listeria* türlerine karşı güçlü inhibitör aktivitesine sahip olduğu için gıda endüstrisinde önemli yer tutmaktadır (Eijsink ve ark., 1998).

Bakteriyosinlerin hedef hücre üzerindeki etki mekanizmaları ile ilgili bilgiler sınırlı miktardadır. Yalnızca bazı bakteriyosinlerin etki mekanizması tam olarak tanımlanabilmiş, diğerleri içinse genel anlamda bakterisidal ya da bakteriyostatik tanımı yapılmıştır (Messi ve ark., 2001). Genel olarak etki mekanizmasında bakteriyosinlerin duyarlı hücrelerin proton hareketini sağlayan gücü (PMF) azalttığı düşünülmektedir. Bu bağlamda nisin; en iyi karakterize edilmiş bakteriyosin olarak söylenebilmektedir. Yapılan çalışmalarda nisinin duyarlı hücrelerde membran potansiyelini yok ettiği ve *L. monocytogenes* ve *Clostridium sporogenes* hücrelerinde proton hareketini sağlayan gücü (PMF) azalttığı gösterilmiştir. Bir başka çalışmada *L. lactis subsp. cremoris* tarafından üretilen lactococcin A'nın duyarlı hücrelerde membran potansiyelini yok ettiği ve bu hücrelerin aminoasit akümüülasyonunda sızıntılara yol açtığı gösterilmiştir. Bir başka çalışmada *L. lactis subsp. cremoris* 9B4 tarafından üretilen lactococcin A'nın duyarlı hücrelerde PMF yokluğuna neden olduğu gösterilmiştir (Bruno ve Montville, 1993).

Özellikle gıdalarda kullanımlarından dolayı bu kadar popüler hale gelmiş olan laktik asit bakterilerinin kimyasal ve antibakterisidal özelliklerinin çalışılması ve gıda sistemlerindeki etkinliklerinin belirlenmesi için bakteriyosinlerin çok miktarda ve saf olarak elde edilmesi gerekmektedir. Şu an en yaygın olarak kullanılan metot hücrelerden arındırılmış bakteriyosin içeren sıvı kültürden amonyum sülfat presipitasyonu ile yapılan saflaştırma yöntemidir. Bu metot *Lactobacillus spp.*, *Pediococcus spp.*, *Leuconostoc spp.* ve *Lactococcus spp.* türlerinin ürettiği bakteriyosinler için kullanılmaktadır, ancak bu yolla elde edilen ürünler içerisinde diğer proteinleri de barındırdığı için çok takdir görmemektedir. Daha ileriki bakteriyosin saflaştırmaları için dizi analizi, çeşitli kolon kromatografi teknikleri kullanılmaktadır (Yang ve ark., 1992).

1.5.5. Ekstraselüler Polisakkarit (EPS) Üretimi

Polisakkarit üretim yeteneği bakteriler arasında oldukça yaygın olarak görülmektedir. Mikroorganizmalar sitoplazmada yer alan glikojen, gram pozitif bakterilerde hücre duvarı yapısında bulunan peptidoglikan ile lipoteikoik asit ve gram negatif bakterilerde dış membranda bulunan lipopolisakkaritler gibi depo polisakaritleri sentezlemektedirler. Bununla birlikte bazı bakteriler genel olarak glikokaliks terimi altında toplanan, az miktarda glikoprotein içeren ve yüzeyde bulunan polisakkaritler salgılamaktadır. Bu ekzopolisakkaritler kapsülün hücre yüzeyine kovalent bağlanmasını ya da tabakalara yapışmayı sağlayan kapsül polisakkaritleri ve hücre yüzeyine gevşekçe bağlı ince tabaka formundaki ekzopolisakkaritleri (EPS) kapsamaktadır. EPS üretim yeteneği, maya ve küflerde daha az görülmekte, bakteriler arasında ise yaygın olarak görülmektedir (Madedo ve Reyes-Gavilan, 2005).

Mikrobiyal EPS lerden bazıları, bitkilerdeki polisakkaritlere (selüloz, pektin, alginat vb) benzer fizikokimyasal özelliklerinden dolayı endüstride kullanılmaktadır. EPS'ler yeni işlevsellikleri ile pek çok ilginç fiziki, kimyasal ve rheological (maddenin sıvı halindeki özellikleri) özelliklerinden dolayı yeni biyomateryaller gibi hareket ederler. Bu nedenle tekstil, deterjan, yapıştırıcı, mikrobiyal olarak zenginleştirilmiş petrol iyileştirmeleri (NEOR), atık su

iyileştirmeleri, dere yatağı temizlemeleri, mayalanma, akarsu işleme sürecinde, kozmetik, eczacılık ve gıda katkı maddesi olarak oldukça geniş kullanım alanlarına sahiptirler. Laktik asit bakterileri ve diğer bakteriler tarafından üretilen EPS ler gıda endüstrisinde ürünün yapısından ve rheological özelliklerinden dolayı viskozite için, stabilizasyon için kullanılmaktadır ancak LAB starter kültürleri aynı zamanda süt fermantasyonunda da kullanıldığı için, laktik asit bakteri strainleri tarafından doğal olarak üretilen EPS lerin gıdalarda kullanımı son yıllarda oldukça dikkat çekmiştir. (Madieto ve Reyes-Gavilan, 2005; Yılmaz ve Çelik, 2007).

Laktik asit bakterileri tarafından üretilen polisakkaritler lokasyonları temel alınarak iki sınıf altında toplanmaktadır; (i) hücre yüzeyi ile ilişkili olan ve patojenite ile bağlantısı olduğu düşünülen kapsüler polisakkaritler (CPS) ve (ii) hücrelerin çevrelerine salgıladıkları ekstraselüler polisakkaritler. Kapsüler polisakkaritlerin mikrobiyal hücreleri kurumaya, fagositoza, faj saldırılarına, osmotik strese antibiyotiklere ve toksik bileşiklere karşı korumada rol oynadıkları ve hücrelere katı yüzeylere tutunabilme ve biyofilm oluşturabilme yetisi kazandırdıkları düşünülmektedir. Geçmiş yıllarda pek çok EPS üreten *Lactobacillus* türü tanımlanmıştır. Bu *Lactobacillus* türlerinin çoğu, fermente süt, yoğurt, kefir gibi süt ürünlerinden izole edilmiştir. EPS üreten bakteriler ürettikleri EPS leri yıkabilme yeteneğine sahip olmadığı için EPS'ler besin deposu olarak görülmemektedir. EPS'ler kompozisyonları temel alındığında homopolisakkaritler ve heteropolisakkaritler (HePS) olarak iki sınıfa ayrılmaktadır. Homopolisakkaritler monosakkaritlerden (daha çok fruktoz ya da glikoz) oluşmaktadır ve genelde sukrozdan bol miktarda üretilmektedir. Heteropolisakkaritler ise daha çok, galaktoz, glikoz, rhamnoz ve fruktoz gibi iki ya da daha fazla monosakkaritten oluşan identik tekrarlı ünitelerden oluşmaktadır. Heteropolisakkaritler alt üniteler gibi intraselüler olarak ve genelde 1,5 g/L. gibi düşük miktarlarda sentezlenmektedirler. Lokasyon ve kimyasal kompozisyona ilaveten konformasyon, moleküler kütle gibi diğer kriterlerde polisakkaritin özelliklerine etki etmektedir (Korakli, 2002; Tallon ve ark., 2003).

EPS üreten laktik asit bakterilerinin büyük bir çoğunluğu *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* ve *Pediococcus* cinslerine aittir. Bunun

yanı sıra *Bifidobacterium* cinsine ait bazı strainlerin de biyopolimer ürettikleri bilinmektedir. *Leuconostoc mesenteroides* tarafından sentezlenen dekstran 1948 yılında endüstriyel anlamda üretilmiş ilk biyopolimerdir EPS üretimi için çok sayıdaki laktik asit bakterisi incelenmiştir. Bu çalışmalarda daha çok teknolojik özelliklerinden dolayı *Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus*, *L. helveticus*, *Streptococcus thermophilus* gibi termofilik türler incelenmiştir. Bununla birlikte günümüzde *L. acidophilus*, *L. lactis*, *L. rhamnosus* gibi mezofilik bakteriler tarafından üretilen EPS'lere karşı oluşan ilgide artmaktadır (Korakli, 2002; Tallon ve ark., 2003; Madiedo ve Reyes-Gavilan, 2005).

Kimyasal kompozisyonları, yapıları, moleküler ağırlıkları, ürünleri ve fonksiyonları dikkate alındığı zaman heteropolisakkaritler oldukça geniş bir çeşitlilik göstermektedirler. Son dönemlerde farklı laktik asit bakterileri tarafından sentezlenen heteropolisakkaritler ile ilgili moleküler genetik çalışmaları artmış ve heteropolisakkaritlerin tekrarlayan ünitelerinde çeşitli glikotransferaz enzimleri bulunmuştur. Örneğin *Streptococcus thermophilus* genomunda EPS üretiminde polimerizasyonu sağlayan enzimler ile glikotransferaz enzimlerini kodlayan çeşitli genler bulunmaktadır. EPS üretimi nükleotid şekerler tarafından aktive edilmekte ve düşük prekürsör varlığında üretim azalmaktadır. Laktik asit bakterilerinde CPS oluşumuna çok daha az önem verilmiştir. LAB strainlerinin geniş çeşitliliğinin açıklanmasında EPS fenotiplerinin incelenmesi daha uygun bir yaklaşımdır olarak görülmektedir (Levander ve ark., 2002; Mozzi ve ark., 2006).

Gıda endüstrisinde laktik asit bakterileri tarafından üretilen EPS'lerin ilgi çekmesi fermente ürünlerin yapısını geliştiren rheological özelliklerinden (örneğin yoğurtlarda yapı gelişimini sağlama, peynirlerde pıhtılaşma riskini azaltma) ve genel olarak güvenli bulunmalarından (GRAS) kaynaklanmaktadır. Teknolojik faydalarının yanı sıra laktik asit bakterileri tarafından üretilen EPS ler antiülser, antitümoral olma, kolesterolü düşürme, immün sistemi güçlendirme gibi sağlığa faydalı çeşitli özellikleri de taşımaktadırlar (Van Calsteren ve ark., 2002; Champagne ve ark., 2007).

Ticari değeri yüksek olduğundan dolayı laktik asit strainleri tarafından üretilen EPS miktarının artırılması ve ürün geliştirilmesi açısından çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Welman ve ark. (2003) nın bildirildiğine göre NTG (N-metil-

N-nitro-N-nitroguanidin) kullanımı ile kimyasal mutasyona uğratan *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*' da EPS üretimi artmaktadır. Benzer şekilde çeşitli *Streptococcus* türleri ile yapılan çalışmalarda kimyasal mutasyon yolu ile EPS üretiminin artırılabilceğini desteklemektedir.

Gıdalarda katkı maddesi olarak EPS kullanımının başarı ile sonuçlanabilmesi için üreticilerin uygun ortamda, dondurularak ya da kurutulularak konsantre hale getirilmiş kültürün stabilizasyonunu, tekrar eldesini ve istenilen ürün eldesini sağlaması zorunludur. EPS üretimi temel olarak straine bağlı olarak gelişmekle birlikte; yüksek seviyelerde EPS üretimi için karbon ve nitrojen kaynakları arasında denge olması gerekmektedir. Ayrıca sıcaklık, ortam bileşenleri, inkübasyon süresi gibi büyüme koşulları da ürün eldesini etkilemektedir (Bouzar ve ark., 1996; Champagne ve ark., 2007).

Uygun koşulların sağlanmasına rağmen EPS üretimi tam kontrollü bir şekilde gerçekleştirilememektedir. Strainlerin genetik seviyede EPS üretimindeki kararsızlıkları, süt ürünlerinde lif oluşumunda kararsızlığa neden olmakta ve üretimde sıklıkla karşılaşılan bir problemi doğurmaktadır. Optimum gelişim sıcaklığında bile, uzun süren inkübasyon periyodundan sonra lif oluşumu kaybı olabilmektedir. EPS üretimi genellikle plazmitlerle ilişkilidir ve genetik kararsızlık plazmit kaybı ile açıklanabilmektedir. Yapılan çalışmalarda mukoz oluşumunu sağlayan çeşitli plazmitler tanımlanmıştır. Diğer yandan termofilik laktik asit bakterilerinde EPS üretimi plazmit varlığı ile ilişkili değildir. EPS üretimi için gerekli olan genler kromozomlarda yer almaktadır ve genetik kararsızlık hareketli genetik elementlerden ya da delesyonları da kapsayan genel genomik kararsızlıktan kaynaklanmaktadır. Her iki fenomen de *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* ve *S. thermophilus* da gözlemlenmiştir (Stingele ve ark., 1996).

1.6. Laktik Asit Bakterilerinin Sağlık Alanında Kullanımı

1.6.1. Probiyotikler ve Prebiyotikler

Günümüz dünyasında karşımıza sıklıkla çıkan terimlerden biride probiyotik ve prebiyotiklerdir. Özellikle son 10 yıldır probiyotik içeren gıdaların üretimi,

kullanımı, bu gıdaların özellikleri ve sağlıkla olan ilişkileri araştırma konusu olarak yoğun ilgi görmüştür. Kelime anlamı, “yaşamsal, canlı için” olan probiyotikler, insan sağlığına olumlu yönde etki eden ve gıda katkı maddesi olarak kullanılan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmıştır (Sanders, 1999).

Probiyotik olarak isimlendirilen bu bakterilerin selektif olarak büyüme ve gelişmesini sağlayan, aktivitelerini arttıran sindirilemeyen karbonhidrat bileşenlerine de Prebiyotik denmektedir (Macfarlane, 1999). Fructo-Oligosakkaritler yapısındaki prebiyotikler başta anne sütü olmak üzere birçok lifli gıdalarda (örneğin enginar, kereviz, pırasa, kuşkonmaz, muz) bulunur. Besin öğelerinin prebiyotik olarak kabul edilmesi için şu özellikleri taşıması gereklidir: (i) Mide ve ince bağırsakta hidrolize veya adsorbe olmamalıdır. (ii) Kolon mikroflorasındaki yararlı mikroorganizmalar için seçici olmalı ve çoğalmalarını uyaramalıdır. (iii) Florayı sağlıklı bir kompozisyon olacak şekilde değiştirmeli ve konak yararına olacak şekilde lokal ve sistemik etkiler yapmalıdır (Yılmaz, 2004; Yağcı, 2005).

Gerçekte probiyotik mikroorganizmaların varlığı binlerce yıl öncesine dayanmaktadır ve probiyotikler bilinmeyerek bile olsa binlerce yıldır insan diyetinin bir parçası olmuşlardır. Yoğurt, peynir, kefir gibi fermente ürünleri kullananlarda bazı enfeksiyon hastalıklarının daha az görüldüğüne ilişkin gözlemler, bilim adamlarını tarihsel süreç içerisinde canlı mikroorganizmalar ile çalışmalar yapmaya yönlendirmiştir. Rus araştırmacı Elie Metchnikoff, bol miktarda süt ürünleri tüketen Bulgar köylülerinin daha uzun süre yaşadığını fark etmiş ve yaptığı çalışmalarla probiyotik kavramını tıp dünyasına sunarak, bu alanda yaptığı araştırmalar sonucunda 1908 yılı Nobel ödülünü kazanmıştır. (Sanders, 1999; Gültekin, 2004; Yağcı, 2005).

Gastrointestinal sistem (GİS) bireylerde lokal yada sistemik immün yanıt şekillenmesinde önemli roller üstlendiğinden sağlıklı bir yaşam için GİS ve floranın korunması önem taşımaktadır. Gastrointestinal sistem normal florası doğumda steril iken, yenidoğan döneminde kazanılmakta ve yaşam boyu kalmaktadır. Doğum sırasında yutulan annenin vajinal ve fekal florası ilk flora kaynağını oluşturmaktadır. Doğumdan 48 saat sonra *Enterobacteria*, *Staphylococci* ve *Streptococci*’ den oluşan bakteriler floraya hâkimken doğumdan

bir hafta sonra Bifidobakteriler florada baskın duruma geçmektedir ve yaşam boyu özellikle *Bifidobacterium* ile *Lactobacillus* türleri GİS' in ana florasını oluşturmaktadır (Yılmaz, 2004; İnanç ve ark., 2005).

Son yıllarda özellikle probiyotiklerin etki mekanizmaları ve üstlendikleri görevler üzerine pek çok araştırma yapılmıştır. Probiyotiklerin kullanıldığı hastalık ve durumlar 'Sanders (1999)' tarafından özetlenmiştir (Çizelge 1.1.).

Çizelge 1.1. Probiyotik bakterilerin potansiyel etkileri (Sanders 1999)

Kullanıldığı durumlar	Mekanizma
Laktoz sindirimi	Bakterial laktozun laktoza hidrolizi
Enterik patojenlere karşı direnç oluşumu	Patojenler için uygun olmayan ortam oluşturma (bakteriyosin üretimi, ortam pH'sını düşürmek, kısa zincirli yağ asitleri oluşturma) Kolonizasyona karşı direnç oluşturma Gut florasına etki etme
Anti kolon kanser etkisi	Kolonik mikropların karsinojen etkili enzimlerinin inhibisyonu Karsinojen deaktivasyon İmmün cevap oluşturma
İmmün sistemin düzenlenmesi	İnfeksiyon ve tümörlere karşı oluşan spesifik olmayan savunmanın güçlendirilmesi Antijene spesifik immün cevabın desteklenmesi IgA üretimini artırma
Alerji	Antijen translokasyonun kana karışmasını önleme
Kalp hastalıkları	Bakteri hücreleri aracılığıyla kolesterolün asimilasyonu Antioxidative erki
Yüksek tansiyon üzerine etki	Hücre duvarı bileşenlerinin anjiyotensin olarak görev üstlenmesi
Ürogenital enfeksiyonlar	Üriner ve vajinal hücrelerin adhezyonu İnhibitör üretimi (H ₂ O ₂ üretimi)

Probiyotiklerin klinik kullanımları ile ilgili çalışmaların çoğu ishali vakalarda gerçekleştirilmiştir. Yapılan araştırmalar sırasında probiyotiklerin patojen mikroorganizmaların inhibe edilmesini birçok mekanizma veya yolla gerçekleştirebildiği saptanmıştır. Bu yollardan bazıları; 1. Laktik asit üreterek

lümenin pH' sını düşürmek. 2. Antimikrobiyal mikrosin, hidrojen peroksit ve serbest radikaller üretmek. 3. Reseptörlere tutunarak besin kaynakları için patojen mikroorganizmalarla rekabet etmek. 4. Metabolizma üzerine etki yapıp bağırsak enzimlerinin aktivitesini etkilemek. 5. Koruyucu münin oluşumunu uyarmak. 6. sitokin dengesi üzerine etki etmek. 7. Sekretuvar IgA yapımını uyarmak şeklinde sıralanabilmektedir (Yılmaz, 2004; İşler, 2005).

Probiyotik mikroorganizmaların öneminin anlaşılmasına paralel olarak bu mikroorganizmaları içeren fermente ürünlerin tüketimi de hız kazanmıştır. Yapılan araştırmalar fermente ürünlerin ve süt ürünlerinin sağlıklı imajına sahip olduğunu, fermente gıdaların canlı mikroorganizma içerdiği gerçeğinin müşteriler tarafından bilindiğini ve probiyotik kültürlerin üretimde starter kültür olarak kullanılmasının pozitif imaj yarattığını ortaya çıkarmıştır. Tüm bu gelişmeler sonucunda günümüzde probiyotik içeren gıdaların üretiminde ve bu ürünlerin üretim teknolojisinde de ilerlemeler meydana gelmiştir. Probiyotikler fermente gıdalara ilave edildiği zaman; tüketicinin gastrointestinal sistemine girdiği zamanki aktivitesi ya da probiyotik ürünlerin bozulmaması üzerine etkili olan faktörler gibi pek çok faktör göz önünde bulundurulmalıdır. Bu faktörler şunlardır; 1. Eklenen probiyotik mikroorganizmanın fizyolojik durumu (hücrelerin logaritmik ya da durgun fazda olup olmadığı). 2. Ürünün fiziksel koşulları (sıcaklık vb). 3. Probiyotik eklenirken ürünün kimyasal kompozisyonu (asitlik, karbonhidrat içeriğinin kullanılabilirliği, nitrojen kaynakları, mineral içeriği, su aktivitesi, oksijen miktarı vb). 4. Starter kültür ve probiyotik organizmalar arasındaki etkileşimler (bakteriyosin üretimi, antogonistik etki, sinerjik etki vb). Probiyotik mikroorganizmalar starter kültürün bir ögesi olarak kullanıldığı zaman bu mikroorganizmalar ile gıda matriksi ya da starter kültür arasındaki etkileşimler çok duyarlı olabilmektedir (Heller, 2001).

Fermente gıdalara probiyotik ilavesinde bir diğer önemli nokta da eklenecek olan mikroorganizmanın seçimidir. Sonuç itibariyle gıdaların başarılı teslimleri için probiyotiklerin gıda üretim prosesinde, depolama, olgunlaşma ve raf ömrü boyunca canlı kalmaları zorunludur. Tavsiye edilene göre probiyotik kültürü ürün içerisinde minimum 10^7 CFU ml⁻¹ sayıda bulunmak zorundadır. Ayrıca gastrik transit boyunca bakteri geçişinde sayılamayacak kadar çok hücrenin canlılığını

yitirdiği gerçeği de unutulmaması gereken bir diğer noktadır. Bu nedenle probiyotik olarak ilave edilen organizmaların işlevlerini yerine getirebilmesi için çeşitli özelliklere sahip olması gerekmektedir. Bu özelliklerin başında yüksek asit, sıcaklık ve tuz konsantrasyonlarında gelişebilme, oksijene karşı tolerans ve prebiyotikleri metabolize edebilme yetenekleri gelmektedir. Ayrıca izolatların stabilite, endüstriyel düzeyde üretilebilme, tüketici için sağlık riskinin olmaması, olası sağlık etkilerinin doğrulanması gibi özellikleri de önem taşımaktadır(Ross ve ark., 2005; Gürsoy ve Kınık, 2006).

Bugün ticari ürünlerde kullanılan probiyotik bakteriler çoğunlukla *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerine ait üyelerdir. Probiyotik strainler olarak izole edilen *Lactobacillus* türleri; *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. johnsonii*, *L. rhamnosus*, *L. gasseri* ve *L. reuteri* türlerini içermektedir. *Bifidobacterium* türleri ise *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis* türlerini içermektedir (Heller, 2001).

2. MATERYAL VE METOD

2.1. MATERYAL

2.1.1. Et ve Et Ürünü Örneklerinin Temini ve Laboratuvara Getirilmesi

Pastırma, sucuk ve kıyma örnekleri Eskişehir piyasasından temin edilerek, steril kavanozlar içerisinde, alındıkları gün soğuk zincir ile laboratuvara getirilmiş ve aynı gün içerisinde analize alınmıştır.

2.1.2. Test Mikroorganizmaları

Fermente et ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin gıda kökenli çeşitli gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite gösterip göstermediği Çizelge 2.1 de temin edildikleri kaynaklar ile birlikte verilmiş olan test bakterileri kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmalar sırasında kullanılan test mikroorganizmaları (Çizelge 2.1) uzun vadede %15'lik gliserol içerisinde -85 °C' de, kısa süreli olarak ise +4 °C' de nutrient broth içerisinde saklanmıştır. Kullanılan bütün test mikroorganizmaları, analizlerden önce stoktan çıkarılarak canlandırılmış, saflık kontrolü yapılmış ve daha sonra testlerde kullanılmıştır.

Çizelge 2.1. Test Mikroorganizmaları (NRRL: Northern Regional Research Laboratory of the USDA, Peoria, Illinois, USA. ATCC: American Type Culture Collection, USA).

Mikroorganizma	Kültürün Temin Edildiği Yer	Optimum Gelişme Sıcaklığı
<i>Bacillus cereus</i>	NRRL B-3711	30°C
<i>Bacillus subtilis</i>	NRLL B-744	30°C
<i>Escherichia coli</i>	NRRL B-3704	37°C
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	37°C
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Anadolu Üniv. Fen Fakültesi	30°C

Çizelge. 2.1. (Devam) Test Mikroorganizmaları (NRRL: Northern Regional Research Laboratory of the USDA, Peoria, Illinois, USA. ATCC: American Type Culture Collection, USA).

<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC-7644	30°C
<i>Listeria monocytogenes</i> serovar 1	Gazi Üniv. Fen Fakültesi	30°C
<i>Listeria monocytogenes</i> PNE QCILI	Gazi Üniv. Fen Fakültesi	30°C
<i>Proteus vulgaris</i>	NRRL B-123	37°C
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	30°C
<i>Salmonella typhimurium</i>	NRRL B-4420	37°C
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	30°C
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Gazi Üniv. Fen Fakültesi	37°C
<i>Lactobacillus plantarum</i>	NRRL B-4496	30°C
<i>Lactobacillus buchneri</i>	NRRL B-1837	30°C
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	NRRL B-548	30°C
<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	Anadolu Üniv. Fen Fakültesi	30°C
<i>Streptococcus lactis</i>	Anadolu Üniv. Fen Fakültesi	30°C

2.1.3. Besi Ortamları

2.1.3.1. Arjinin dihidrolaz broth (D2935, Fluka)

Pepton	1 g
Sodyum klorür	5 g
Potasyum hidrojen fosfat	0,3 g
Fenol red	0,01 g
L-arjinin HCl	10 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH 7,4± 0,2 ' ye ayarlanmış ve 121 ° C de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.2. Bacillus cereus agar (B2176, Sigma)

Mannitol	10 g
----------	------

Sodyum klorür	2 g
Magnezyum sülfat	0,1 g
Di sodyum fosfat	2,5 g
Potasyum fosfat	0,25 g
Sodyum piruvat	10 g
Peptic digest of animal tissue	1 g
Brom timol mavisi	0,12 g
Agar	10 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, 121 °C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. Otoklavdan çıkan besiyerinin sıcaklığı 50 °C' ye kadar düştükten sonra 1 vial Polymixin B Selective Supplement (P-9602, Sigma) ve 25ml Egg Yolk Emulsion (E-7899, Sigma) ilave edilmiştir.

2.1.3.3. Beyin kalp infusion yumuşak agar (53286, Sigma)

Sığır kalbi	5 g
Dana beyni	12,5 g
Di sodyum hidrojen fosfat	2,5 g
Glikoz (D+)	2 g
Pepton	10 g
Sodyum klorür	5 g
Agar	7 g
Distile su	1000 ml.

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH 7,4± 0,2 ' ye ayarlanmış ve 121 ° C de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.4. Listeria selective agar (62355, Fluka)

Glikoz (D+)	1 g
Nalidiksik asit	0,04 g

Sodyum klorür	5 g
Tiamin di klorür	0,005 g
Triypalavin	0,01 g
Triptoz	20 g
Agar	13 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH $7,4 \pm 0,2$ ' ye ayarlanmış ve 121°C de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.5. MRS agar (Lactobacillus Agar acc. To DEMAN, ROGOSA and SHARPE) (1.10660, Merck)

Diamonyum hidrojen sitrat	2 g
Dipotasyum hidrojen fosfat	2 g
Glikoz	20 g
Magnezyum sülfat	0,2 g
Mangan sülfat	0,04 g
Et ekstraktı	8 g
Pepton	10 g
Sodyum asetat	5 g
Maya ekstraktı	4 g
Tween [®] 80	1 ml
Agar	14 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH $5,4 \pm 0,2$ ' ye ayarlanmış ve 121°C de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.6. MRS agar % 6,0 tuz ilaveli

Daha önce içeriği verilmiş olan MRS agar (1.10660. Merck) ortamı içerisine 60gr / 1000 ml. olacak şekilde sodyum klorür ilavesi yapılmış, içerik

distile suda çözüldükten sonra 121 °C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.7. MRS agar %7,5 tuz ilaveli

Daha önce içeriği verilmiş olan MRS agar (1.10660. Merck) ortamı içeriğine 75gr / 1000 ml. olacak şekilde sodyum klorür ilavesi yapılmış, içerik distile suda çözüldükten sonra 121 °C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.8. MRS agar %10 tuz ilaveli

Daha önce içeriği verilmiş olan MRS agar (1.10660. Merck) ortamı içerisine 100gr / 1000 ml. olacak şekilde tuz ilavesi yapılmış, içerik distile suda çözüldükten sonra 121 °C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.9. MRS agar laktoz ilaveli

Daha önce içeriği verilmiş olan MRS agar (1.10660. Merck) ortamının içerisinden glikoz çıkartılarak yerine aynı miktarda laktoz ilavesi yapılmış, içerik distile suda çözüldükten sonra 121 °C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.10. MRS agar sakkaroz ilaveli

Daha önce içeriği verilmiş olan MRS agar (1.10660. Merck) ortamının içerisinden glikoz çıkartılarak yerine aynı miktarda sakkaroz ilavesi yapılmış, içerik distile suda çözüldükten sonra 121 °C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.11. MRS agar fruktoz ilaveli

Daha önce içeriği verilmiş olan MRS agar (1.10660. Merck) ortamının içerisinde glikoz çıkartılarak yerine aynı miktarda fruktoz ilavesi yapılmış, içerik distile suda çözüldükten sonra 121 °C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.12. MRS Broth (69962, Fluka)

Dipotasyum hidrojen fosfat	2 g
Glikoz	20 g
Magnezyum sülfat heptahidrat	0,2 g
Mangan sülfat tetrahidrat	0,05 g
Et ekstraktı	8 g
Pepton	10 g
Sodyum asetat trihidrat	5 g
Triamonyum sitrat	2 g
Yeast ekstraktı	5 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH 6,2± 0,2' ye ayarlanmış, 1 ml Tween® 80 eklenmiş ve 121 °C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.13. Mueller hinton agar (70191, Fluka)

Sığır eti-kalp ekstraktı	4 g
Kazein hidrolizat	17,5 g
Nişasta	1,5 g
Agar	17 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH 6,8 ± 0,2' ye ayarlanmış ve 121 °C de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.14. Nutrient Broth (03856, Fluka)

Et ekstraktı	3 g
Pepton	5 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH $7,0 \pm 0,2$ ' ye ayarlanmış ve 121 °C de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.15. Nutrient Agar (N 9405, Sigma)

Et ekstraktı	3 g
Pepton	5 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH $6,8 \pm 0,2$ ' ye ayarlanmış ve 121 °C de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.16. Plate count agar (70152, Fluka)

Dekstroz	1 g
Tripton	5 g
Maya ekstraktı	2,5 g
Agar	9 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH $6,8 \pm 0,2$ ' ye ayarlanmış ve 121 °C de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.17. Patates dekstroz agar (1.10130, Merck)

Patates ekstraktı	4 g
Glikoz (D+)	20 g
Agar	15 g

Distile su 1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, 121 °C de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.18. Üç şekerli demir agar (1.03915, Merck)

Pepton (kazein den)	15 g
Pepton (et den)	5 g
Et ekstraktı	3 g
Maya ekstraktı	3 g
Sodyum klorür	5 g
Laktoz	10 g
Sukroz	10 g
D (+) Glikoz	1 g
Demir 3 amonyum sitrat	0,5 g
Sodyum tiyosülfat	0,5 g
Fenol kırmızısı	0,024 g
Agar	12 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH 7,4± 0,2' ye ayarlanmış, içeriğin tam olarak homojen hale getirilmesi için besiyeri kaynatılmış ve test tüplerine 15 ml koyularak 121 °C de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. Otoklavdan çıkan tüpler eğimli bir zemin üzerine yatırılarak dondurulmuş ve yatık agar şeklinde kullanılmıştır.

2.1.4. Kullanılan Boyalar

2.1.4.1. Kristal violet

Kristal violet	2,0 g
Etil Alkol (% 95)	20 ml

Amonyum Oksalat	0,2 g
Distile Su	20 ml

Kristal violet 10 ml etil alkol içerisinde çözüldükten sonra üzerine ayrı bir erlende 20 ml distile su içerisinde çözülmüş olan amonyum oksalat eklenmiştir. Karışım filtreden geçirilerek kullanılmıştır (Speck ve ark., 1976).

2.1.4.2. Safranin

Safranin	0,25 g
Etil alkol (%95)	10 ml
Distile su	100 ml

Safranin alkol içerisinde çözüldükten sonra distile su ilave edilmiş ve 24 saat sonrasında çözelti filtre kâğıdından geçirilerek süzülmüştür (Çotuk ve Anđ-Küçüker, 1992).

2.1.4.3. Lugol

İyot	5 g
Potasyum iyodür (KI)	10 g
Distile su	100 ml

Potasyum iyodür 20–30 ml distile suda çözülmüş ve üzerine iyot eklenmiştir. Ardından çözelti distile su ile 100 ml.'ye tamamlanmıştır (Çotuk ve Anđ-Küçüker, 1992).

2.1.5. Kullanılan Çözeltiler

2.1.5.1. Fizyolojik tuzlu su

Sodyum klorür	85 g
Distile su	1000 ml

Fizyolojik tuzlu su çözeltisi sodyum klorür distile su içerisinde çözülerek kullanılmıştır (Tamer ve ark., 1989).

2.1.5.2. %20'lik gliserol çözeltisi

Gliserol	20 ml
Distile su	80 ml

Gliserol ve distile su karıştırılıp 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildikten sonra kullanılmıştır (Akçelik ve ark., 2000).

2.1.5.3. Süt tozu çözeltisi (% 15'lik)

Süt tozu	15 g
Distile su	85 ml

Süt tozu distile su içerisinde çözündürülmüş ve 115 °C' de 1,5 atm basınçta 10 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir (Tamer ve ark., 1989)

2.1.5.4. Laktik asit miktar tayini için standart çözelti

Saf laktik asit solüsyonundan sırası ile 1, 3, 8, 10, 12, 16 mg / ml olacak şekilde ayrı ayrı 5 ml' lik MRS broth ortamı içeren tüplere ilave yapılarak hazırlanmıştır (Mumcu, 1997).

2.1.5.5. Laktik asit miktar tayini için A çözeltisi

Baryum klorür	98,75 g
Distile su	1000 ml

Çözelti baryum klorür ($BaCl_2 \cdot 2 H_2O$) distile su içerisinde çözündürüldükten sonra kullanılmıştır (Mumcu, 1997).

2.1.5.6. Laktik asit miktar tayini için B çözeltisi

Sodyum hidroksit	26,4 g
Distile su	1000 ml

Sodyum hidroksit (NaOH) distile su içerisinde çözülerek 0,66 N NaOH hazırlanmıştır (Mumcu, 1997).

2.1.5.7. Laktik asit miktar tayini için C çözeltisi

Çinko sülfat	225 g
Distile su	1000 ml

Çözelti Çinko sülfat ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) distile su içerisinde çözülerek kullanılmıştır (Mumcu, 1997).

2.1.5.8. Laktik asit miktar tayini için renk ayırıcı

Demir klorür	5 g
Hidroklorik asit	12,5 ml
Distile su	87,5 ml

Demir klorür 1 N, 12,5 ml hidroklorik asit (HCl) içerisinde çözdürülmüş ve karışım distile su ile 100 ml' ye tamamlanmıştır. Bu solüsyon stok olarak saklanmıştır.

Yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanan stok çözelti ile renk ayırıcı çözeltisi hazırlanmıştır. Laktik asit miktar tayini için kullanılan renk ayırıcı, kullanılacağı zaman taze olarak hazırlanmıştır (Mumcu, 1997).

2.1.5.9. Proteolitik aktivite tayini için standart çözelti

Proteolitik aktivite tayininde standart eğri oluşturmak için sırasıyla 0,02, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1 mg tirozin /ml olacak şekilde tirozin standart çözeltisinden 5 ml' lik MRS broth ortamı içeren tüplere ilave yapılmıştır (Aslım, 1994).

2.1.5.10. 0,72 N Triklorasetik asit çözeltisi

Triklorasetik asit	118 g
Distile su	1000 ml

Triklorasetik asit (TCA) distile su içerisinde manyetik karıştırıcı yardımı ile çözümlenerek kullanılmıştır (Aslım, 1994)

2.1.5.11. $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ çözeltisi

Sodyum bikarbonat	150 g
Sodyum di fosfat	20 g
Distile su	1000 ml

Sodyum bikarbonat (Na_2CO_3) ve sodyum di fosfat ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$) uygun miktarlarda karıştırıldıktan sonra distile su içinde çözümlenerek kullanılmıştır (Aslım, 1994).

2.1.5.12. Fenol Ayıracı

Folin Ciocalteus çözeltisi	50 ml
Distile su	100 ml

Fenol ayıracı 1 kısım Folin çözeltisi 2 kısım distile su ile karıştırılarak hazırlanmıştır. Bu çözelti kullanılacağı zaman taze olarak hazırlanmakta, stok solüsyonu oluşturulamamaktadır (Aslım, 1994).

2.1.5.13. Hidrojen peroksit tespiti için standart çözelti

0,1 ml saf (% 35) hidrojen peroksit alınıp distile su ilavesi ile 30 ml' ye tamamlanmıştır. Daha sonra bu çözeltiden 1 ml başka bir erlene alınmış ve tekrar distile su ile 30 ml' ye tamamlanmıştır (Mumcu, 1997).

2.1.5.14. 1 N H₂SO₄ çözeltisi

Sülfürik asit	1,67 ml
Distile su	100 ml

Saf sülfürik asitten distile su ilavesi ile 1 N olacak şekilde çözelti hazırlanmıştır (Mumcu, 1997)

2.1.5.15. Amonyum molibden çözeltisi

Amonyum molibden	0,12 g
Distile su	100 ml

Çözelti amonyum molibden ((NH₄)₆Mo₇O₂₄) distile su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır (Mumcu, 1997).

2.1.5.16. Potasyum iyodür çözeltisi

Potasyum iyodür	16,6 g
Distile su	100 ml

Çözelti potasyum iyodür (KI) distile su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır (Mumcu, 1997)

2.1.5.17. Sodyum fosfat tamponu

Sodyum fosfat dihidrat	0,78 g
Distile su	100 ml

Sodyum fosfat dihidrat (NaH₂PO₄.2H₂O) distile su içerisinde çözüldükten sonra pH; 7,5'e ayarlanmıştır. Tampon çözelti +4 °C' de buzdolabı koşullarında saklanmıştır.

2.1.6. Kullanılan antibiyotikler

- Seftriakson (CRO 30µg Oxoid)
- Siprofloksasin (Cf 5 mcg/disk HIMEDIA)
- Penisilin- G (P 10 mcg / disk HIMEDIA)
- Gentamisin (G 10 mcg / disk HIMEDIA)
- Netilmisin Sülfat (Nt 30 mcg / disk HIMEDIA)

2.2. METOT

2.2.1. Fermente Et Ürünlerinden Mikroorganizma İzolasyonu

2.2.1.1. Fermente Et Ürünlerinden Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu

Çalışmada piyasadan temin edilen et örnekleri laboratuvar ortamına getirildikten hemen sonra izolasyon için ekim işlemleri gerçekleştirilmiştir. İzolasyon için; 25 g et örneği 225 ml distile su ile steril blender içerisinde homojenize edilmiştir. Elde edilen 10^{-1} 'lik dilüsyondan içerisinde 9 ml'lik steril distile su içeren tüplerde 10^{-2} ve 10^{-3} ' lük dilüsyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan tüm dilüsyonlardan dökme plaka yöntemi ile ekim yapılmıştır. Dilüsyonlardan aseptik koşullarda 1 ml alınarak steril boş petrilere aktarılmış ve üzerine 45 °C' ye kadar soğutulmuş MRS agar dökülerek karıştırılmıştır. Hazırlanan her dilüsyon için, ayrı üç petriye ekim yapılmış ve tüm çalışma çift paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Ekim işlemleri tamamlanan petriler (i) 30 °C' de aerobik ortamda, (ii) 30 °C' de anaerobik ortamda ve (iii) 42 °C' de aerobik ortamda 48–72 saat süre ile inkübasyona tabi tutulmuştur (Balows ve ark., 1992; Holt ve ark., 2000; Halkman 2005).

İnkübasyon süreci tamamlandıktan sonra bu petrilere; tek düşen, morfolojik olarak birbirinden farklı olan ve laktik asit bakterisi olduğu düşünülen koloniler (mat, krem rengi, beyaz, küçük ve özellikle petrinin alt yüzeyinde

bulunan koloniler) öze yardımı ile alınarak başka bir MRS agar petrisine çizgi ekim yöntemi ile aktarılmıştır. Ekim yapılan petriler elde edildikleri ortam koşullarında 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen izolatların tam olarak saflığı sağlanana kadar izolatlar çizgi ekim yöntemi ile MRS agar petrilerinde pasajlanmıştır (Holt ve ark., 2000; Halkman, 2005).

Saf kültür haline getirilen izolatların ilk etapta gram boyama ve katalaz aktivitelerine bakılmış; gram pozitif, katalaz negatif olan kültürler antimikrobiyal aktivite ve diğer testlerde kullanılmak üzere %20' lik gliserol içerisinde stoklanmıştır (Holt ve ark., 2000; Halkman, 2005).

2.2.1.2. Et ve Et Ürünlerinde Aerobik Mezofilik Mikroorganizma Sayımı

Et ve et ürünü örneklerinde toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayımı için uygun dilüsyonlardan 1 ml steril boş petrilere aktarım yapılmış ve üzerine 45 °C' ye kadar soğutulmuş plate count agar (PCA) dökülmüştür. Petriler 24–48 saat süre ile aerobik ortamda, 30 °C' de inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonrası petrilere oluşan koloniler sayılmış ve 30–300 arası değer bulunan petriler dikkate alınmıştır (Başkaya ve ark., 2004).

Hesaplamalar için $N = C / [V \cdot (n_1 + 0,1 \times n_2) \times d]$ formülünden yararlanılmış ve sonuçlar kob/g cinsinden bulunmuştur.

N = Gıda örneğinin bir gram ya da 1ml'inde mikroorganizma sayısı,

C = Sayım yapılan tüm petri kutularındaki koloni sayısı toplamı,

V = Sayım yapılan petri kutularına aktarılan hacim (ml),

n_1 = İlk seyreltiden yapılan sayımlarda sayım yapılan petri kutusu adedi,

n_2 = İkinci seyreltiden yapılan sayımlarda sayım yapılan petri kutusu adedi,

d = Sayımın yapıldığı ardışık iki petriden daha konsantre olanın seyreltme oranıdır (Halkman, 2005).

2.2.1.3. Et ve Et Ürünlerinde Maya-Küf Sayımı

Et ve et ürünü örneklerinde toplam maya-küf sayımı yapmak için uygun dilüsyonlardan 1 ml steril boş petrilere aktarım yapılmış ve üzerine üzerine 45 °C'

ye kadar soğutulmuş patates dekstroz agar (PDA) dökülmüştür. Petriler 4–5 gün süre ile oda sıcaklığında inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonrası petrilere oluşan koloniler sayılmış ve 30–300 arası değer bulunan petriler dikkate alınmıştır (Halkman, 2005)

2.2.1.4. Fermente Et Ürünlerinde *Bacillus cereus* Aranması

Laktik asit bakteri izolasyonu için piyasadan elde edilen tüm fermente et ürünü örneklerinde *Bacillus cereus* varlığı araştırılmıştır. LAB izolasyonunda kullanılmak üzere hazırlanmış olan tüm dilüsyonlardan 1 ml steril boş petrilere aktarım yapılmış ve üzerine 45 °C' ye kadar soğutulmuş *Bacillus cereus* agar dökülmüştür. Petriler 48–72 saat süre ile oda sıcaklığında inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyondan sonra *Bacillus cereus* agar ortamı (B2176, Sigma) için tipik özellik gösteren yeşil ve hafif hareli (yanardöner) koloniler aranmıştır (Başkaya ve ark., 2004; Anonim, 2007).

2.2.2. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Laboratuvar ortamına getirilen örneklerden izole edilen laktik asit bakterilerinin, Tablo 2.1.' de belirtilen mikroorganizmalara karşı, antimikrobiyal aktivitesi sandvic overlay yöntemi ve agar difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir.

2.2.2.1. Sandvic Overlay Yöntemi

Et ve et örneklerinden izole edilip saflaştırılan kültürler MRS broth içeren tüplere ekilerek 48 saat süreyle optimum koşullarda (30 °C de aerobik, 30 °C de anaerobik yada 42°C de aerobik koşullarda) geliştirilerek aktif hale getirilmiştir. Daha sonra aktif kültürlerden %1 oranında alınarak tekrar MRS broth içeren tüplere 1 ml inokülasyon yapılmıştır. Aktarımı yapılan kültürler 48 saat süreyle optimum gelişme koşullarında inkübasyona tabi tutulmuş ve bu kültürler çalışma için kullanılmıştır. MRS broth içerisinde gelişimini tamamlayan kültürlerden 10

ül alınarak daha önceden hazırlanmış ve yüzeyi kurumuş olan MRS agar petrilere damlatılmıştır. Aynı petride birden fazla kültürün karışma ihtimalini önlemek için her petriye en fazla 12 adet izolattan damlatma yapılmıştır. Damlatma işlemi tamamlanan petrilere 48 saat süreyle, 30 °C’ de, inkübasyona tabi tutulmuştur. Bu zaman zarfının sonucunda gelişimini tamamlayan kültürler üzerine Tablo 2.1.’ de belirtilen test mikroorganizmaları eklenmiştir.

Patojen test mikroorganizmalarının ilavesi için; her bir mikroorganizma için, %7 oranında agar içeren Beyin-kalp infusion yumuşak agar ve Nutrient broth tüpleri hazırlanmıştır. Nutrient broth içerisinde gecelik kültürleri hazırlanan test mikroorganizmalarının yoğunluğu Mc Farland No: 0,5 (10^8 kob/ml) bulanıklığına göre ayarlandıktan sonra kültürden %1 oranında alınarak 45 °C’ ye kadar soğutulmuş olan BHI yumuşak agar içerisine inokülasyon yapılmış ve besi yeri iyice karıştırıldıktan sonra MRS agar petrilere yüzeyi yumuşak agar (yaklaşık olarak 5–6 ml yumuşak agar ilavesi) ile kaplanmıştır.

Petriler içerdikleri test mikroorganizmasının optimum gelişme sıcaklığında (Çizelge 2.1.) 24 saat süreyle inkübasyona tabi tutulduktan sonra, sonuçlar; laktik asit bakterileri etrafında oluşan zonların çapları ölçülerek değerlendirilmiştir. Çalışma her izolat için çift paralel olarak gerçekleştirilmiştir (González ve ark., 2007).

2.2.2.2. Agar Difüzyon Yöntemi

Test edilecek olan kültürler MRS broth tüpleri içerisinde 48 saat süreyle geliştirilerek aktif hale getirilmiş ve bu aktif kültürlerden %1 oranında alınarak tekrar MRS broth içeren (80 ml) erlenlere ekim yapılmıştır. Aktarımı yapılan kültürler 48 saat süreyle optimum gelişme koşullarında (30 °C de aerobik, 30 °C de anaerobik yada 42°C de aerobik koşullarda) inkübasyona tabi tutulmuştur.

İnkübasyon süresi sonunda kültürler +4 °C’ de, 11.000 x g’ de, 30 dakika süreyle santrifüj edilerek hücreler çöktürülmüştür. Elde edilen süpernatant sıvısı ayrı bir şişe içerisine alınmış ve pH 5,6 ± 0,2 ’ye ayarlanmıştır. pH ayarlaması yapılan örnekler, ağızları alüminyum folyo ile kaplanarak bir gece süre ile -86 °C’ de bekletilmiş ve ertesi sabah folyoları çıkartılarak liyofilizatöre yerleştirilmiştir.

Liyofilizasyon işlemi yaklaşık olarak iki gün sürmüş ve bu süreç sonunda tamamıyla kuruması sağlanan örnekler liyofilizatörden alınarak distile su ile (8 ml) tekrar sulandırılmıştır. Daha sonra örnekler 0,22 µm çaplı, düşük protein bağlayıcı özellikteki, steril selüloz membran filtrelerden geçirilerek steril edilmiş ve küçük steril şişeler içerisine alınarak kullanılmıştır (Bennik ve ark., 1997).

Gram pozitif ve gram negatif test bakterileri için ayrı ayrı Nutrient agar besi ortamı, laktik asit test bakterileri içinse MRS agar besi ortamı hazırlanmıştır. Hazırlanan besi ortamları 45 °C' ye kadar soğutulduktan sonra besi ortamına; test bakterisinin Nutrient broth ortamında hazırlanmış ve Mc Farland No: 0,5 (10^8 kob/ml) göre yoğunluğu ayarlanmış olan gecelik sıvı kültüründen %1 oranında inokülasyon yapılmıştır. Besi ortamı iyice karıştırıldıktan sonra, steril boş petrilere dökülmüş ve yüzeylerinin kuruması beklenmiştir. Petrilerin yüzeyleri tamamı ile kuruduktan sonra, steril koşullarda, mantar delici yardımı ile 0,8 cm çapında kuyucuklar açılmıştır. Açılmış olan kuyucuklara, (her kuyucuğa bir LAB izolatına ait filtrat) 80 µl filtrat doldurulmuş ve petrilere 24 saat süre ile test bakterisinin optimum sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra filtrat içeren kuyucukların etrafında oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek değerlendirme yapılmıştır. Deney tüm izolatlar için çift paralel olarak gerçekleştirilmiştir (Ryan ve ark., 1996; Choi ve ark., 1999; Zhu ve ark., 2000).

Et örneklerinden izole edilen tüm laktik asit bakterileri Çizelge 2.1. de verilen 18 adet test bakterisine karşı agar difüzyon yöntemi ile denendikten sonra elde edilen antimikrobiyal aktivitenin hidrojen peroksit üretiminden kaynaklanıp kaynaklanmadığını ortaya koymak için filtratların içerisine katalaz ilave edilerek tekrar edilmiştir. Bu amaçla aynı yöntem izlenerek filtrat eldesi sağlandıktan sonra, filtratların içerisine 5 µg / ml olacak şekilde katalaz ilave edilmiş ve filtratlar 37 °C' de 4 saat süre ile bekletilmiştir. Daha sonra test aynı yöntem uygulanarak gerçekleştirilmiştir (Ryan ve ark., 1996; Choi ve ark., 1999; Zhu ve ark., 2000).

2.2.2.3. Sıcaklık, EDTA ve Çeşitli Enzimlerin Antimikrobiyal Aktivite Üzerine Etkisi

Agar difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivite tayini yapılan örnekler arasından yüksek aktivite sergilediği düşünülen ve katalaz enzimi ilavesi ile aktivitesini kaybetmeyen izolatlar seçilmiş ve bu izolatların gösterdiği antimikrobiyal aktivite ile çeşitli enzimler arasındaki ilişki belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla seçilen izolatlardan Bölüm 2.2.2.2. de anlatıldığı gibi filtrat hazırlanmış ve hazırlanan hücresiz filtrat çeşitli enzimler ile muamele edilmiştir. Kullanılan enzimler ve miktarları şu şekilde sıralanabilir; 1) Proteinaz K; 0,05M sodyum-fosfat tamponu (pH: 7,5) içerisinde çözölen Proteinaz K dan 1 mg / ml olacak şekilde filtratlara ilave yapılmış ve filtratlar 37 °C de 4 saat süre ile bekletilmiştir. 2) Tripsin; 0,05M sodyum-fosfat tamponu (pH: 7,5) içerisinde çözölen tripsin 2 mg / ml olacak şekilde filtratlara eklenmiş ve filtratlar 37 °C de 4 saat süre ile bekletilmiştir. 3) Alfa kimotripsin; 0,05M sodyum-fosfat tamponu (pH: 7,5) içerisinde çözölen alfa kimotripsin 5 mg / ml olacak şekilde filtratlara eklenmiş ve filtratlar 37 °C de 4 saat süre ile bekletilmiştir. 4) Alfa amilaz; 0,05M sodyum-fosfat tamponu (pH: 7,5) içerisinde çözölen alfa amilaz 1 mg / ml olacak şekilde filtratlara eklenmiş ve filtratlar 37 °C de 4 saat süre ile bekletilmiştir. 5) Lizozim; 0,01 M sodyum klorür içerisinde hazırlanan lizozim stok solüsyonundan 1 mg/ ml olacak şekilde filtratlara ilave yapılmış ve filtratlar 37 °C de 4 saat süre ile bekletilmiştir. Bunlara ilaveten filtratlara 5 mg / ml olacak şekilde EDTA eklenmiş ve EDTA' nın antimikrobiyal aktivite üzerindeki etkisi gözlemlenmiştir. Ayrıca sıcaklığın filtratlar üzerindeki etkilerini belirleyebilmek amacıyla filtratlar 60 °C' de 30 dakika ve 121 °C' de 20 dakika ısı ile muamele edilmiştir. Bu şekilde modifiye edilen filtratların sergiledikleri antimikrobiyal aktivite Bölüm 2.2.2.2. de anlatıldığı biçimde agar difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmalar sırasında test bakterisi olarak Çizelge 2.1. de verilen test mikroorganizmalarından yalnızca 6 tanesi; *Listeria monocytogenes*, *L. monocytogenes serovar 1*, *L. monocytogenes PNE QCILI*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* kullanılmıştır (Bhunja ve ark., 1988; Ryan ve ark., 1996; Choi ve ark., 1999; Zhu ve ark., 2000).

2.2.2.4. pH' nın Antimikrobiyal Aktivite Üzerine Etkisi

Seçilen izolatların enzimlerle muamele edilerek, agar difüzyon yöntemi ile test bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite testleri gerçekleştirildikten sonra bakteriyosin ya da bakteriyosin benzeri metabolit üretme ihtimali yüksek bulunan izolatlar belirlenmiştir. Seçilen izolatların sahip olduğu antimikrobiyal aktivite üzerine pH' nın etkisini belirlemek amacı ile Bölüm. 2.2.2.2. de anlatıldığı gibi hazırlanan filtratların pH değerleri ayrı ayrı olmak kaydı ile pH; 1, 3, 5, 7, 9 11 ve 13' e ayarlanmış ve filtratlar 24 saat süreyle 37 °C de bekletilmiştir. Ardından filtratların pH değeri tekrar pH: 5–6 arasına ayarlanarak, antimikrobiyal aktivite tespiti Bölüm 2.2.2.2. de anlatıldığı şekilde agar difüzyon yöntemi ile 6 test mikroorganizmasına karşı (Bölüm 2.2.2.3 de verilen mikroorganizmalar) yapılmıştır (Bhunja ve ark., 1988; Ryan ve ark., 1996; Choi ve ark., 1999; Zhu ve ark., 2000).

2.2.2.5. Sıcaklığın Antimikrobiyal Aktivite Üzerine Etkisi

Seçilen izolatların sahip olduğu antimikrobiyal aktivite üzerine sıcaklığın etkisini belirlemek amacı ile Bölüm. 2.2.2.2. de anlatıldığı gibi hazırlanan filtratlar; 1) 50 °C' de 30 dakika, 2) 70 °C' de 30 dakika, 3) 80 °C' de 30 dakika, 4) 90 °C' de 30 dakika, 5) 100 °C' de 30 dakika, 6) 110 °C' de 30 dakika ısı ile muamele edilmiştir. Farklı sıcaklıklara tabi tutulan filtratların antimikrobiyal aktivite tespiti Bölüm 2.2.2.2. de anlatıldığı şekilde agar difüzyon yöntemi ile 6 test mikroorganizmasına karşı (Bölüm 2.2.2.3 de verilen mikroorganizmalar) yapılmıştır (Bhunja ve ark., 1988; Ryan ve ark., 1996; Choi ve ark., 1999; Zhu ve ark., 2000).

2.2.3. Laktik Asit Bakteri İzolatlarının Tanımlanması

Mikroorganizmaların identifikasyonunda 'Holt ve ark. (2000)' tarafından düzenlenmiş olan 'Bergey's Manual of Determinative Bacteriology' ve 'Balows ve ark. (1992)' tarafından düzenlenmiş olan 'The Prokaryotes' kullanılmıştır.

Et ve et ürünlerinden izole edilmiş olan ve yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu düşünülerek, seçilmiş olan izolatlar için identifikasyon testleri

yapılmıştır. Bu izolatlar için gram boyama ve katalaz aktivitesi başta olmak üzere farklı sıcaklıklarda gelişim, farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim, pH 3,9 da gelişim, hidrojen sülfür oluşturma gibi testler yapılmıştır. Ayrıca etkili bulunan izolatların API CHL50 (bioMerieux) kitleri ile yönetici talimatları doğrultusunda karbonhidrat fermantasyon testleri gerçekleştirilmiş ve seçilen izolatların Riboprinter Sistem ile tür tanımlamaları gerçekleştirilmiştir.

2.2.3.1. Gram Boyama

Temelde bakterilerin hücre çeperi geçirgenliği farkı kullanılarak; bakterilerin gram pozitif ve gram negatif şeklinde iki gruba ayrılmasını sağlayan Gram boyama dört farklı kimyasal reagent kullanımı ile gerçekleştirilmiştir.

Boyama işlemi için daha önce saflaştırma işlemleri tamamlanmış olan izolatlar MRS agar petriplerinde çizgi ekim yapılarak tekrar aktive edilmiş ve çalışma için 24–48 saatlik taze kültürler kullanılmıştır.

Gram reaksiyonunun gözlemlenebilmesi için; temiz bir lam üzerine bir damla distile su damlatılmış, katı besiyerinde geliştirilmiş olan kültürden öze yardımı ile alınan az miktardaki kültür bu su içerisinde emülsüye edilerek tüm lam yüzeyine yayılmıştır. Lam havada kurutulduktan sonra, üç kez bek alevinden geçirilmek suretiyle fiksasyon yapılmıştır. Fiksasyonu gerçekleştirilen preparat ilk olarak kristal violet ile boyanmış ve 1–1,30 dakika bekletilmiştir. Preparat yüzeyindeki fazla boya distile su yardımıyla giderildikten sonra lügol çözeltisi tüm lam yüzeyine yayılmış ve 1 dakika bekletilmiştir. Fazla boyanın yıkanmasından sonra preparat 10–15 saniyelik %95'lik etil alkol ile muamele edilmiş ve ardından distile su ile tekrar yıkanmıştır. Son olarak preparat 30 saniye süreyle, safranin ile boyanmıştır. Ardından fazla boya distile suyla yıkanarak preparat kurumaya bırakılmıştır. Hazırlanan preparat ışık mikroskopunda (Olympus, CHK, 3E 0357) immersiyon yağı kullanılarak 100' lük objektifte incelenmiş ve mevcut renge göre değerlendirme yapılmıştır. Boyama sonucunda mor renkli görülen bakteriler gram pozitif, pembe renkli olanlar ise gram negatif olarak değerlendirilmiştir (Tamer ve ark., 1989).

2.2.3.2. Katalaz Testi

Bakterilerde katalaz enziminin varlığını ya da yokluğunu gösteren bu test, katalaz enziminin ortamdaki hidrojen peroksidi su ve oksijene ayırması temeline dayanmaktadır. Test katı veya sıvı ortamda uygulanabilmekte ve birkaç dakika içerisinde sonuç vermektedir. İzolatların katalaz enzimine sahip olup olmadıklarını belirlemek için; kültürler agar petrilerinde geliştirilmiş ve 24–48 saatlik taze kültürler üzerine birkaç damla %3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) ilave edilerek gaz çıkışı olup olmadığı gözlemlenmiştir. *Staphylococcus aureus* test sırasında pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Sonuçta gaz çıkışının görüldüğü örnekler katalaz pozitif, diğerleri ise katalaz negatif olarak değerlendirilmiştir (Akçelik ve ark., 2000).

2.2.3.3. Farklı Sıcaklıklarda Gelişim

Mevcut izolatların sıcaklık toleranslarının belirlenmesi için 24–48 saatlik aktif kültürlerden MRS agar petrilere inokülasyon yapılmış ve her izolat, 2–7 gün süreyle 4°C, 15°C ve 45°C de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası petrilerde kültür gelişimi kontrol edilmiş ve farklı sıcaklıklarda gelişim derecelendirilerek değerlendirme yapılmıştır (Holt ve ark., 2000).

2.2.3.4. Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişim

Mevcut izolatların tuza karşı olan toleranslarının belirlenmesi için; sırası ile %6, %7,5 ve %10 oranında tuz içeren MRS agar ortamı hazırlanmış ve 24–48 saatlik aktif kültürlerden bu üç ortama inokülasyon yapılarak izolatlar 2–7 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İzolatların farklı tuz konsantrasyonlarındaki gelişimi derecelendirilerek sonuçlar değerlendirilmiştir (Holt ve ark., 2000).

2.2.3.5. pH; 3,9 da Gelişim

İzolatların yüksek asitliğe sahip ortamda gelişip gelişmediğini belirlemek için; 1M HCL ve 1M NaOH ile pH; 3,9'a ayarlanmış MRS broth besi ortamı daha önce tanımlandığı şekilde hazırlanmıştır. Mevcut izolatların 24–48 saatlik aktif kültürlerinden pH sı 3,9'a ayarlanmış MRS broth ortamına inoküle edilmiş ve izolatlar 2–5 gün süreyle optimum gelişme koşullarında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süreci sonunda bulanıklık görülen tüpler pozitif, bulanıklık görülmeyen tüpler ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Holt ve ark., 2000).

2.2.3.6. Hidrojen Sülfür Oluşumu

Bakterilerin sistin, sistein gibi kükürt içeren aminoasitlerden ya da sülfatlardan hidrojen sülfür (H₂S) oluşturup oluşturmadıklarının belirlendiği bu testte, tüplere yatık agar şeklinde hazırlanmış olan üç şekerli demir agar (TSI) ortamı kullanılmıştır. Test için, 24–48 saat süresince MRS agar ortamında geliştirilmiş taze kültürlerden öze ve transfer iğnesi yardımıyla TSI ortamına ekim yapılmıştır. Ekimler transfer iğnesi aracılığı ile dibe daldırma, tüpün orta noktasından geçecek bir çizgi şeklinde dibe kadar iğnenin sokulması ve öze yardımıyla yüzeye ekim şeklinde gerçekleştirilmiştir. Kültürler 48–96 saat optimum üreme koşullarında inkübasyona tabi tutulmuştur. Pozitif kontrol olarak *Salmonella typhimurium* kültürü kullanılmıştır. Hidrojen sülfür pozitif kültürlerde; bakteriler tarafından üretilen H₂S besi ortamında bulunan demir ile birleşerek siyah renk oluşturacağı için, dipte siyah renk oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. Bunu yanı sıra besi ortamının da renk değişimi şeker (sakaroz ve laktoz) kullanımını, besi ortamının dip kısmının zeminden yukarı doğru kalkmış olması da glikozdan gaz oluşumunu işaret etmektedir (Halkman, 2005).

2.2.3.7. Arjininden NH₃ Oluşumu

İzolatların Arjininden amonyak oluşturup oluşturmadıklarını belirlemek amacı ile kapaklı tüplere daha önce belirtildiği şekilde arjinin dihidrolaz broth hazırlanmış ve 24–48 saat süresince MRS broth ortamında geliştirilmiş taze kültürlerden tüplere inokülasyon yapılmıştır. Tüplerin ağızları sıkı bir şekilde kapatıldıktan sonra, kültürler optimum gelişme koşullarında 7–9 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Arjinin dihidrolaz broth ortamı içerisinde bulunan indikatör ortamda alkali madde bulunduğu zaman sarıdan kırmızımsıya doğru bir renk değişimi göstermektedir. Bu nedenle inkübasyon süreci sonunda kırmızı-pembe renkte olan tüpler pozitif, değişmeden sarı renkte kalan tüpler negatif olarak değerlendirilmiştir (Tamer ve ark., 1989; Papamanoli ve ark., 2003).

2.2.3.8. İzolatların API CHL50 Sistemi İle Tanımlanması

API CHL50 (bioMerieux) sistemi karbonhidrat fermantasyon testleri baz alınarak laktik asit bakterilerinin tür düzeyinde tanımlamasında kullanılan bir sistemdir. Test hazır olarak bulunan kitler aracılığıyla yönetici talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmekte ve organizmalar kullandıkları karbonhidrat kaynaklarına göre sınıflandırılmaktadır.

Tanımlaması yapılacak olan izolatlar MRS agar ortamında 24–48 saat süre ile tek koloni düşecek şekilde aktive edilmiştir. Katı besi ortamında geliştirilmiş olan kültürler steril kürdan yardımı ile, 2 ml. lik API süspansiyon ortamına aktarılmıştır. 2 ml. lik API süspansiyon ortamında maksimum yoğunluk elde edildikten sonra ortam sıvısından 5 ml. lik API süspansiyon ortamına aktarım yapılmış ve bu ortamda Biomerüx Mc. Farland 2 yoğunluğunu sağlayan sıvı miktarı tespit edilmiştir. Daha sonra 2 ml. lik API süspansiyon ortamından Biomerüx Mc. Farland 2 yoğunluğunu sağlayan sıvı miktarının 2 katı alınmış ve 10 ml. API 50CHL ortamına aktarılarak ortama homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır. Elde edilen süspansiyon, toplamda 49 çeşit olmak üzere her bir kuyucuğu farklı karbon kaynağı içeren kitlere aktarılmıştır (Çizelge 2.2.). Kuyucukların süspansiyon sıvı ile doldurulması işlemi gerçekleştirildikten sonra,

yüzeyleri mineral yağ ile kaplanmış ve kapakları kapatılan kitler 30°C' de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sürecinde 24 ve 48. saatler sonunda kuyucuklarda meydana gelen renk değişimleri baz alınarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Tanımlanmaya çalışılan izolat kuyucuklarda bulunan karbon kaynağını kullandığı zaman mevcut indikatör nedeni ile renk değişimi meydana gelmektedir. Başlangıçta koyu mavi renkte olan kuyucuklardan sarıya dönenler pozitif, değişmeden kalanlar negatif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif ve negatif olarak değerlendirilen sonuçlar yönetici firma tarafından optimize edilmiş olan veri tabanına girilerek tür tayinleri gerçekleştirilmiştir. Kullanılan karbon kaynakları Çizelge 2.2. de gösterilmiştir.

Çizelge 2.2. API CHL50 Sisteminde Kullanılan Karbon Kaynakları

0	Galaktoz	Laktoz	Gentiobiose	D-Arabitol
Gliserol	Glukoz	Melibioz	D-Turanoz	L-Arabitol
Eritritol	Fruktoz	Sukroz	D- Lyxose	Glukonat
D-Arabinoz	Mannoz	Trehaloz	D-Tagatoz	2-keto-glukonat
L-Arabinoz	Sorboz	İnulin	Eskulin	5-keto-glukonat
Riboz	Rhamnoz	Melezitose	α -metil-D-mannosid	Mannitol
D-Ksiloz	Dulsitol	Rafinoz	α -metil-D-glukozid	Sorbitol
L-Ksiloz	Salisin	Nişasta	N-asetil-glukozamin	D-Fukoz
Adonitol	Sellobioz	Glikojen	Amigidalin	L-Fukoz
İnositol	Maltoz	Ksilitol	Arbutin	b-metil-D-ksilosid

2.2.3.9. İzolatların Riboprinter Sistem İle Tanımlanması

Riboprinter sistemi 16 S rRNA'yı temel alarak mikroorganizmaların tür tayinlerini gerçekleştiren moleküler karakterizasyon sistemidir. Sistemin temelinde 16 S rRNA'nın EcoRI enzimi ile kesilmesi ve jelde koşturulması sonucunda oluşan bant büyüklüklerinin kullanılan marker ile kıyaslanarak sonuca varılması yatmaktadır. Tanımlama işlemleri kitler aracılığıyla, yönetici talimatları

doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Sistemde tek bir kit kullanımı ile bir seferde 8 farklı örneğin karakterizasyonu gerçekleştirilebilmektedir.

Riboprinter sistem ile tür tayin için ilk etapta izolatlar MRS agar ortamında tek koloni düşecek şekilde aktive edilmiştir. Katı ortamda geliştirilen aktif kültürlerden steril çubuk yardımı ile 2–3 koloni olacak şekilde steril şartlar altında alınmış ve içerisinde 40 µl tampon çözelti bulunan ependorf tüpüne aktarım yapılmıştır. Aktarım yapılan tüpler 5 saniye vorteks yardımı ile karıştırıldıktan sonra koloni alımı ve karıştırma işlemi bir kez daha tekrar edilmiştir. Vorteksleme işlemi tamamlandıktan sonra ependorflar içerisinde bulunan örnekler sistemin bir parçası olan ependorf setine, her tüpe bir örnek konmak kaydı ile 30 µl miktarında aktarılmıştır. Aktarım işlemi tamamlandıktan ve tüplerin kapakları kapatıldıktan sonra set 25 dakika süresince ısı ile muamele edilmiştir. 25 dakikanın sonunda ependorf seti cihazdan çıkarılarak her tüpün içersine 5 µl lysing A ve 5 µl lysing B ajanı eklenmiştir. Tüplerin kapakları kapatıldıktan sonra ependorf seti cihaz içerisinde uygun konumuna yerleştirilmiştir. Ardından çalışmada kullanılan enzim olan EcoRI' içeren yüp çıkartılmış ve üzerine 18 µl 'lactic agent' ilave edilmiştir. Enzim içeren tüp de cihaz içersine uygun konuma yerleştirildikten sonra sistemin çalışması için gerekli olan diğer parçalar (MP konjugat, MP prob ve MP substratdan oluşan MP ortamı; jel kaseti, jel membranı ve ultra saf su) yerleştirilmiş ve cihaz çalıştırılmıştır. Cihazın çalıştırılmasından yaklaşık 12 saat sonra oluşan bantlar ve belirlenen türler sistem içerisinde bulunan veri tabanı ile karşılaştırılarak bakteriler tanımlanmıştır.

2.2.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi

Et ve et ürünlerinden izole edilen ve antimikrobiyal özelliğe sahip olduğu düşünülen laktik asit bakterilerinin çeşitli antibiyotiklere karşı olan direnç ve duyarlılık durumlarını belirlemek için Kirby-Bauer Disk-Difüzyon Metodu kullanılmıştır. Çalışma esnasında kullanılan antibiyotiklerin seçiminde daha önce bu konuda yapılmış olan mevcut çalışmalar temel alınmıştır. Çalışma çift paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

Antibiyotik dirençlilik değerlendirmesi yapılacak olan izolatların MRS agar petrilinde geliştirilmiş olan 24–48 saatlik aktif kültürlerinden alınarak 1 ml fizyolojik tuzlu su içerisinde dilüsyonları hazırlanmıştır. 1ml fizyolojik tuzlu su ile Mc Farland No: 0,5 (10^8 kob/ml) bulanıklığına ayarlanmıştır. Hazırlanmış olan dilüsyonların her birinden 0,5 ml alınarak daha önceden hazırlanmış ve petrilere aktarılmış olan Müller Hinton agar ortamına, steril koşullar altında yayma plaka yöntemiyle ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petrilere, steril koşullarda, kapakları açık biçimde 5–10 dakika süreyle bekletilerek yüzeylerinin kuruması sağlanmıştır. Ardından ticari olarak satılan ve belirlenmiş olan antibiyotik diskleri petrilere steril koşullarda, aralarında en az 1,5 cm boşluk olacak şekilde yerleştirilmiştir (Her petride 5 farklı antibiyotik diski olacak şekilde). Disklerin yerleştirilmesi işleminden sonra petiler 10–15 dakika süreyle bekletilmiş ve sonrasında test organizmasının optimum gelişme koşullarında 24–48 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucu petrilere oluşan inhibisyon zon çapları ölçülmüş ve değerlendirme yapılmıştır (Anonim, 1997; Rollins ve Joseph, 2000; Halami ve ark., 2000).

2.2.5. İzolatların Stoklanması

Mevcut çalışmada et ve et ürünlerinden izole edilen tüm bakterilerin, daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere stokları hazırlanmıştır. Stok oluşturma işlemi iki farklı yolla gerçekleştirilmiştir.

İlk olarak, % 20'lik gliserol çözeltisi içinde örnekler stoklanmıştır. İzolasyon aşaması sonucunda elde edilen ve saf kültür haline getirilen tüm kültürler optimum üreme gösterdikleri katı besi ortamında geliştirilmiştir. Aynı zamanda % 20'lik gliserol çözeltisi hazırlanmış ve çözelti steril, kapaklı ependorf tüpleri içerisine aseptik koşullarda 1 ml olacak şekilde dağıtılmıştır. Saf kültür olduğu kesin olan örneklerin taze kültürleri steril şartlar altında ependorf tüpleri içerisine alınmış ve etiketleme işlemleri de tamamlandıktan sonra stoklar – 86 °C' de saklanmıştır. Laktik asit bakterileri stoklanarak saklama koşullarına karşı, pek çok bakteri grubuna nazaran hassas olduğu için stoklama işlemi sırasında bir petriden bir ependorf tüpüne aktarım yapılmış ve izolatlar üç paralel olarak stoklanmıştır.

Gliserol çözeltilisinde oluşturulan stokların yanı sıra; antimikrobiyal özelliğe sahip olduğu düşünülen ve çeşitli testleri yapılmış olan LAB izolatları liyofilize (dondurarak kurutma) kültür yöntemi ile stoklanmıştır. Liyofilizasyon işlemi için; örneklerin MRS agar petrilerinde 24–48 saat geliştirilerek taze kültürleri hazırlanmış ve bu petrilerden içerisinde % 15’lik süt tozu bulunan steril karyotüplere, steril koşullarda aktarım yapılmıştır. Aktarım işlemi yapıldıktan sonra karyotüplerin kapakları gevşek bir biçimde kapatılmış ve örnekler 24 saat süreyle – 86 °C’ de derin dondurucuda bekletilmiştir. Bu sürecin sonunda örnekler liyofilizatöre yerleştirilmiştir. Liyofilizatör örnekler yerleştirilmeden yarım saat önce açılmış, içersi alkol ile silinmiş ve cihaz – 55 °C’ye kadar soğutulmuştur. Derin dondurucudan çıkarılan örnekler mümkün olan en kısa süre içerisinde cihaz içerisine yerleştirilmiştir. Örneklerin yerleştirilmesi işleminden sonra cihaz çalıştırılmış, vakum pompası açılmıştır. Cihazın doğru çalışması için vakumun 0,1’in altına düşmesi gerekmektedir; bu nedenle cihaz çalıştırıldıktan sonra vakum 0,080’in altına düşene kadar gözlemlenmiştir. Yeterli vakumda sağlandıktan sonra örnekler 24–48 saat süreyle liyofilizasyona bırakılmıştır. Liyofilizasyon işlemi tamamlandıktan sonra cihazdan çıkarılan örnekler hemen steril kabin içerisine alınmış, karyotüplerin kapakları sıkıca kapatılmış ve örnekler 4 °C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir (Akçelik ve ark., 2000).

2.2.6. Metabolik Ürünlerin Belirlenmesi

Et ve et ürünlerinden izole edilerek, sahip oldukları antimikrobiyal aktiviteden dolayı identifikasyon testlerine tabi tutulmuş ve laktik asit bakterisi olduğu doğrulanmış olan izolatların metabolik ürünlerinden laktik asit, proteolitik aktivite ve hidrojen peroksit üretimi tayinleri yapılmıştır.

Çalışma esnasında her örnek için 4 okuma yapılmış ve bulunan OD değerlerinin standart sapması aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X_i - \bar{X})^2}{N - 1}}$$

2.2.6.1. Laktik Asit Üretimini Tayini

Laktik asit üretimi tayin edilecek olan izolatlar 5 ml MRS besi ortamında geliştirilmiş ve bu aktif kültürden tüplere hazırlanmış olan 5 ml MRS besi ortamına %1 oranında inokülasyon yapılmıştır. Kültürler 48 saat boyunca optimum gelişme koşullarında inkübasyona tabi tutulmuş ve laktik asit miktar tayininde bu kültürler kullanılmıştır. Çalışma çift paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

İnkübasyondan sonra kültürlerin üzerine sırası ile önce 2ml A çözeltisi, sonra 2 ml B çözeltisi, son olarak da 2 ml C çözeltisi ilave edilmiştir. Her çözelti ilavesi sonrası örnekler vorteks (manyetik karıştırıcı) yardımı ile iyice karıştırılmıştır. Daha sonra iyice karıştırılan örnekler Whatman 42 nolu filtre kâğıdından süzülmüştür. Elde edilen süzüntüden 1,5 ml alınıp ayrı bir erlen içerisine aktarılmış ve distile su ile 100 ml' ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti iyice karıştırıldıktan sonra bu çözeltiden 10 ml alınarak ayrı bir tüp içerisine alınmıştır ve alınan çözelti üzerine 1 ml renk ayırıcı eklenmiştir. Ayıraç ilavesinden sonra örnekler tekrar vorteks yardımıyla karıştırılmış ve 5 dakika süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu sürecin sonunda berrak sarı renk alan örnekler spektrofotometre (Shimadzu, UV-2101PC) yardımıyla 400 nm dalga boyunda okunmuştur. Elde edilen optik yoğunluk (OD) değerleri, daha önceden hazırlanan, standart eğriye göre, $\mu\text{g} / \text{ml}$ cinsinde laktik asit miktarına (LAM) çevrilmiştir (Mumcu, 1997).

Standart eğrinin hazırlanması için laktik asit solüsyonu kullanılmıştır. Saf laktik asit solüsyonundan; 5 ml. lik MRS broth ortamı içeren tüplere sırası ile 1, 3, 8, 10, 12, 16 mg / ml olacak şekilde ayrı ayrı laktik asit ilavesi yapılmış ve laktik asit miktarı gittikçe artan bir solüsyon serisi elde edilmiştir. Elde edilen serideki her tüp birer izolat gibi düşünülüp, izolatlar için uygulanan işlemler bire bir standart çözeltilere de uygulanmış ve yine 400 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümler gerçekleştirilmiştir. Daha sonra elde edilen OD değerleri ve bu değerleri sağlayan laktik asit konsantrasyonları grafik üzerinde yerleştirilerek standart eğri oluşturulmuştur (Mumcu, 1997).

2.2.6.2. Proteolitik Aktivitenin Tayini

Proteolitik aktivite tayininde, oluşan aminoasitlere eş değer tirosin aminoasidi temel alınmıştır. Proteolitik aktiviteleri belirlenecek olan izolatlar 5 ml MRS broth ortamında geliştirilmiş ve bu aktif kültürden tüplere hazırlanmış olan 5 ml MRS broth ortamına %1 oranında inokülasyon yapılmıştır. Kültürler 48 saat boyunca optimum gelişme koşullarında inkübasyona tabi tutulmuş ve proteolitik aktivite tayininde bu kültürler kullanılmıştır. Çalışma çift paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

48 saat süreyle geliştirilmiş kültürler üzerine önce 1 ml distile su, sonrada 10 ml 0,72 N trikloro asetik asit (TCA) ilave edilmiş ve örnekler iyice çalkalanmıştır. Karıştırılan örnekler oda sıcaklığında 10 dakika süreyle bekletilmiş ve bu süreç sonunda örnekler Whatman 1 nolu filtre kâğıdından geçirilerek süzölmüşlerdir. Elde edilen süzöntüden 2,5 ml ayrı bir tüp içersine alınmış ve üzerine 5 ml $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ çözeltisinden koyulup karıştırılmıştır. Daha sonra örneklerin üzerine 1,5 ml Fenol ayırıcı eklenmiş ve örnekler koyu mavi renk oluşuncaya kadar karıştırılmıştır. Renk oluşumu gerçekleştikten sonra örnekler 8000 rpm' de 15 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üstte oluşan berrak mavi sıvı alınarak 650 nm dalga boyunda spektrofotometre de (Shimadzu, UV-2101PC) optik yoğunlukları belirlenmiştir. Elde edilen değerler daha önceden, proteolitik aktivite için çıkarılan standart eğriye göre, $\mu\text{g} / \text{ml}$ cinsinden değerlendirilmiştir (Aslım, 1994).

Proteolitik aktivite tayininde standart eğri oluşturmak için tirosin aminoasidi kullanılmıştır. 5 ml. lik MRS broth ortamı içeren tüplere sırasıyla 0,02, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 ve 1 mg tirosin /ml olacak şekilde tirosin ilavesi yapılarak standart çözelti serisi elde edilmiştir. Elde edilen serideki her tüp birer izolat gibi düşünülüp, izolatlar için uygulanan işlemler bire bir standart çözeltilere de uygulanmış ve yine 650 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümler gerçekleştirilmiştir. Daha sonra elde edilen OD değerleri ve bu değerleri sağlayan tirosin konsantrasyonları grafik üzerinde yerleştirilerek standart eğri oluşturulmuştur (Aslım, 1994).

2.2.6.3. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Üretiminin Tayini

Hidrojen peroksit üretimi tayin edilecek olan izolatlar 5 ml MRS broth ortamında geliştirilmiş ve bu aktif kültürden tüplere hazırlanmış olan 5 ml MRS broth ortamına %2 oranında inokülasyon yapılmıştır. Kültürler 48 saat boyunca optimum gelişme koşullarında inkübasyona tabi tutulmuş ve hidrojen peroksit miktar tayininde bu kültürler üzerinde yapılmıştır. Çalışma çift paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

İnkübasyon süresi sonunda kültürlerin üzerlerine 5 ml distile su eklenmiş ve kültürler 5000 rpm de 15 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üstte oluşan berrak sıvı alınmış ve Whatman 42 nolu filtre kâğıdından süzülmüştür. Süzme işleminden sonra elde edilen filtratın 4 ml' si ayrı bir tüpe alınmıştır. Alınan bu filtratın üzerine sırası ile 0,5 ml sülfürik asit, 0,5 ml amonyum molibden ve 0,5 ml potasyum iyodür çözeltisi ilave edilmiş, her kimyasal ilavesinden sonra örnekler manyetik karıştırıcı yardımı ile iyice karıştırılmıştır. Tüm bu işlemler gerçekleştirildikten sonra elde edilen sıvının 350 nm dalga boyunda spektrofotometre de (Shimadzu, UV-2101PC) optik yoğunlukları belirlenmiştir. Elde edilen optik yoğunluk (OD) değerleri; daha önceden hazırlanan, standart eğriye göre µg / ml cinsinde hesaplanmıştır (Mumcu, 1997).

Hidrojen peroksit tayininde kullanılan standart eğrinin oluşturulabilmesi için; 0,1 ml saf (% 35) hidrojen peroksit alınıp distile su ilavesi ile 30 ml' ye tamamlanmıştır. Daha sonra bu çözülden 1 ml başka bir erlene alınmış ve tekrar distile su ile 30 ml' ye tamamlanarak standart çözelti hazırlanmıştır. Elde edilen çözelti bir izolat gibi düşünülüp, izolatlar için uygulanan işlemler bire bir standart çözültiye de uygulanmış bu sayede hidrojen peroksit standart eğrisi çıkarılmıştır. Standart eğriden 1 µg / ml hidrojen peroksite karşılık gelen hidrojen peroksit değeri hesaplanmış ve bu sayede izolatların okunan değerleri standart ile kıyaslanarak µg / ml cinsine çevrilmiştir (Mumcu, 1997).

2.2.7. Ekstraselüler Polisakkarit (EPS) Üretimi

Laktik asit bakterilerinin EPS üretim yetenekleri, ortamda var olan şeker kaynağına göre değişiklik gösterebilmektedir. Mevcut izolatların ekstraselüler polisakkarit üretim yeteneklerinin belirlenmesi için dört çeşit MRS agar besi ortamı hazırlanmıştır. MRS agar ortamları arasındaki farklılıklar içerdikleri şeker çeşidinden kaynaklanmaktadır. Çalışma için kullanılan şekerler; laktoz, fruktoz, glikoz ve sakkaroz olmak üzere dört çeşittir.

24–48 saat süre ile MRS agar ortamında aktifleştirilmiş taze kütlülerden farklı şeker kaynakları içeren MRS agar ortamlarına inokülasyon yapılmış ve kültürler optimum gelişme koşullarında 24–48 saat süre ile inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon süresi sonunda gelişen kültürlerin morfolojik görünümleri incelenmiş, mat veya şeffaf renkte ve akışkan kıvamda (viskoz özellik gösteren kültürler) bulunan izolatlar EPS üretme ihtimali olan koloniler olarak belirlenmiştir.

Daha sonra EPS üretim yeteneği var olduğu düşünülen her izolat için ayrı ayrı olmak üzere, uygun gelişim gösterdikleri şeker kaynağını içeren MRS broth ortamı hazırlanmıştır. İzolatlar MRS broth ortamında 24–48 saat süreyle optimum gelişme koşullarında aktifleştirildikten sonra, aktif kültürlerden %1 oranında alınarak farklı şeker kaynaklarına sahip olan MRS broth ortamına inokülasyon yapılmış ve kültürler 18 °C de 48–72 saat süre ile inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sürecinde 48. ve 72. saat sonrası kültürlerin viskozitesi, düşük ölçekli viskozitemetre (Thermo HAAKE Viscotester 6 plus, typ 387–0100) yardımı ile ölçülmüştür. Ölçümler her izolat için 200 rpm, 100 rpm ve 60 rpm de gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçların değerlendirilebilmesi için standart olarak, kültür içermeyen MRS broth kullanılmış ve ölçümler aynı şekilde gerçekleştirilmiştir. Viskozite ölçümlerindeki hassasiyet dolayısıyla çalışmada kültürlerin geliştirilmesi ve standart olarak kullanılacak olan MRS broth ortamı identik özellik göstermesi amacıyla tek seferde hazırlanmış ve sonrasında 100 ml olacak şekilde erlenlere dağıtılmıştır. Ölçümler esnasında ilk etapta standart olarak kullanılacak olan ve izolatın geliştirildiği şeker kaynağını içeren steril MRS brothun, daha sonra kültürün viskozitesi ölçülmüştür. Değerlendirme için

kültürlerin ölçülen değerleri standart ve diğer kültürlerin ölçüm sonuçları ile kıyaslanmıştır (Bouzar ve ark., 1996; Tallon ve ark., 2003).

3. BULGULAR

3.1. Et ve Et Ürünlerinden Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu

Eskişehir’de marketlerden temin edilmiş, 8 pastırma, 4 sucuk ve 1 kıyma örneğinden. laktik asit bakteri izolasyonu gerçekleştirilmiştir. MRS agar üzerinde küçük, mat, krem rengi ya da beyaz renkteki laktik asit bakterisi olası olan koloniler rasgele seçilerek saflaştırma yapılmıştır. Gram boyama ve katalaz aktivitesi sonucuna bakılarak, laktik asit bakterisi olma ihtimali yüksek bulunan izolatlar ileriki çalışmalarda kullanılmak üzere stoklanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda toplamda 163 adet laktik asit bakterisi izole edilmiştir. Elde edilen izolatlardan 95 tanesi pastırma örneklerine, 58 tanesi sucuk örneklerine ve 10 tanesi kıyma örneğine aittir (Çizelge 3.1.).

Çizelge 3.1. Elde Edilen İzolatların Kaynakları ve Sayıları

İzolat kaynağı	Temin edildiği yer	Gelişim Koşullarına Göre İzolat Sayısı			
		İzolat sayısı	30 °C Aerob	30 °C Anaerob	42 °C Aerob
Pastırma 1	Piyasa	21	7	9	5
Pastırma 2	Piyasa	21	11	9	1
Pastırma 3	Piyasa	14	7	3	4
Pastırma 4	Piyasa	7	2	0	5
Pastırma 5	Piyasa	8	4	4	0
Pastırma 6	Piyasa	10	5	5	0
Pastırma 7	Piyasa	12	7	5	0
Pastırma 8	Piyasa	2	2	0	0
Sucuk 1	Piyasa	11	2	9	0
Sucuk 2	Piyasa	19	11	8	0
Sucuk 3	Piyasa	12	6	0	5
Sucuk 4	Piyasa	16	3	7	6
Kıyma	Piyasa	10	5	5	0

3.2. Et ve Et Ürünlerinde Aerobik Mezofilik Mikroorganizma ve Maya-Küf Sayımı

Çizelge 3.2 de kullanılan tüm et örnekleri için elde edilen sonuçlar gösterilmiştir. Pastırma örneklerinde aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı $1,22 \times 10^2$ ile $2,15 \times 10^3$ kob/g arasına, maya küf sayısı ise $3,4 \times 10^1$ ile $1,5 \times 10^3$ kob/g arasında değişmiştir. Sucuk örneklerinde de aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı 68–90 kob/g arasında, maya küf sayısı ise $1,0 \times 10^2$ ile $9,8 \times 10^2$ kob/g arasında saptanmıştır.

Çizelge 3.2. Et ve Et Ürünlerinde Bulunan Aerobik Mezofilik Mikroorganizma Sayıları

Et örnekleri	Aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı Kob/g	Maya-küf sayısı Kob/g
Pastırma 1	$1,22 \times 10^2$	$3,4 \times 10^1$
Pastırma 2	$1,73 \times 10^2$	$1,37 \times 10^3$
Pastırma 3	$2,0 \times 10^2$	$9,3 \times 10^1$
Pastırma 4	$9,59 \times 10^2$	$3,11 \times 10^2$
Pastırma 5	$6,54 \times 10^2$	$7,5 \times 10^2$
Pastırma 6	$4,52 \times 10^2$	$1,5 \times 10^3$
Pastırma 7	$2,15 \times 10^3$	$7,0 \times 10^1$
Pastırma 8	$7,52 \times 10^2$	$1,29 \times 10^2$
Sucuk 1	$9,0 \times 10^1$	$9,8 \times 10^2$
Sucuk 2	$8,2 \times 10^1$	$1,0 \times 10^2$
Sucuk 3	$9,5 \times 10^1$	$1,1 \times 10^2$
Sucuk 4	$6,8 \times 10^1$	$8,7 \times 10^2$
Kıyma	$8,61 \times 10^2$	$8,7 \times 10^2$

3.3. Et ve Et Ürünlerinde *Bacillus cereus* Aranması

Et ve et ürünlerinde *Bacillus cereus* aranması çalışmasında *Bacillus cereus* agar ortamı (B2176, Sigma) için tipik özellik gösteren yeşil ve hafif hareli (yanardöner) koloniler aranmış ancak kullanılan et örneklerinin hiçbirinde *Bacillus cereus*' a rastlanmamıştır.

3.4. Antimikrobiyal Aktivite ve Bakteriyosin Benzeri Madde Aktivitesinin Tespiti Sonuçları

Et ve et ürünlerinden izole edilen 163 laktik asit bakteri izolatının tamamı antimikrobiyal aktivite tespiti için ilk etapta sandvic overlay yöntemi ile test edilmiş ve sonuçta izolatların tamamı; Çizelge 2.1.' de verilen test mikroorganizmalarının tümüne karşı etkili bulunmuştur.

Daha sonra bu izolatların tamamı agar difüzyon yöntemi ile verilen 18 test bakterisine karşı test edilmiştir. Agar difüzyon yöntemi ile test edilen izolatların bir veya daha fazla sayıda test bakterisine karşı etkili olduğu saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.3.' de gösterilmiştir.

Çalışma sonucunda test edilen izolatlardan 29 tanesine (2.P1.2, 3.P1.3, 7.P1.7, 22.P1.22, 31.P2.8, 36.P2.13, 40.P2.17, 55.P3.10, 56.P3.11, 61.P3.16, 62.P3.17, 84.P4.15, 225.S1.10, 236.S2.2B, 239.S2.4B, 241.S2.6, 243.S2.8, 245.S2.10A, 246.S2.10B, 247.S2.8, 263.S3.11, 271.S3.4, 279.S3.13, 283.S4.3, 285.S4.5, 287.S4.7, 289.S4.9, 291.S4.11 ve 292.S4.12) ait saf filtratlar kullanılan test bakterilerinin hiç birine karşı etkili olmazken 33.P2.10, 34.P2.11, 39.P2.16 ve 41.P2.18 gibi toplamda 45 izolata ait saf filtratlar oldukça düşük antimikrobiyal aktivite göstermiş ve test bakterilerinden yalnızca bir ya da birkaç tanesine karşı etkili olduğu bulunmuştur.

Çalışma sırasında test edilen izolatlardan 80 tanesinin gösterdiği antimikrobiyal aktivite oldukça yüksek olmakla birlikte, bu izolatların gelişimini etkileyebildikleri test organizmaları izolata göre değişiklik göstermiştir.

Elde edilen sonuçlara genel olarak bakıldığı zaman izolatların büyük bir kısmının kullanılan test mikroorganizmalarından *Proteus vulgaris*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı düşük antimikrobiyal aktivite sergilediği gözlenmiştir. Bunun yanı sıra laktik asit bakterilerine ait saf filtratların *L. buchneri*, *L. plantarum*, *S. lactis*, *L. paramesenteroides* ve *L. bulgaricus* üzerinde etkili olmadığı, sadece 144.P5.1 numaralı izolatın *S. lactis*, 145.P5.2 numaralı izolatın *L. bulgaricus*, 146.P5.3 numaralı izolatın *L. bulgaricus* ve *L. buchneri*, 147.P5.4 ve 148.P6.1 numaralı izolatların *S.lactis*, 149.P6.2 numaralı izolatın *S. lactis* ve *L. bulgaricus*, 151.P6.4 numaralı izolatın *S. lactis*, *L.*

bulgaricus ve *L. buchneri*, 152.P6.5 numaralı izolatın *S. lactis* ve *L. bulgaricus*, 154.P7.2 numaralı izolatın *L. bulgaricus*, 160.P5.5 numaralı izolatın *S. lactis* ve *L. buchneri* üzerine konsantrasyonu azaltıcı bir etkisi olduğu saptanmıştır.

Çizelge 3.4. de gösterildiği gibi agar difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivitesi incelenen 163 izolatın tamamı elde edilen filtratlara katalaz ilavesi yapılarak aynı yöntem ile tekrar antimikrobiyal aktivite tayinine tabi tutulmuştur.

Yapılan çalışmada yüksek antimikrobiyal aktivite sergileyen 8.P1.8, 28.P2.5, 151.P6.4, ve 164.P6.6, 277.S3.11 gibi izolatlardan bir kısmının katalaz ilavesinden sonra test bakterilerine karşı etkinliğini sürdürdüğü gözlenirken, bazı izolatların yüksek derecede etkisini kaybettiği görülmüştür. Örneğin 6.P1.6 izolatına ait saf filtrat *E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*'e etkili iken katalaz ilavesinden sonra etkisiz olarak bulunmuştur. 23.P1.23 izolatına ait saf filtrat *B.cereus*, *S. typhimurium*, *E. feacalis* ve *Y. enterocolitica* üzerinde etkili iken katalaz ilavesinden sonra etkisini kaybetmiştir. 38.P2.15 izolatına ait saf filtrat *B. cereus*, *K. pneumoniae*, *S. typhimurium*, *Y. enterocolitica* ve *L. monocytogenes*'e etkili iken katalaz ilavesinden sonra etkisiz olarak bulunmuştur. 153.P7.1 izolatına ait saf filtrat *K. pneumoniae*, *Y. enterocolitica*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *L. monocytogenes PNEQCILI* üzerinde etkili iken katalaz ilavesinden sonra etkisini kaybetmiştir. 173.P7.10 izolatına ait saf filtrat *S. typhimurium*, *Y. enterocolitica*, *L. monocytogenes*, *L. monocytogenes serovar I* ve *L. monocytogenes PNEQCILI* üzerinde etkili iken katalaz ilavesinden sonra etkisiz olarak bulunmuştur.

Yapılan çalışmanın sonuçları değerlendirildiği zaman 35 izolata ait filtratların antimikrobiyal aktivitelerinin hidrojen peroksit ile ilgili olduğu belirlenmiştir. Bu izolatlar; 6.P1.6, 17.P1.17, 21.P1.21, 23.P1.23, 26.P2.3, 30.P2.7, 35.P2.12, 38.P2.5, 42.P2.19, 43.P2.20, 45.P2.22, 46.P3.1, 50.P3.5, 54.P3.9, 74.P4.5, 85.P4.16, 153.P7.1, 155.P7.2, 158.P7.5, 170.P7.7, 173.P7.10, 174.P7.11, 211.K1.3, 213.K1.9, 214.K1.2, 215.K1.5, 216.K16, 219.P8.6, 226.S1.11, 237.S2.3, 276.S3.10, 280.S3.8, 295.S4.15, 296.S4.16 ve 297.S4.17 dir.

Saf filtrat ve katalaz ilaveli filtratlarla yapılan çalışmaların sonucunda, (test mikroorganizmalarından özellikle *L. monocytogenes*, *L. monocytogenes serovar I* ve *L. monocytogenes PNE QCILI* baz alınarak) yüksek antimikrobiyal aktivite

sergileyen ve katalaz ilavesi ile birlikte etkisini kaybetmeyen izolatlardan 52 tanesi seçilmiş ve seçilen izolatlardan elde edilen filtratlara proteinaz K ilave edildikten sonra agar difüzyon yöntemi ile 18 test mikroorganizmasına karşı antimikrobiyal aktivite tayini testi tekrar edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.5’de gösterilmiştir.

Proteinaz K ilavesi ile yapılan çalışmanın sonuçları değerlendirildiği zaman 5.P1.5, 8.P1.8, 9.P1.9, 10.P1.10, 12.P1.12, 48.P3.3, 51.P3.6, 97.P4.28, 146.P5.3, izolatlarında görülen antimikrobiyal aktivitenin tamamen kaybolduğu, dolayısıyla aktivitenin protein özelliğinde olabileceği görülmüştür.

Diğer izolatlarda değişen derecelerde etkinin görülmesi ise antimikrobiyal aktivite gösteren maddenin proteinaz K dan etkilenmemekte olduğunu göstermiştir. Özellikle 28.P2.5, 98.P4.29, 144.P5.1, 149.P6.2, 150.P6.3, 171.P7.8, 172.P7.9, 220.K1.9, 277.S3.11, 294.S4.14 ve 299.S4.19 izolatlarına ait filtratlar proteinaz K ilavesi ile birlikte antimikrobiyal aktivitelerini yüksek oranda korumuşlardır.

Daha sonra seçilmiş olan 52 izolata ait saf filtratlara bölüm 2.2.2.3’ de belirtilen koşullarda tripsin ilavesi, alfa kimotripsin ilavesi, alfa amilaz ilavesi, lizozim ilavesi, EDTA ilavesi, filtratların 60 °C’ de 30 dakika ve 121 °C’ de 20 dakika bekletilmesi işlemleri uygulanarak agar difüzyon yöntemi ile *L. monocytogenes*, *L. monocytogenes serovar 1*, *L. monocytogenes PNE QCILI*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* test bakterilerine karşı, antimikrobiyal aktivite testleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 3.6.’ da gösterilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda filtratların çeşitli enzimlere karşı olan duyarlılıklarının ve antimikrobiyal etki spektrumlarının üretici organizmaya göre farklılık gösterdiği görülmüştür.

Enzimler ile muamele edilerek denenmiş izolatların sonuçları değerlendirildikten sonra 10 izolat seçilmiş ve izolatların pH sı ayrı ayrı pH: 1, 3, 5, 7, 9, 11 ve 13 e ayarlanarak 24 saat süre ile 37 °C ’de bekletilmiş daha sonra pH tekrar 5–6 arasında değiştirilmiş ve enzimlerle muamele denemelerinde kullanılan 6 test bakterisine karşı agar difüzyon yöntemi ile denemiştir. İzolatların kendi pH değerleri 3 ile 5 arasında bulunduğundan pH:5’de değişiklik yapılmamış ve filtrat doğal hali ile kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar çizelge 3.7.’ de

gösterilmiştir. Ayrıca seçilmiş olan 10 izolat sırası ile 50, 70, 80, 90, 100 ve 110 °C' de yarım saat ısıya tabi tutulmuş ve sonrasında 6 test bakterisine karşı agar difüzyon yöntemi ile test edilmiştir. Elde edilen sonuçlar çizelge 3.8.'de gösterilmiştir.

İzolatların tabi tutuldukları antimikrobiyal aktivite testi sonuçları sırası ile; Çizelge 3.3., Şekil 3.1., Şekil 3.2., Çizelge 3.4., Şekil 3.3., Şekil 3.4., Çizelge 3.5., Şekil 3.5., Şekil 3.6., Çizelge 3.6., Çizelge 3.7., Çizelge 3.8., Şekil 3.7. ve Şekil 3.8. de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. LAB İzolatlarına Ait Saf Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

İzolat Numaraları	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i> serovar 1	<i>Listeria monocytogenes</i> PNE QCILI	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>
2.P1.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.P1.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.P1.4	12	14	12	14	10	12	14	14	12	12	-	-	-	-	-	-	-	-
5.P1.5	15	16	14	14	12	14	15	16	15	15	11	13	12	-	-	-	-	-
6.P1.6	-	-	10	10	-	-	-	-	12	10	-	-	-	-	-	-	-	-
7.P1.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8.P1.8	12	15	13	12	10	12	12	14	11	15	13	12	13	-	-	-	-	-
9.P1.9	10	15	12	12	11	10	11	14	14	13	12	15	13	-	-	-	-	-
10.P1.10	-	14	12	10	-	10	10	12	12	14	12	15	13	-	-	-	-	-
11.P1.11	10	13	11	11	10	10	11	12	11	14	13	18 A	12	-	-	-	-	-
12.P1.12	10	15	12	12	11	12	12	13	13	12	11	17 A	14	-	-	-	-	-
13.P1.13	12	16	12	15	14	14	14	15	14	15	15 A	17 A	12	-	-	-	-	-
14.P1.14	15	18	14	16	12	15	15	15	15	14	14 A	18 A	14	-	-	-	-	-
15.P1.15	-	14	12	12	10	12	-	12	14	12	-	-	-	-	-	-	-	-
16.P1.16	10	14	13	12	11	12	12	12	13	12	13	18 A	12	-	-	-	-	-

Çizelge 3.3. (Devam) LAB İzolatlarına Ait Saf Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

İzolat Numaraları	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i> serovar 1	<i>Listeria monocytogenes</i> PNE QCILI	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>
17.P1.17	-	12	12	10	10	-	-	-	13	10	-	-	-	-	-	-	-	-
18.P1.18	10	13	12	11	10	10	12	-	12	12	-	-	-	-	-	-	-	-
19.P1.19	-	12	12	11	12	-	12	12	10	12	14	20 A	13	-	-	-	-	-
21.P1.21	-	12	14	12	14	11	11	10	10	11	-	-	-	-	-	-	-	-
22.P1.22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23.P1.23	-	10	-	-	-	11	11	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24.P2.1	10	12	12	12A	10	14	12	14	16	12	12	11	14 A	-	-	-	-	-
25.P2.2	-	12	12	12A	12	12	10	13	12	14	14 A	17 A	12	-	-	-	-	-
26.P2.3	-	12	-	12A	-	12	12	12	10	12	-	-	-	-	-	-	-	-
27.P2.4	-	11	11	10A	10	-	-	11	11	11	15 A	17 A	13	-	-	-	-	-
28.P2.5	-	14	12	12	10	11	10	10	12	11	11	16 A	13	-	-	-	-	-
29.P2.6	-	14	11	12	12	12	10	12	12	12	12 A	12 A	13	-	-	-	-	-
30.P2.7	-	13	12	12A	12	12	-	12	12	13	-	-	-	-	-	-	-	-
31.P2.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32.P2.9	-	12	11	10	10	-	-	11	11	12	11	12	15	-	-	-	-	-

Çizelge 3.3. (Devam) LAB İzolatlarına Ait Saf Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

İzolat Numaraları	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i> serovar 1	<i>Listeria monocytogenes</i> PNE QÇILI	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>
33.P2.10	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34.P2.11	-	10	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-
35.P2.12	-	16	13	-	12	10	12	10	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36.P2.13	-	-	-	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37.P2.14	-	12	13	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38.P2.15	-	13	13	-	12	10	-	12	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-
39.P2.16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-
40.P2.17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41.P2.18	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42.P2.19	-	11	15	-	12	15	-	-	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-
43.P2.20	-	12	13	-	12	14	-	-	-	19	-	-	-	-	-	-	-	-
45.P2.22	-	10	14	-	10	10	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-
46.P3.1	-	10	15	-	-	-	-	-	-	14	-	-	-	-	-	-	-	-
47.P3.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-
48.P3.3	-	15	20	-	14	14	12	12	15	22	12	20 A	12	-	-	-	-	-

Çizelge 3.3. (Devam) LAB İzolatlarına Ait Saf Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

İzolat Numaraları	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i> serovar 1	<i>Listeria monocytogenes</i> PNE QCIL1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>
97.P4.28	15	14	18	-	19	15	14	14	16	14	12	15	12	-	-	-	-	-
98.P4.29	20	16	20	-	21	20	20	16	20	20	16	18	15 A	-	-	-	-	-
99.P4.30	15	15	14	-	16	16	16	12	16	14	-	16	13	-	-	-	-	-
144.P5.1	12	12	15	16	17	18	13	14	18	16	10	-	12 A	-	A	-	-	-
145.P5.2	12	16	16	18	19	11	16	14	15	14	11	12	12	-	-	-	A	-
146.P5.3	18	14	17	-	15	15	17	15	16	14	12	14	15	-	-	-	A	A
147.P5.4	15	12	16	-	16	17	16	12	15	13	10	12	12	-	A	-	-	-
148.P6.1	14	15	13	16	18	20	13	12	15	13	12	12	11	-	A	-	-	-
149.P6.2	15	16	15	14	19	17	15	14	14	15	11	15	13	-	A	-	A	-
150.P6.3	12	16	12	12	14	14	15	14	13	13	-	12	14	-	-	-	-	-
151.P6.4	17	10	12	13	20	16	12	13	17	15	12	14	12	-	A	-	A	A
152.P6.5	18	13	18	13	18	17	15	17	20	20	12	18	13	-	A	-	A	-
153.P7.1	11	11	-	-	12	-	10	14	15	13	-	10	12	-	-	-	-	-
154.P7.2	17	17	17	12	20	16	18	15	20	16	10	15	14	-	-	-	A	-
155.P7.2	10	11	12	-	13	-	08	12	15	12	-	11	12	-	-	-	-	-

Çizelge 3.3. (Devam) LAB İzolatlarına Ait Saf Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

İzolat Numaraları	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i> serovar 1	<i>Listeria monocytogenes</i> PNE QCILI	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>
156.P7.3	16	14	14	-	14	16	16	15	14	17	11	15	12	-	-	-	-	-
157.P7.4	16	15	16	-	16	17	17	16	16	16	12	16	10	-	-	-	-	-
158.P7.5	10	11	14	-	12	11	10	15	10	11	-	-	10	-	-	-	-	-
159.P7.6	15	14	15	-	16	15	15	16	16	18	-	13	13 A	-	-	-	-	-
160.P5.5	18	17	14	18	17	15	15	15	14	15	10	14	15 A	-	A	-	-	A
161.P5.6	16	16	16	14	16	17	14	14	16	16	-	13	14	-	-	-	-	-
163.P5.7	15	14	14	-	15	17	15	14	14	15	-	16	11	-	-	-	-	-
163.P5.8	16	15	13	-	15	15	16	16	18	17	12	17	13 A	-	-	-	-	-
164.P6.6	13	15	15	-	17	14	13	15	16	16	-	16	16	-	-	-	-	-
166.P6.8	15	14	15	13	15	16	15	15	16	16	-	12	15 A	-	-	-	-	-
167.P6.9	12	14	16	16	16	15	12	16	14	15	-	13	12	-	-	-	-	-
168.P6.10	13	15	16	18	15	15	14	16	16	15	10	14	15	-	-	-	-	-
169.P6.11	16	16	14	17	18	12	15	15	15	13	14	13	15 A	-	-	-	-	-
170.P7.7	-	-	12	-	-	10	10	10	12	-	-	10A	13	-	-	-	-	-
171.P7.8	12	13A	14	12A	-	13	12	14	12	14	15	14A	15	-	-	-	-	-

Çizelge 3.3. (Devam) LAB İzolatlarına Ait Saf Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

İzolat Numaraları	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i> serovar 1	<i>Listeria monocytogenes</i> PNE QCILI	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>
172.P7.9	-	13A	12	12A	-	14	13	13	14	12	14	14A	13	-	-	-	-	-
173.P7.10	-	-	12	-	-	10	10	12	-	10	12	12A	12	-	-	-	-	-
174.P7.11	12	-	13	10A	-	11	10	14	-	-	12	10A	11	-	-	-	-	-
211.K1.3	-	-	-	-	-	10	-	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
212.K1.4	-	07A	13	-	-	08	-	-	-	-	10	-	10	-	-	-	-	-
213.K1.5	-	-	14	-	-	08	11	10	-	-	12	-	12	-	-	-	-	-
214.K1.2	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-
215.K1.6	-	-	-	-	-	-	10	10	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-
216.S1.1	-	-	13	-	-	-	-	-	-	-	10A	-	10	-	-	-	-	-
217.S1.2	-	-	14	-	12	-	-	-	-	-	12A	10A	12	-	-	-	-	-
218.P8.5	-	-	12	-	-	08	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-
219.P8.6	-	-	14	-	12	10	08	10	-	-	-	10A	-	-	-	-	-	-
220.K1.9	-	-	13	-	12	11	12	14	-	-	14A	12	-	-	-	-	-	-
221.K1.10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-
222.K1.12	-	-	-	-	-	10	-	12	-	-	10A	10A	-	-	-	-	-	-



Şekil 3.1. Saf filtratların *Staphylococcus aureus* üzerine olan antimikrobiyal aktivitesi Şekil üzerinde; 19: 11.P1.11, 20: 13.P1.13, 21: 36.P2.13, 22: 35.P2.12, 23: 38.P2.15, 24: 16.P1.16, 25: 10.P1.10, 26: 22.P1.22, 27: 24.P2.1.



Şekil 3.2. Saf filtratların *Bacillus cereus* üzerine olan antimikrobiyal aktivitesi. Şekil üzerinde; 1: 158.P7.5, 2: 147.P5.4, 3: 154.P7.2, 4: 152.P6.5, 5: 156.P7.3, 6: 146.P5.3, 7: 149.P6.2, 8: 150.P6.3, 9: 160.P5.5

Çizelge 3.4. Katalaz İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (Sonaçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

İzolat Numaraları	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i> serovar 1	<i>Listeria monocytogenes</i> PNE QCILI	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>
2.P1.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.P1.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.P1.4	14	13	12	12	12A	10A	12A	14	10	14	-	-	-	-	-	-	-	-
5.P1.5	12	12	10	11	12A	10A	11A	14	-	11	11	13	12	-	-	-	-	-
6.P1.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7.P1.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8.P1.8	12	15	12	13	10A	-	12	14	12A	14	13	12	13	-	-	-	-	-
9.P1.9	11	14	12	11	10A	10A	11	13	12A	15	12	15	13	-	-	-	-	-
10.P1.10	10	14	12	10A	-	10A	10	12	10	13	12	15	13	-	-	-	-	-
11.P1.11	12	13	12	13A	10A	12A	10	12	-	14	13	18 A	12	-	-	-	-	-
12.P1.12	12	15	12	14A	10	11A	12A	14	12A	12	11	17 A	14	-	-	-	-	-
13.P1.13	11	15	12	14	12	12	12A	16	12	13	15 A	17 A	12	-	-	-	-	-
14.P1.14	13	16	14	16	12	12	13A	16	11	14	14 A	18 A	14	-	-	-	-	-
15.P1.15	-	14	12	11	10	11	-	14	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-
16.P1.16	11	15	12	12	11	10	11A	14	10	10	13	18 A	12	-	-	-	-	-

Çizelge 3.4. (Devam) Katalaz İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

İzolat Numaraları	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i> serovar 1	<i>Listeria monocytogenes</i> PNE QCILI	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>
17.P1.17	-	12	12	10	10	-	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18.P1.18	10	13	10	12	10	-	11A	13	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-
19.P1.19	-	11	12	12	10	-	11	13	10	10	14	20 A	13	-	-	-	-	-
21.P1.21	-	10	12	11	12	-	-	12	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22.P1.22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23.P1.23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24.P2.1	10	14	10	11	10A	11	10A	12	12	12	12	11	14 A	-	-	-	-	-
25.P2.2	-	14	12	12	10A	10	12A	14	11	12	14 A	17 A	12	-	-	-	-	-
26.P2.3	-	-	-	-	-	-	-	10	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-
27.P2.4	-	12	-	11	-	-	-	12	10	13	15 A	17 A	13	-	-	-	-	-
28.P2.5	-	12	12	12	10	12	-	14	10	12	11	16 A	13	-	-	-	-	-
29.P2.6	-	12	10	12	12A	12	-	15	12	13	12 A	12 A	13	-	-	-	-	-
30.P2.7	-	13	10	12	12A	12	10	15	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31.P2.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32.P2.9	-	10	-	10	10A	-	-	12	10	12	11	12	15	-	-	-	-	-

Çizelge 3.4. (Devam) Katalaz İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

İzolat Numaraları	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i> serovar 1	<i>Listeria monocytogenes</i> PNE QÇİLİ	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>
33.P2.10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34.P2.11	-	-	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35.P2.12	-	-	15	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36.P2.13	-	-	-	-	-	-	-	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37.P2.14	-	-	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38.P2.15	-	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39.P2.16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40.P2.17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41.P2.18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42.P2.19	-	-	14	-	-	12	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-
43.P2.20	-	-	12	-	12	15	-	-	-	15	-	-	-	-	-	-	-	-
45.P2.22	-	-	13	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46.P3.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47.P3.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48.P3.3	-	12	18	-	12	13	14	11	17	15	12	20 A	12	-	-	-	-	-

Çizelge 3.4. (Devam) Katalaz İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

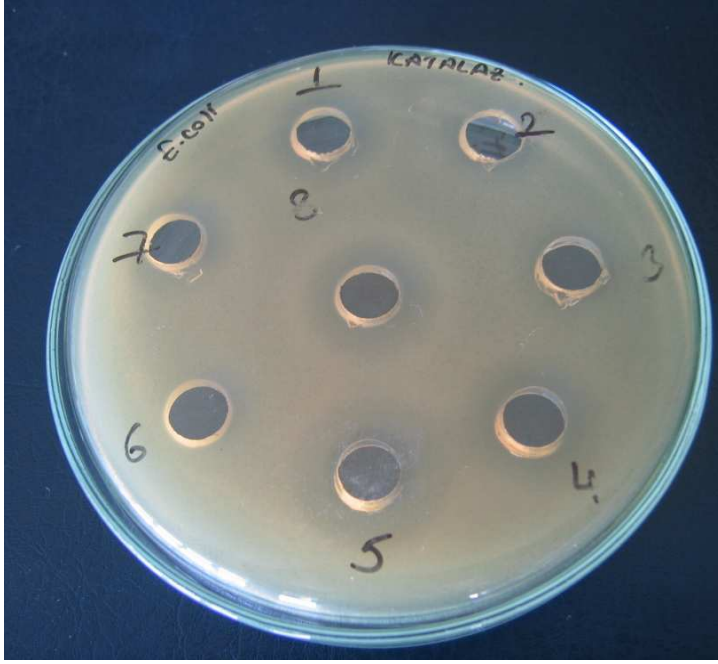
İzolat Numaraları	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes serovar 1</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>
97.P4.28	14	1	15	-	12	15	14	-	14	14	12	15	12	-	-	-	-	-
98.P4.29	19	15	16	-	15	16	20	-	20	20	16	17	15 A	-	-	-	-	-
99.P4.30	14	10	14	-	14	16	14	-	15	14	-	14	13	-	-	-	-	-
144.P5.1	10	12	12	-	15	18	13	-	15	12	10	-	12 A	-	-	-	-	-
145.P5.2	10	12	12	15	16	11	14	-	14	14	11	12	12	-	-	-	-	-
146.P5.3	17	12	14	-	16	15	12	-	14	14	12	14	15	-	-	-	-	-
147.P5.4	16	10	12	-	15	16	15	-	15	13	10	12	12	-	-	-	-	-
148.P6.1	14	14	12	11	14	15	13	-	15	13	12	12	11	-	-	-	-	-
149.P6.2	15	15	12	14	16	14	13	-	14	15	11	15	13	-	-	-	-	-
150.P6.3	12	10	12	12	14	12	12	-	12	13	-	12	14	-	-	-	-	-
151.P6.4	14	10	12	-	17	16	12	-	14	15	12	14	12	-	A	-	A	A
152.P6.5	17	13	17	-	17	15	15	16	16	20	-	15	13	-	A	-	-	-
153.P7.1	10	10	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-
154.P7.2	17	16	16	-	20	16	18	-	14	16	10	15	14	-	-	-	A	-
155.P7.2	-	10	12	-	08	-	08	-	-	10	-	-	12	-	-	-	-	-

Çizelge 3.4. (Devam) Katalaz İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

İzolat Numaraları	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes serovar 1</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>
156.P7.3	14	10	12	-	14	14	14	-	14	16	-	14	12	-	-	-	-	-
157.P7.4	16	10	15	-	14	14	15	-	16	16	-	16	10	-	-	-	-	-
158.P7.5	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	10	-	-	-	-	-
159.P7.6	15	12	15	-	16	15	15	-	16	16	-	13	13 A	-	-	-	-	-
160.P5.5	18	10	14	-	17	15	15	-	14	15	10	14	15 A	-	A	-	-	-
161.P5.6	16	10	16	-	16	13	14	-	16	16	-	13	14	-	-	-	-	-
163.P5.7	15	10	12	-	15	14	15	-	12	15	-	16	11	-	-	-	-	-
163.P5.8	16	10	-	-	15	13	16	-	12	14	-	14	13 A	-	-	-	-	-
164.P6.6	13	11	12	-	16	12	14	15	10	15	-	14	16	-	-	-	-	-
166.P6.8	15	14	12	12	15	4	15	-	16	16	-	12	15 A	-	-	-	-	-
167.P6.9	12	12	15	14	14	12	12	-	14	15	-	13	12	-	-	-	-	-
168.P6.10	13	10	14	16	15	10	14	-	15	14	10	13	15	-	-	-	-	-
169.P6.11	16	12	14	16	15	12	15	-	12	13	14	13	15 A	-	-	-	-	-
170.P7.7	-	-	12	-	-	-	10	-	12	-	-	-	12	-	-	-	-	-
171.P7.8	-	10A	12	-	-	-	10	-	12	12A	12	-	13	-	-	-	-	-

Çizelge 3.4. (Devam) Katalaz İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

İzolat Numaraları	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i> serovar 1	<i>Listeria monocytogenes</i> PNE QCILI	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>
172.P7.9	-	10A	-	-	-	-	11	-	12	10A	12	-	11	-	-	-	-	-
173.P7.10	-	-	12	-	-	-	10	-	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-
174.P7.11	-	-	13	-	-	-	-	-	-	-	12	-	11	-	-	-	-	-
211.K1.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
212.K1.4	-	-	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-
213.K1.5	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
214.K1.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
215.K1.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
216.S1.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
217.S1.2	-	-	14	-	12	-	-	-	-	-	-	10A	11	-	-	-	-	-
218.P8.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-
219.P8.6	-	-	12	-	12	-	-	-	-	-	-	10A	-	-	-	-	-	-
220.K1.9	-	-	12	-	10	09	-	-	-	-	12A	12	-	-	-	-	-	-
221.K1.10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
222.K1.12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10A	10A	-	-	-	-	-	-



Şekil 3.3. Katalaz ilaveli filtratların *Escherichia coli* üzerine olan antimikrobiyal aktivitesi. Şekil üzerinde; 1: 24.P2.1, 2: 18.P1.18, 3: 7.P1.7, 4: 8.P1.8, 5: 11.P1.11, 6: 6.P1.6, 7: 5.P1.5, 8: 14.P1.14.



Şekil 3.4. Katalaz ilaveli filtratların *Escherichia coli* üzerine olan antimikrobiyal aktivitesi. Şekil üzerinde; 19: 33.P2.10, 20: 25.P2.2, 21: 41.P2.18, 22: 28.P2.5, 23: 36.P2.13, 24: 29.P2.6, 25: 39.P2.16, 26: 40.P2.17, 27: 34.P2.11.

Çizelge 3.5. Proteinaz K İlevli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

İzolat Numaraları	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes serovar 1</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>
5.P1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8.P1.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9.P1.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10.P1.10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-
11.P1.11	-	-	12	-	-	-	-	12	-	-	-	12	12	-	-	-	-	-
12.P1.12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13.P1.13	15	-	15	10	11	14	-	-	-	-	-	13	-	-	-	-	-	-
14.P1.14	15	-	15	10	12	14	-	-	-	-	-	14	-	-	-	-	-	-
16.P1.16	12	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19.P1.19	-	-	15	-	-	-	-	-	-	-	-	11	-	-	-	-	-	-
24.P2.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-
25.P2.2	18	-	10	10	11	12	-	-	-	-	-	13	-	-	-	-	-	-
27.P2.4	18	-	-	-	11	12	-	-	-	-	-	11	-	-	-	-	-	-
28.P2.5	14	-	10	10	11	13	-	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-
29.P2.6	16	-	-	-	11	12	-	-	-	-	-	11	-	-	-	-	-	-

Çizelge 3.5. (Devam) Proteinaz K İleveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

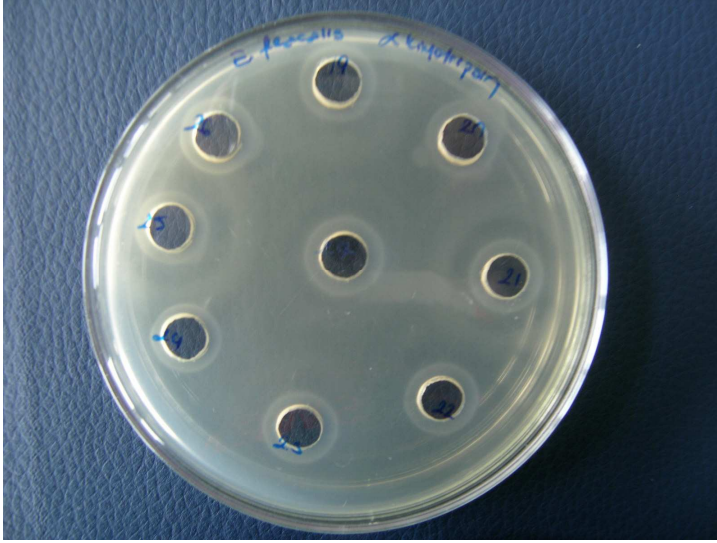
İzolat Numaraları	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes serovar 1</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>
32.P2.9	15	-	11	-	10	12	-	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-
48.P3.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49.P3.4	-	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51.P3.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67.P3.22	-	-	-	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
97.P4.28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
98.P4.29	15	-	14	10	12	12	-	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-
99.P4.30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-
144.P5.1	17	-	13	12	11	13	-	-	-	-	10	15	-	-	-	-	-	-
145.P5.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-
146.P5.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
147.P5.4	-	-	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
148.P6.1	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	12	11	-	-	-	-	-
149.P6.2	15	-	12	13	11	14	-	-	-	-	-	15	-	-	-	-	-	-
150.P6.3	14(A)	-	13	-	11	13	-	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-

Çizelge 3.5. (Devam) Proteinaz K İleveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

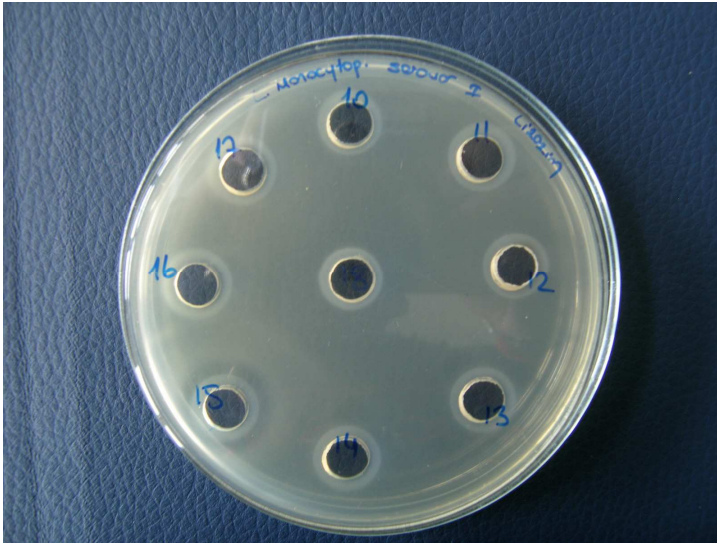
İzolat Numaraları	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i> serovar 1	<i>Listeria monocytogenes</i> PNE QCIL1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>
151.P6.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-
152.P6.5	10	-	-	-	-	-	11	10	11	-	-	11	12	-	-	-	-	-
154.P7.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-
156.P7.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-
157.P7.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-
159.P7.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	12	10	-	-	-	-	-
160.P5.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-
161.P5.6	20	-	12	-	10	13	-	-	-	-	-	13	-	-	-	-	-	-
163.P5.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
163.P5.8	14	-	10	-	10	11	-	-	-	-	-	11	-	-	-	-	-	-
164.P6.6	-	-	14	-	-	-	-	-	-	-	10	10	-	-	-	-	-	-
166.P6.8	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	11	-	-	-	-	-	-
167.P6.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
168.P6.10	-	-	12	-	-	-	-	14	12	-	16	12	13	-	-	-	-	-
169.P6.11	16	-	10	-	10	11	-	-	-	-	-	11	-	-	-	-	-	-

Çizelge 3.5. (Devam) Proteinaz K İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

İzolat Numaraları	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i> serovar 1	<i>Listeria monocytogenes</i> PNE QCILI	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus buchneri</i>
171.P7.8	14	-	11	-	10	12	-	-	-	-	-	11	-	-	-	-	-	-
172.P7.9	14	-	10	-	10	10	-	-	-	-	-	11	-	-	-	-	-	-
220.K1.9	14	-	10	-	10	12	-	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-
235.S2.2A	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
277.S3.11	20(A)	-	15	-	11	12	-	-	-	-	-	11	-	-	-	-	-	-
294.S4.14	16	-	15	-	11	12	-	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-
299.S4.19	16	-	14	-	12	13	-	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-



Şekil 3.5. Alfa-kimotripsin ilaveli filtratların *Enterococcus faecalis* üzerindeki etkisi. Şekil üzerinde; 19: 8.P1.8, 20: 172.P7.9, 21: 161.P5.6, 22: 162.P5.7, 23: 32.P2.9, 24: 144.P5.1, 25: 167.P6.9, 26: 147.P5.4, 27: 67.P3.22



Şekil 3.6. Lizozim ileveli filtratların *L. monocytogenes* serovar I üzerindeki antimikrobiyal etkisi. Şekil üzerinde; 10: 29.P2.6, 11: 10.P1.10, 12: 9.P1.9, 13: 146.P5.3, 14: 25.P2.2, 15: 164.P6.6, 16: 157.P7.4, 17: 5.P1.5, 18: 151.P6.4.

Çizelge 3.6. Enzim İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
5.P1.5	Saf filtrat	14	11	13	20(A)	14	12
	Tripsin	12	-	-	20(A)	-	-
	Alfa kimotripsin	14(A)	-	-	18(A)	-	12
	Lizozim	14(A)	-	13(A)	18(A)	-	12
	Alfa amilaz	14(A)	-	12	16(A)	-	10(A)
	Pronaz	14(A)	-	16(A)	20(A)	-	-
	60°C de 30 Dakika	-	10	13	12	12	12
	121°C de 20 Dakika	12	11	14	12	12	12
	EDTA	15(A)	13(A)	12	12(A)	14(A)	13
8.P1.8	Saf filtrat	12	13	12	20(A)	13	13
	Tripsin	-	-	-	20(A)	-	13
	Alfa kimotripsin	15(A)	-	-	18(A)	13	13
	Lizozim	15(A)	13(A)	12(A)	16(A)	10	12
	Alfa amilaz	13(A)	14(A)	12(A)	16(A)	10(A)	-
	Pronaz	-	-	18(A)	20(A)	11(A)	15(A)
	60°C de 30 Dakika	12	13	12	-	12	12
	121°C de 20 Dakika	12	13	12	13	11	12
	EDTA	13(A)	14	15	12(A)	12	13
9.P1.9	Saf filtrat	13	12	15	17(A)	12	13
	Tripsin	12	12	-	17(A)	-	13(A)
	Alfa kimotripsin	13(A)	-	-	17(A)	-	13
	Lizozim	-	13(A)	12(A)	-	10	13
	Alfa amilaz	-	12(A)	-	18(A)	12(A)	12(A)
	Pronaz	-	10(A)	16(A)	20(A)	12(A)	14(A)
	60°C de 30 Dakika	12(A)	12	15	12	12	13
	121°C de 20 Dakika	12	12	12	14	12	13
	EDTA	14(A)	13	15	11(A)	12	13

Çizelge 3.6. (Devam) Enzim İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi
(Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
10.P1.10	Saf filtrat	14	12	15	17(A)	13	13
	Tripsin	-	12	-	17(A)	-	13(A)
	Alfa kimotripsin	14(A)	-	-	17(A)	-	13
	Lizozim	10	12(A)	12(A)	14(A)	10	13
	Alfa amilaz	-	12(A)	11	18(A)	11(a)	14(A)
	Pronaz	12(A)	10(A)	16(A)	20(A)	-	14(A)
	60°C de 30 Dakika	12(A)	12	15	15	-	13
	121°C de 20 Dakika	12	12	12	14	13	12
	EDTA	14(A)	13	14	11(A)	10	11
11.P1.11	Saf filtrat	17(A)	13	18(A)	12	15(A)	12
	Tripsin	12	-	18(A)	-	-	12
	Alfa kimotripsin	12	-	18(A)	12	14(A)	12
	Lizozim	19	15(A)	-	12	12(A)	12
	Alfa amilaz	10	-	-	-	14(A)	14(A)
	Pronaz	14(A)	-	-	20(A)	-	14(A)
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	13(A)	20(A)
	121°C de 20 Dakika	13	12	10	11	13(A)	12
	EDTA	13	-	15(A)	-	14(A)	14(A)
12.P1.12	Saf filtrat	16(A)	11	17(A)	12	14(A)	14
	Tripsin	16(A)	-	17(A)	-	-	12(A)
	Alfa kimotripsin	16(A)	-	17(A)	15(A)	12(A)	12
	Lizozim	16(A)	14(A)	-	17(A)	12(A)	16(A)
	Alfa amilaz	10	-	-	-	14(A)	14(A)
	Pronaz	14(A)	-	-	17(A)	-	13
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	12(A)	13(A)
	121°C de 20 Dakika	13	-	12	12	14	12
	EDTA	14	14(A)	16	12	16(A)	16(A)

Çizelge 3.6. (Devam) Enzim İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi
(Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
13.P1.13	Saf filtrat	16(A)	15(A)	17(A)	17(A)	13(A)	12
	Tripsin	16(A)	-	17(A)	17(A)	-	12(A)
	Alfa kimotripsin	16(A)	15(A)	17(A)	17(A)	-	-
	Lizozim	15	-	11	20(A)	13(A)	11(A)
	Alfa amilaz	-	-	-	-	13(A)	14(A)
	Pronaz	14(A)	-	-	18(A)	-	14
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	-	-
	121°C de 20 Dakika	11	-	-	-	12	14(A)
	EDTA	-	-	17(A)	12	15	15
14.P1.14	Saf filtrat	17(A)	14(A)	18(A)	12	14(A)	14
	Tripsin	12	-	18(A)	14(A)	14(A)	-
	Alfa kimotripsin	15(A)	-	15(A)	14(A)	12(A)	14
	Lizozim	17	14(A)	-	12	-	14(A)
	Alfa amilaz	-	-	-	-	14(A)	14(A)
	Pronaz	12	-	-	16(A)	-	-
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	14(A)	11
	121°C de 20 Dakika	10	-	-	-	14	14(A)
	EDTA	12	12	17	14(A)	16(A)	16(A)
16.P1.16	Saf filtrat	15(A)	13(A)	18(A)	16(A)	12(A)	12
	Tripsin	12(A)	-	18(A)	16(A)	-	12(A)
	Alfa kimotripsin	15(A)	-	18(A)	16(A)	12(A)	12(A)
	Lizozim	18(A)	-	-	20(A)	11(A)	15(A)
	Alfa amilaz	11	-	-	-	13(A)	13(A)
	Pronaz	15(A)	-	-	18(A)	-	11
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	11(A)	16(A)
	121°C de 20 Dakika	10	-	-	-	12	11
	EDTA	-	13(A)	20(A)	12	16	14(A)

Çizelge 3.6. (Devam) Enzim İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi
(Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
19.P1.19	Saf filtrat	17(A)	14(A)	20(A)	16(A)	15(A)	13
	Tripsin	17(A)	-	20(A)	16(A)	-	13(A)
	Alfa kimotripsin	10	-	20(A)	16(A)	12(A)	13(A)
	Lizozim	16	14(A)	-	16(A)	12(A)	14(A)
	Alfa amilaz	12	-	12(A)	-	12(A)	15(A)
	Pronaz	14(A)	-	-	16(A)	-	13
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	11(A)	17(A)
	121°C de 20 Dakika	12	10	11	-	13	12
	EDTA	13(A)	-	-	15(A)	10(A)	12(A)
24.P2.1	Saf filtrat	12	12	11	15(A)	13	14(A)
	Tripsin	12	12	-	15(A)	-	11(A)
	Alfa kimotripsin	-	-	-	15(A)	-	14(A)
	Lizozim	-	-	11(A)	15(A)	-	13(A)
	Alfa amilaz	-	-	15(A)	15(A)	12(A)	10(A)
	Pronaz	-	-	-	12(A)	12(A)	14(A)
	60°C de 30 Dakika	11	12	-	13(A)	13(A)	13(A)
	121°C de 20 Dakika	11	12	12	13	13	13
	EDTA	16(A)	13	13(A)	11	14(A)	15(A)
25.P2.2	Saf filtrat	16(A)	14(A)	17(A)	14(A)	12(A)	12
	Tripsin	-	-	17(A)	14(A)	-	12(A)
	Alfa kimotripsin	14(A)	-	15(A)	14(A)	12(A)	-
	Lizozim	15	13(A)	12(A)	14(A)	12(A)	12
	Alfa amilaz	-	-	-	12(A)	-	12
	Pronaz	-	-	-	14(A)	-	-
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	12(A)	11
	121°C de 20 Dakika	-	-	-	10(A)	12(A)	12
	EDTA	12(A)	14(A)	15	12(A)	13	15

Çizelge 3.6. (Devam) Enzim İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi
(Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
27.P2.4	Saf filtrat	16(A)	15(A)	17(A)	17(A)	14(A)	13
	Tripsin	16(A)	-	17(A)	17(A)	14(A)	-
	Alfa kimotripsin	16(A)	15(A)	17(A)	17(A)	-	13(A)
	Lizozim	15	12(A)	12(A)	14(A)	12(A)	13
	Alfa amilaz	-	-	-	-	12(A)	11(A)
	Pronaz	-	-	-	17(A)	-	13
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	11(A)	-
	121°C de 20 Dakika	-	-	-	-	11	12(A)
	EDTA	-	14(A)	14	12(A)	15(A)	13
28.P2.5	Saf filtrat	12	11	16(A)	14(A)	12	13
	Tripsin	12	-	-	14(A)	-	-
	Alfa kimotripsin	12	-	-	14(A)	-	12
	Lizozim	-	11	14(A)	-	-	12
	Alfa amilaz	16(A)	-	14(A)	14(A)	-	11(A)
	Pronaz	-	-	16(A)	-	-	11(A)
	60°C de 30 Dakika	12	-	-	14(A)	12	13(A)
	121°C de 20 Dakika	-	-	10	12	12	13
	EDTA	12	15	13	13	17	15
29.P2.6	Saf filtrat	10	12(A)	12(A)	15(A)	10	13
	Tripsin	-	-	-	15(A)	-	13
	Alfa kimotripsin	-	-	-	15(A)	-	12
	Lizozim	-	-	12(A)	15(A)	10	12
	Alfa amilaz	-	-	13(A)	15(A)	10(A)	-
	Pronaz	-	-	-	15(A)	-	-
	60°C de 30 Dakika	10	-	-	15(A)	10	10
	121°C de 20 Dakika	10	-	10	11	10	10
	EDTA	12(A)	12(A)	13(A)	-	11	15

Çizelge 3.6. (Devam) Enzim İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi
(Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
32.P2.9	Saf filtrat	12	11	12	20(A)	11	15
	Tripsin	-	-	-	20(A)	-	-
	Alfa kimotripsin	-	-	-	19(A)	11	13
	Lizozim	-	14(A)	12	14(A)	-	13
	Alfa amilaz	17(A)	-	17(A)	14(A9)	12(A)	-
	Pronaz	-	11(A)	17(A)	16(A)	-	14(A)
	60°C de 30 Dakika	12	11	-	16(A)	11	15
	121°C de 20 Dakika	12	11	-	13	11	14
	EDTA	15(A)	14	12	12(A)	13(A)	13
48.P3.3	Saf filtrat	18(A)	12	20(A)	17(A)	13(A)	12
	Tripsin	18(A)	-	20(A)	17(A)	13(A)	-
	Alfa kimotripsin	18(A)	15(A)	20(A)	17(A)	13(A)	-
	Lizozim	14(A)	12	12(A)	17(A)	12(A)	11
	Alfa amilaz	-	-	-	-	12(A)	12(A)
	Pronaz	-	-	-	17(A)	-	12
	60°C de 30 Dakika	14(A)	-	-	-	12(A)	12
	121°C de 20 Dakika	12	-	-	-	12(A)	14(A)
	EDTA	13(A)	15(A)	18	12	18	12
49.P3.4	Saf filtrat	16(A)	13(A)	15(A)	16(A)	13(A)	13
	Tripsin	-	-	15(A)	16(A)	13(A)	-
	Alfa kimotripsin	16(A)	-	15(A)	16(A)	-	-
	Lizozim	14	12(A)	-	15(A)	13(A)	10
	Alfa amilaz	10	-	-	14(A)	-	-
	Pronaz	-	-	-	16(A)	-	-
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	-	13(A)
	121°C de 20 Dakika	-	-	-	-	-	10
	EDTA	12(A)	15(A)	15(A)	12	16(A)	13

Çizelge 3.6. (Devam) Enzim İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi
(Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
51.P3.6	Saf filtrat	12	12	10	20(A)	12	15
	Tripsin	-	-	-	20(A)	-	14
	Alfa kimotripsin	-	-	10	20(A)	-	15
	Lizozim	-	-	14	-	10	13
	Alfa amilaz	12	-	16(A)	17(A)	10	12(A)
	Pronaz	-	-	16(A)	15(A)	-	14(A)
	60°C de 30 Dakika	11	10	-	14(A)	12	13
	121°C de 20 Dakika	11	10	10	14	12	15
	EDTA	14	15	12(A)	14(A)	13	14
67.P3.22	Saf filtrat	12	10	12	20(A)	14	14
	Tripsin	12	-	-	20(A)	11	14
	Alfa kimotripsin	10	-	-	20(A)	14	14
	Lizozim	-	10	12	20(A)	11	14
	Alfa amilaz	11	-	10	17(A)	10(A)	-
	Pronaz	-	-	16(A)	20(A)	10(A)	15(A)
	60°C de 30 Dakika	12	-	-	14	-	13
	121°C de 20 Dakika	11	-	12	13	11	13
	EDTA	15(A)	13	14(A)	13(A)	12	13
97.P4.28	Saf filtrat	17(A)	13(A)	16(A)	15(A)	12(A)	12
	Tripsin	-	-	16(A)	15(A)	12(A)	-
	Alfa kimotripsin	17(A)	-	16(A)	15(A)	12(A)	-
	Lizozim	15	13(A)	12(A)	15(A)	12(A)	11(A)
	Alfa amilaz	-	-	-	-	-	12(A)
	Pronaz	-	-	-	15(A)	-	12
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	11(A)	12
	121°C de 20 Dakika	-	12	-	12	12	12
	EDTA	12(A)	12(A)	15(A)	13(A)	14	12

Çizelge 3.6. (Devam) Enzim İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi
(Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
98.P4.29	Saf filtrat	16(A)	15(A)	16(A)	12	13(A)	15(A)
	Tripsin	-	-	16(A)	14(A)	-	13(A)
	Alfa kimotripsin	16(A)	-	15(A)	14(A)	-	-
	Lizozim	15	15(A)	-	14(A)	13(A)	10(A)
	Alfa amilaz	10(A)	-	-	-	13(A)	14(A)
	Pronaz	-	-	-	15(A)	-	15(A)
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	13(A)	11(A)
	121°C de 20 Dakika	12	-	-	-	12	-
	EDTA	12	-	16(A)	-	15	15(A)
99.P4.30	Saf filtrat	20(A)	12	17(A)	16(A)	12	13
	Tripsin	20(A)	-	17(A)	16(A)	-	-
	Alfa kimotripsin	20(A)	15(A)	17(A)	16(A)	-	12
	Lizozim	15	12	12(A)	16(A)	12(A)	14(A)
	Alfa amilaz	-	-	-	-	12(A)	14(A)
	Pronaz	-	-	-	16(A)	-	13
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	-	-
	121°C de 20 Dakika	10	-	-	10(A)	10	11
	EDTA	-	13(A)	14(A)	15(A)	15	14(A)
144.P5.1	Saf filtrat	10	12	12(A)	16(A)	10	12(A)
	Tripsin	-	-	-	16(A)	-	12(A)
	Alfa kimotripsin	-	-	-	-	-	-
	Lizozim	-	12	12(A)	16(A)	-	12(A)
	Alfa amilaz	-	-	-	-	-	-
	Pronaz	-	-	-	15(A)	-	-
	60°C de 30 Dakika	10	-	-	16(A)	10	-
	121°C de 20 Dakika	10	-	-	12	10	-
	EDTA	12(A)	12	13	12(A)	17	12

Çizelge 3.6. (Devam) Enzim İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi
(Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
145.P5.2	Saf filtrat	12	10	13	16(A)	10	12
	Tripsin	-	-	-	16(A)	-	12(A)
	Alfa kimotripsin	12	-	-	16(A)	10	12(A)
	Lizozim	-	10	13	-	-	12
	Alfa amilaz	-	-	15(A)	16(A)	10	-
	Pronaz	-	-	-	16(A)	-	11(A)
	60°C de 30 Dakika	12	-	-	-	10	12
	121°C de 20 Dakika	12	-	-	12	10	12
	EDTA	14	15	13	12(A)	17	15(A)
146.P5.3	Saf filtrat	12	12	10	20(A)	11	15
	Tripsin	-	12	-	20(A)	-	12
	Alfa kimotripsin	-	-	-	17(A)	-	14
	Lizozim	12	15(A)	10	-	11	12
	Alfa amilaz	-	-	-	16(A)	11(A)	-
	Pronaz	-	11(A)	-	20(A)	11(A)	12(A)
	60°C de 30 Dakika	11(A)	-	10	12(A)	11	12
	121°C de 20 Dakika	11	12	10	10	11	12
	EDTA	12	-	14(A)	-	14(A)	15
147.P5.4	Saf filtrat	10	10	12	16(A)	10	12
	Tripsin	-	-	-	16(A)	-	14(A)
	Alfa kimotripsin	-	-	-	16(A)	-	14(A)
	Lizozim	-	10	11(A)	15(A)	-	12
	Alfa amilaz	-	-	14(A)	15(A)	10(A)	-
	Pronaz	-	-	-	17(A)	-	14(A)
	60°C de 30 Dakika	-	-	10	14(A)	-	12
	121°C de 20 Dakika	-	-	10	10	10	12
	EDTA	14(A)	-	12(A)	-	12(A)	12

Çizelge 3.6. (Devam) Enzim İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi
(Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
148.P6.1	Saf filtrat	12	10	10	16(A)	11	11
	Tripsin	-	-	-	16(A)	-	10
	Alfa kimotripsin	-	-	10	16(A)	-	11
	Lizozim	-	-	15(A)	-	-	11
	Alfa amilaz	12	-	-	16(A)	-	-
	Pronaz	-	-	-	14(A)	-	-
	60°C de 30 Dakika	10	-	-	14(A)	11	-
	121°C de 20 Dakika	10	-	10	12	11	11
	EDTA	16	13	14	14	17	14
149.P6.2	Saf filtrat	12	10	12	13	12	13
	Tripsin	12	-	-	19(A)	12	13
	Alfa kimotripsin	-	-	10	17(A)	12	12
	Lizozim	-	13(A)	14(A)	14(A)	10	11
	Alfa amilaz	12	12(A)	11	16(A)	10	-
	Pronaz	11(A)	12(A)	12	13	-	14(A)
	60°C de 30 Dakika	11	-	-	12	12	-
	121°C de 20 Dakika	12	-	10	14	12	13
	EDTA	17	13	16	14	20	18
150.P6.3	Saf filtrat	15	15	15	15	13	14
	Tripsin	13(A)	-	11(A)	11(A)	13(A)	14(A)
	Alfa kimotripsin	15(A)	-	14(A)	15	-	14
	Lizozim	15	15(A)	-	12	12(A)	14
	Alfa amilaz	15	-	14(A)	-	14(A)	14
	Pronaz	10	-	-	14(A)	-	12
	60°C de 30 Dakika	15	-	15(A)	-	12(A)	12
	121°C de 20 Dakika	13	-	12(A)	10	13	11
	EDTA	18	13	15	13	14	13

Çizelge 3.6. (Devam) Enzim İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi
(Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
151.P6.4	Saf filtrat	12	15	14	17(A)	10	12
	Tripsin	12	15	-	17(A)	-	-
	Alfa kimotripsin	-	-	-	17(A)	-	-
	Lizozim	-	13(A)	14(A)	-	-	-
	Alfa amilaz	-	-	14(A)	15(A)	-	-
	Pronaz	-	-	-	17(A)	-	14(A)
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	14	10	-
	121°C de 20 Dakika	10	-	-	10	10	-
	EDTA	16	14	14	13(A)	15	12
152.P6.5	Saf filtrat	13	12	12	12	14	13
	Tripsin	13	12	12	12(A)	12	13
	Alfa kimotripsin	13(A)	-	-	14(A)	12	12
	Lizozim	10	13(A)	15(A)	-	-	11
	Alfa amilaz	13	12(A)	10	14(A)	-	-
	Pronaz	13	12(A)	12(A)	12	-	16(A)
	60°C de 30 Dakika	11	-	-	12	13	12
	121°C de 20 Dakika	-	-	12	12	13	15
	EDTA	16	18	16	15	16	14
154.P7.2	Saf filtrat	10	10	15(A)	17(A)	10	14
	Tripsin	-	-	-	17(A)	-	12(A)
	Alfa kimotripsin	-	-	-	17(A)	-	14
	Lizozim	-	-	15(A)	16(A)	10	12
	Alfa amilaz	-	-	15(A)	17(A)	-	14(A)
	Pronaz	-	-	-	17(A)	-	14(A)
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	10	13
	121°C de 20 Dakika	-	-	-	-	10	14
	EDTA	14	15(A)	13(A)	13(A)	14	14

Çizelge 3.6. (Devam) Enzim İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi
(Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
156.P7.3	Saf filtrat	12	14	12	15(A)	13	12
	Tripsin	-	14	12	15(A)	-	12
	Alfa kimotripsin	-	-	10	15(A)	-	12
	Lizozim	10	14(A)	12	15(A)	-	12
	Alfa amilaz	12(A)	10	-	15(A)	10(A)	10(A)
	Pronaz	11(A)	10	10(A)	15(A)	12(A)	15(A)
	60°C de 30 Dakika	10	12	-	-	12	12
	121°C de 20 Dakika	-	12	11	-	12	12
	EDTA	14	15	15(A)	12	13	12
157.P7.4	Saf filtrat	13	10	15(A)	16(A)	11	10
	Tripsin	-	-	-	16(A)	-	-
	Alfa kimotripsin	-	10	-	16(A)	-	10
	Lizozim	11	-	10	-	-	10
	Alfa amilaz	16(A)	-	15(A)	14(A)	11	14(A)
	Pronaz	-	-	-	16(A)	-	12(A)
	60°C de 30 Dakika	11(A)	10	10	-	-	10
	121°C de 20 Dakika	10	-	10	10	10	10
	EDTA	15(A)	-	13(A)	-	11	14
159.P7.6	Saf filtrat	16(A)	12(A)	18(A)	14(A)	13(A)	13(A)
	Tripsin	15(A)	-	18(A)	14(A)	-	-
	Alfa kimotripsin	16(A9)	-	18(A)	14(A)	-	-
	Lizozim	15	12(A)	13(A)	14(A9)	12(A)	12(A)
	Alfa amilaz	-	-	-	-	-	-
	Pronaz	-	-	-	14(A)	-	10(A)
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	12(A)	12(A)
	121°C de 20 Dakika	-	12	-	-	10(A)	12(A9)
	EDTA	12(A)	14(A)	15(A)	12	17	14(A)

Çizelge 3.6. (Devam) Enzim İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi
(Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
160.P5.5	Saf filtrat	15(A)	12	15(A)	11	14(A)	15(A)
	Tripsin	-	-	15(A)	-	-	15(A)
	Alfa kimotripsin	-	-	-	16(A)	-	15(A)
	Lizozim	18	12	-	11	-	15(A)
	Alfa amilaz	-	-	-	13(A)	13(A)	15(A)
	Pronaz	-	12(A)	-	16(A)	-	13(A)
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	14(A)	15(A)
	121°C de 20 Dakika	-	-	-	-	10	14(A)
	EDTA	-	-	12(A)	-	12(A)	15(A)
161.P5.6	Saf filtrat	13	12	14	16(A)	12	14
	Tripsin	13	-	-	16(A)	12	14
	Alfa kimotripsin	-	-	-	16(A)	12	14
	Lizozim	-	-	12	16(A)	10	14
	Alfa amilaz	10	-	19(A)	16(A)	10	-
	Pronaz	-	-	19(A)	16(A)	-	16(A)
	60°C de 30 Dakika	12	12	14	16(A)	-	14
	121°C de 20 Dakika	13	12	14	14	12	14
	EDTA	12(A)	15	14	11(A)	11	14
163.P5.7	Saf filtrat	12	11	10	22(A)	12	11
	Tripsin	-	-	-	22(A)	12	10
	Alfa kimotripsin	-	-	-	20(A)	-	10
	Lizozim	-	11	-	13(A)	-	11
	Alfa amilaz	15(A)	-	16(A)	16(A)	10(A)	-
	Pronaz	-	10	-	20(A)	-	15(A)
	60°C de 30 Dakika	12	10	-	16(A)	-	10
	121°C de 20 Dakika	-	10	10	10	-	10
	EDTA	13(A)	16	13	10(A)	14	14

Çizelge 3.6. (Devam) Enzim İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi
(Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
163.P5.8	Saf filtrat	13(A)	10	14(A)	14(A)	12(A)	13(A)
	Tripsin	-	-	14(A)	14(A)	-	-
	Alfa kimotripsin	-	-	14(A)	14(A)	-	-
	Lizozim	13	-	11(A)	14(A)	12(A)	13(A)
	Alfa amilaz	-	-	-	-	10(A)	12(A)
	Pronaz	-	-	-	14(A)	-	-
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	-	-
	121°C de 20 Dakika	-	-	-	-	-	12(A)
	EDTA	13	13(A)	14(A)	-	13	13
164.P6.6	Saf filtrat	20	16	18	16	20	16
	Tripsin	12	-	-	16	12	16
	Alfa kimotripsin	14(A)	-	10	21(A)	12	16
	Lizozim	16(A)	16	16	15	15	16
	Alfa amilaz	16(A9)	15	16	16	11	13(A)
	Pronaz	-	-	12(A)	19(A)	-	15(A)
	60°C de 30 Dakika	17(A)	15	18	16	18	16
	121°C de 20 Dakika	15	15	16	15	15	15
	EDTA	20(A)	15	16	16	14(A)	14
166.P6.8	Saf filtrat	18(A)	13	18(A)	20(A)	14(A)	15(A)
	Tripsin	18(A)	-	18(A)	-	-	15(A)
	Alfa kimotripsin	18(A)	-	18(A)	20(A)	14(A)	15(A)
	Lizozim	17	12	-	11	11(A)	14
	Alfa amilaz	10(A)	-	-	-	13(A)	15(A)
	Pronaz	12(A)	-	-	17(A)	-	15(A)
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	14(A)	14(A)	15(A)
	121°C de 20 Dakika	13	11	12	13	15(A)	12
	EDTA	12	-	12(A)	-	11(A)	15

Çizelge 3.6. (Devam) Enzim İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi
(Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
167.P6.9	Saf filtrat	13	14	15(A)	23(A)	13	12
	Tripsin	13	12	-	23(A)	13	14(A)
	Alfa kimotripsin	11	-	10(A)	22(A)	13	14(A)
	Lizozim	11	-	13(A)	23(A)	12	14(A)
	Alfa amilaz	-	11	-	20(A)	12(A)	-
	Pronaz	-	14(A)	-	23(A)	12(A)	15(A)
	60°C de 30 Dakika	12	14	-	18(A)	13	12
	121°C de 20 Dakika	13	14	14(A)	14(A)	13	12
	EDTA	14(A)	14	13	14(A)	14	14
168.P6.10	Saf filtrat	15	17	15	15	13(A)	15
	Tripsin	16(A)	-	19(A)	19(A)	-	-
	Alfa kimotripsin	16(A)	-	19(A)	15	12(A)	-
	Lizozim	17	15(A)	-	12	-	14(A)
	Alfa amilaz	16(A)	-	-	14(A)	12(A)	15(A)
	Pronaz	12	-	-	20(A)	-	12
	60°C de 30 Dakika	17(A)	-	15(A)	14(A)	11(A)	17(A)
	121°C de 20 Dakika	13	11	10	11	13	15
	EDTA	17	15	-	15	11(A)	15(A)
169.P6.11	Saf filtrat	16(A)	12	16(A)	17(A)	12(a)	15(A)
	Tripsin	12	-	16(A)	15(A)	-	-
	Alfa kimotripsin	16(A)	-	16(A)	12(A)	12(A)	-
	Lizozim	20	11	-	12	12(A)	11(A)
	Alfa amilaz	-	-	-	-	12(A)	11(A9)
	Pronaz	13(A)	-	-	17(A)	-	11(A)
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	10(A9)	15(A)
	121°C de 20 Dakika	12	-	-	10(A)	12(A)	11
	EDTA	12	14(A)	17(A)	-	16	15(A)

Çizelge 3.6. (Devam) Enzim İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi
(Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
171.P7.8	Saf filtrat	15(A)	15(A)	15(A)	16(A)	12(A)	14
	Tripsin	-	-	15(A)	16(A)	-	-
	Alfa kimotripsin	-	-	15(A)	16(A)	-	12(A)
	Lizozim	16	15(A)	-	15(A)	12(A)	14
	Alfa amilaz	-	-	-	-	-	14(A9)
	Pronaz	-	14(A)	-	16(A)	-	14
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	12(A)	17(A)
	121°C de 20 Dakika	-	-	-	-	11	14
	EDTA	-	-	16	-	15	14(A)
172.P7.9	Saf filtrat	10	15(A)	16(A)	16(A)	12	12
	Tripsin	-	-	-	16(A)	-	12
	Alfa kimotripsin	10	-	-	16(A)	-	12
	Lizozim	-	15(A)	10	16(A)	-	12
	Alfa amilaz	-	-	14(A)	14(A)	10(A)	1(A)
	Pronaz	-	-	16(A)	16(A)	-	14(A)
	60°C de 30 Dakika	10	-	10	15(A)	-	12
	121°C de 20 Dakika	-	-	10	11	10	12
	EDTA	14(A)	-	13(A)	12(A)	12	14
220.K1.9	Saf filtrat	18(A)	12	16(A)	18(A)	13(A)	12
	Tripsin	18(A)	-	16(A)	18(A)	-	11(A)
	Alfa kimotripsin	16(A)	-	16(A)	18(A)	-	11(A)
	Lizozim	14(A)	12	13(A)	17(A)	13(A)	10
	Alfa amilaz	12(A)	-	-	-	10(A)	12
	Pronaz	-	-	-	18(A)	-	12
	60°C de 30 Dakika	14(A)	-	-	-	-	12
	121°C de 20 Dakika	13(A)	11	12(A)	13(A)	12(A)	12
	EDTA	14(A)	15(A)	16(A)	12(A)	17	14(A)

Çizelge 3.6. (Devam) Enzim İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi
(Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
235.S2.2A	Saf filtrat	16(A)	14(A)	20(A)	16(A)	12	12(A)
	Tripsin	16(A)	-	20(A)	16(A)	-	12(A)
	Alfa kimotripsin	16(A)	-	20(A)	16(A)	-	-
	Lizozim	15	14(A)	13(A)	16(A)	12	12(A)
	Alfa amilaz	-	-	-	-	10(A)	-
	Pronaz	-	-	-	16(A)	-	-
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	-	12(A)
	121°C de 20 Dakika	13(A)	12	-	-	-	-
	EDTA	13(A)	16(A)	17(A)	12(A)	16	12(A)
277.S3.11	Saf filtrat	16(A)	10	20(A)	16(A)	14(A)	12
	Tripsin	16(A)	-	20(A)	16(A)	-	12(A)
	Alfa kimotripsin	16(A)	-	20(A)	16(A)	-	12(A)
	Lizozim	15	-	12(A)	16(A)	12(A)	-
	Alfa amilaz	-	-	-	-	13(A)	11
	Pronaz	-	-	-	16(A)	-	12
	60°C de 30 Dakika	14(A)	-	-	-	14(A)	12(A)
	121°C de 20 Dakika	12	10	12(A)	-	13(A)	12(A)
	EDTA	12	-	12	12	17	12
294.S4.14	Saf filtrat	18(A)	10	16(A)	16(A)	11(A)	10(A)
	Tripsin	18(A)	-	16(A)	16(A)	-	-
	Alfa kimotripsin	18(A)	-	16(A)	16(A)	-	-
	Lizozim	13	10	12(A)	16(A)	11(A)	10(A)
	Alfa amilaz	-	-	-	-	-	10(A)
	Pronaz	-	-	-	16(A)	-	10(A)
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	11(A)	10(A)
	121°C de 20 Dakika	10	-	-	12(A)	12	10(A)
	EDTA	15(A)	10	13(A)	13(A)	17	10(A)

Çizelge 3.6. (Devam) Enzim İlaveli Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. A; konsantrasyon azaltma)

Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
299.S4.19	Saf filtrat	15(A)	14(A)	17(A)	15(A)	13(A)	12
	Tripsin	15(A9)	-	16(A)	15(A)	-	-
	Alfa kimotripsin	15(A9)	14(A)	16(A)	15(A)	-	12
	Lizozim	13	12(A)	11(A)	-	13(A)	12
	Alfa amilaz	-	-	-	-	12(A)	12(A)
	Pronaz	-	-	-	15(A)	-	-
	60°C de 30 Dakika	-	-	-	-	11(A)	-
	121°C de 20 Dakika	-	-	-	-	10	12(A)
	EDTA	13(A9)	14(A)	15(A)	14(A)	16	12

Sonuçları çizelge 3.6. da gösterildiği gibi filtratlara enzim ilavesi ile yapılan çalışmada filtratlara enzim ilavesi ile birlikte antimikrobiyal aktivitede değişiklikler meydana geldiği gözlemlenmiştir. Sonuçlar izolattan izolata ve kullanılan test mikroorganizmasına göre farklılık göstermekle birlikte; izolatların bir kısmının özellikle tripsin ve alfa kimotripsin ilavesi ile, bir kısmının daha çok Pronaz veya alfa amilaz ilavesi ile etkisini kaybettiği gözlemlenmiştir. Isı ile muamele sonucu izolatların çoğunda aktivite kaybı gözlemlenmemiş hatta 121°C de ısıya tabi tutma işleminden sonra aktivitede artış gözlemlenmiştir. Benzer şekilde EDTA ilavesinin izolatlarda aktivite kaybına yol açmadığı aksine etkiyi destekleyici yönde tesir ettiği bulunmuştur.

Çalışma sonuçlarına genel olarak bakıldığı zaman pronaz ile muamele edilen hücresiz filtratların test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitelerinin tamamen inaktive olmuş veya önemli ölçüde azaltmış olduğu gözlemlenmiştir.

Çalışma sonuçları incelendiği zaman; izolatlardan 5.P1.5, 10.P1.10, 11.P.11, 32.P2.9, 51.P3.6, 163.P5.7'nin özellikle tripsin ve alfa kimotripsin ilavesinde aktivite kaybı gösterdiği bulunmuştur.

25.P2.2, 27.P2.4, 48.P3.3, 49.P3.4, 97.P4.28, 99.P4.30, 159.P7.6, 163.P5.8, 169.P6.11 ve 294.S4.14 numaralı izolatların ise alfa amilaz ve pronaz ilavesinde aktivite kaybına uğradığı gözlenmiştir..

Bunun yanı sıra 144.P5.1, 147.P5.4, 148.P5.5, 154.P7.2, 160.P5.5 ve 171.P7.8'in hemen hemen tüm enzim ilaveleri ile birlikte aktivite kaybı gösterdiği bulunmuştur.

İzolatlardan 13.P1.13, 14.P1.14, 16.P1.16, 49.P3.4, 98.P4.29, 145.P5.2 ve 171.P7.8'in ısı ile muamele sonucu aktivite kaybı gösterdiği bulunmuştur.

Ayrıca izolatlardan 10 tanesi; 8.P1.8, 9, 28.P2.5, 29.P2.6, 67.P3.22, 150.P6.3, 161.P5.6, 164.P6.6, 167.P6.9, 168.P6.10 ve 277.S3.11'in enzim ilavesi ile çok fazla aktivite kaybı göstermediği tespit edilmiştir.

EDTA ilavesi sonucu antimikrobiyal aktivite kaybı gösteren izolat bulunamamıştır.

Yapılan çalışma sonucunda enzimler ile muamele sonucu çok fazla aktivite kaybı göstermeyen 10 izolat pH ve sıcaklığın antimikrobiyal aktivite üzerindeki etkisini belirlemek amacı ile seçilmiştir.

Çizelge 3.7. pH değeri değiştirilmiş filtratların test mikroorganizmaları üzerine etkisi (sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. (A): Konsantrasyon azaltma).

Örnek numarası ve identifikasyon	pH Değeri	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QÇILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
8.P1.8	pH: 1	-	-	-	-	-	-
	pH: 3	-	-	12	-	-	11
	pH: 5	16	14	14	1,6	-	15
	pH: 7	12	10	10	10	-	-
	pH: 9	-	-	-	-	-	-

Çizelge 3.7. (Devam) pH değeri değiştirilmiş filtratların test mikroorganizmaları üzerine etkisi (Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. (A): Konsantrasyon azaltma).

Örnek numarası ve identifikasyon	pH Değeri	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar 1</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCIL1</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	pH: 11	-	-	-	-	-	-
	pH: 13	-	-	-	-	-	-
28.P2..5	pH: 1	-	-	-	-	-	-
	pH: 3	-	-	-	-	-	10
	pH: 5	15	15	15	16	-	13
	pH: 7	11	12	12	12	-	12(A)
	pH: 9	-	-	-	-	-	-
	pH: 11	-	-	-	-	-	-
	pH: 13	-	-	-	-	-	-
29.P2.6	pH: 1	-	-	-	-	-	-
	pH: 3	12	-	-	-	-	10
	pH: 5	12	-	12	12	-	12
	pH: 7	-	-	-	-	-	-
	pH: 9	-	-	-	-	-	-
	pH: 11	-	-	-	-	-	-
	pH: 13	-	-	-	-	-	-
67.P3.22	pH: 1	-	-	-	-	-	-
	pH: 3	10	10	11	-	-	11
	pH: 5	15	18	16	15	13	16
	pH: 7	12	10	12	-	-	10
	pH: 9	-	-	-	-	-	-
	pH: 11	-	-	-	-	-	-
	pH: 13	-	-	-	-	-	-

Çizelge 3.7. (Devam) pH değeri değiştirilmiş filtratların test mikroorganizmaları üzerine etkisi (Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. (A): Konsantrasyon azaltma).

Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCIL</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
150.P6.3	pH: 1	-	-	-	-	-	-
	pH: 3	-	11	12	12	-	12
	pH: 5	13	12	14	16	-	15
	pH: 7	10	11	10	10	-	-
	pH: 9	-	-	-	-	-	-
	pH: 11	-	-	-	-	-	-
	pH: 13	-	-	-	-	-	-
161.P5.6	pH: 1	-	-	-	-	-	-
	pH: 3	-	-	-	-	-	-
	pH: 5	12	-	12	14	-	12
	pH: 7	-	-	-	-	-	-
	pH: 9	-	-	-	-	-	-
	pH: 11	-	-	-	-	-	-
	pH: 13	-	-	-	-	-	-
164.P6.6.	pH: 1	-	-	-	-	-	-
	pH: 3	-	-	-	12	-	12
	pH: 5	14	16	13	12	-	18(A)
	pH: 7	12	12	12	10	-	13(A)
	pH: 9	-	-	-	-	-	-
	pH: 11	-	-	-	-	-	-
	pH: 13	-	-	-	-	-	-
167.P6.9	pH: 1	-	-	-	-	-	-
	pH: 3	-	-	-	-	-	-
	pH: 5	13(A)	14	13(A)	13	-	14(A)
	pH: 7	-	-	-	-	-	-

Çizelge 3.7. (Devam) pH değeri değiştirilmiş filtratların test mikroorganizmaları üzerine etkisi (Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. (A): Konsantrasyon azaltma).

Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	pH: 9	-	-	-	-	-	-
	pH: 11	-	-	-	-	-	-
	pH: 13	-	-	-	-	-	-
168.P6.10	pH: 1	-	-	-	-	-	-
	pH: 3	10	12	11	11	-	12(A)
	pH: 5	12	14	12	13	12(A)	15(A)
	pH: 7	11	11	11	11	-	12(A)
	pH: 9	-	-	-	-	-	-
	pH: 11	-	-	-	-	-	-
	pH: 13	-	-	-	-	-	-
277.S3.11	pH: 1	-	-	-	-	-	-
	pH: 3	10	10	12	10	-	-
	pH: 5	13	12	12	14	10	15
	pH: 7	11	11	10	12	-	12
	pH: 9	-	-	-	-	-	-
	pH: 11	-	-	-	-	-	-
	pH: 13	-	-	-	-	-	-

Yapılan çalışma sonucunda pH: 1, 9, 11 ve 13 gibi yüksek ve düşük pH değerlerinin test bakterilerine karşı antimikrobiyal etki gösteren maddeyi etkilediği gözlenmiştir. Bununla birlikte 29.P2.6, 161.P5.6 ve 167.P6.9 numaralı izolatlar ait filtratların yalnızca pH:5 de yani kendi doğal pH değerlerinde etkinliklerini sürdürdükleri, diğer izolatlar ait filtratların ise pH:3 pH:5ve pH:7 de etkilerini sürdürdükleri gözlemlenmiştir. Ayrıca filtratların doğal pH değerleri ile kullanılmaları durumunda pH:5,5 e ayarlanmış durumlarına kıyasla daha etkili oldukları bulunmuştur.

Çizelge 3.8. Farklı Sıcaklıklarda Bekletilmiş Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (Sonuçlar mm cinsinden verilmiştir. (A): Konsantrasyon azaltma).

Örnek numarası ve identifikasyon	pH Değeri	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> serovar 1	<i>Listeria monocytogenes</i> PNE QCIL1	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
8.P1.8	50 °C de 30 dakika	16	14	12	12	-	12
	70 °C de 30 dakika	16	14	12	12	-	12
	80 °C de 30 dakika	16	14	12	12	-	12
	90 °C de 30 dakika	16	14	12	12	-	12
	100 °C de 30 dakika	16	14	12	12	-	12
	110 °C de 30 dakika	16	14	12	12	-	12
28.P2.5	50 °C de 30 dakika	12	15	13	12	-	14
	70 °C de 30 dakika	12	15	13	12	-	14
	80 °C de 30 dakika	12	15	13	12	-	14
	90 °C de 30 dakika	12	15	13	12	-	14
	100 °C de 30 dakika	12	15	13	12	-	14
	110 °C de 30 dakika	12	15	13	12	-	14
29.P2.6	50 °C de 30 dakika	-	-	-	-	-	-
	70 °C de 30 dakika	-	-	-	-	-	-
	80 °C de 30 dakika	-	-	-	-	-	-
	90 °C de 30 dakika	-	-	-	-	-	-
	100 °C de 30 dakika	-	-	-	-	-	-
	110 °C de 30 dakika	-	-	-	-	-	-
67.P3.22	50 °C de 30 dakika	16	16	11	13	-	12
	70 °C de 30 dakika	16	16	11	13	12(A)	12
	80 °C de 30 dakika	16	16	11	13	12(A)	12
	90 °C de 30 dakika	16	16	11	13	12(A)	12
	100 °C de 30 dakika	16	16	11	13	12(A)	12
	110 °C de 30 dakika	16	16	11	13	12(A)	12

Çizelge 3.8. (Devam) Farklı Sıcaklıklarda Bekletilmiş Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (Sonuçlar mm cinsinden verilmiştir. (A): Konsantrasyon azaltma).

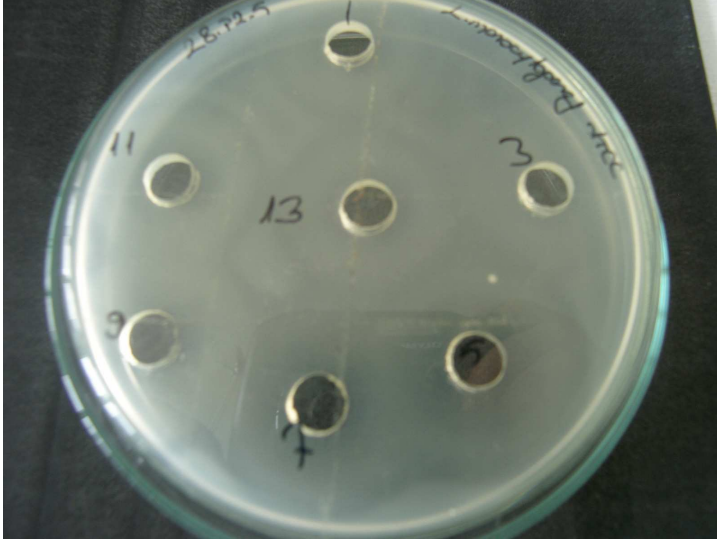
Örnek numarası ve identifikasyon	Enzimler	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes serovar I</i>	<i>Listeria monocytogenes PNE QCILI</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
150.P6.3	50 °C de 30 dakika	15	13	11	12	-	13(A)
	70 °C de 30 dakika	15	13	11	12	-	13(A)
	80 °C de 30 dakika	15	13	11	12	-	13(A)
	90 °C de 30 dakika	15	13	11	12	-	13(A)
	100 °C de 30 dakika	15	13	11	12	-	13(A)
	110 °C de 30 dakika	15	13	11	12	-	13(A)
161.P5.6	50 °C de 30 dakika	18	16	16	15	13	15
	70 °C de 30 dakika	22	16	16	15	14	15
	80 °C de 30 dakika	22	17	16	15	14	16
	90 °C de 30 dakika	22	18	16	15	13	16
	100 °C de 30 dakika	22	19	16	15	12	16
	110 °C de 30 dakika	22	18	16	15	12	16
164.P6.10	50 °C de 30 dakika	13	14	12	14	-	13(A)
	70 °C de 30 dakika	13	14	12	14	-	13(A)
	80 °C de 30 dakika	14	13	12	14	-	15(A)
	90 °C de 30 dakika	14	14	12	14	-	15(A)
	100 °C de 30 dakika	15	14	12	14	-	11
	110 °C de 30 dakika	15	14	12	14	-	11
167.P6.9	50 °C de 30 dakika	12	-	10	12	-	14(A)
	70 °C de 30 dakika	12	-	10	12	-	14(A)
	80 °C de 30 dakika	12	-	10	12	-	14(A)
	90 °C de 30 dakika	12	-	10	12	-	14(A)

Çizelge 3.8. (Devam) Farklı Sıcaklıklarda Bekletilmiş Filtratların Test Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi (Sonuçlar mm cinsinden verilmiştir. (A): Konsantrasyon azaltma).

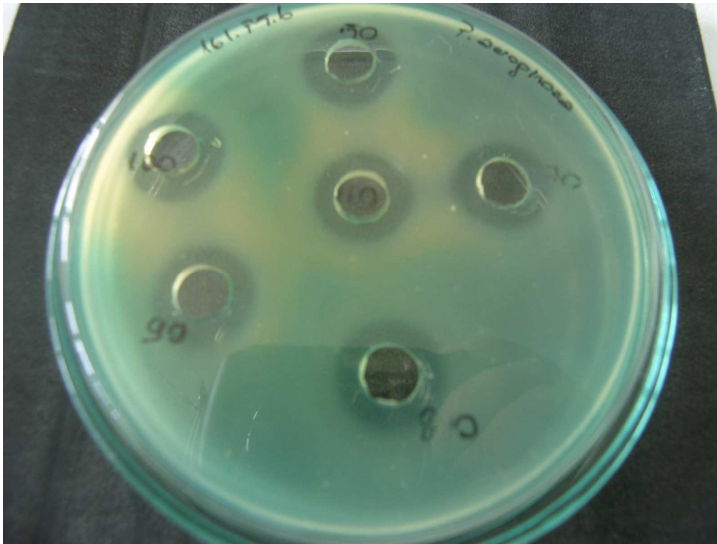
	100 °C de 30 dakika	12	-	10	12	-	14(A)
	110 °C de 30 dakika	12	-	10	12	-	14(A)
168.P6.10							
	50 °C de 30 dakika	15	15	11	14	-	16(A)
	70 °C de 30 dakika	15	15	11	14	-	16(A)
	80 °C de 30 dakika	15	15	11	14	-	16(A)
	90 °C de 30 dakika	15	15	11	14	-	16(A)
	100 °C de 30 dakika	15	15	11	14	-	16(A)
	110 °C de 30 dakika	15	15	11	14	-	16(A)
277.S3.11							
	50 °C de 30 dakika	12	11	10	14	-	15(A)
	70 °C de 30 dakika	12	11	10	14	-	15(A)
	80 °C de 30 dakika	12	11	10	14	-	15(A)
	90 °C de 30 dakika	12	11	10	14	-	15(A)
	100 °C de 30 dakika	12	11	10	14	-	15(A)

Yapılan çalışma sonucunda izolatların ürettikleri antimikrobiyal maddenin sıcaklık muamelesine karşın genel olarak stabilitesini koruduğu gözlenmiştir.

8.P1.8, 164.P6.10, 167.P6.9, 168.P6.10 ve 277.S3.11 izolatlarına ait filtratlar sıcaklık uygulamalarında *S. aureus* hariç diğer test bakterilerine karşı etkili olarak bulunmuştur. Bununla birlikte sıcaklık uygulaması ile 29.P2.6 izolatına ait filtrat bütün sıcaklık uygulamalarında antimikrobiyal etkisini tamamen kaybetmiştir. Bu nedenle, bu izolat tarafından üretilen antimikrobiyal maddenin ısıya karşı duyarlı olduğu düşünülmüştür.



Şekil 3.7 pH'nın antimikrobiyal aktivite üzerine etkisi



Şekil 3.8. Sıcaklığın antimikrobiyal aktivite üzerine etkisi

3.5. Et ve Et Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin İdentifikasyon Test Sonuçları

Çizelge 2.1.' de verilen test mikroorganizmalarına karşı denenmiş olan laktik asit bakterilerinden bakteriyosin benzeri madde üretme ihtimali olduğu

düşünülmüş olan 52 örnek için gram boyama, farklı sıcaklıklarda gelişim, farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim, pH; 3,9 da gelişim, H₂S üretimi gibi biyokimyasal testler yapılmış ve sonuçlar Çizelge 3.9.' de gösterilmiştir.

Yapılan testler sonucunda tüm izolatlar gram pozitif ve katalaz negatif bulunmuştur. İzolatların farklı sıcaklıklarda gelişim durumları kültürden kültüre değişiklik göstermekle birlikte izolatların hepsinin 15 °C' de gelişebildiği gözlenmiştir. Ayrıca izolatlardan 30 tanesinin 4 °C' de gelişebildiği ancak bunlardan 9 tanesinin gelişiminin az olduğu; 45 °C' de ise 26 tane izolatın gelişebildiği ancak bunlardan 11 tanesinin gelişiminin az olduğu gözlemlenmiştir.

İzolatların 42 tanesi farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim gösterebilmiştir. Ancak tuz konsantrasyonu arttırıldıkça gelişebilen kültür sayısında azalma olmuştur. İzolatların 28 tanesi pH:3,9 da gelişim gösterebilirken 24 tanesi bu koşullarda gelişim gösterememektedir. Ayrıca izolatlardan hiçbirinin H₂S üretemediği gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmalarda izolatların büyük bir çoğunluğunun arjininden NH₃ ürettiği gözlenmiştir.

Seçilen 52 izolatın API CHL50 (bioMerieux) sistemi ile yapılan tanımlama testleri sonucunda pastırma izolatlarından 6 tanesi *L. fermentum*, 9 tanesi *L. mesenteroides*, 4 tanesi *L. lactis*, 14 tanesi *L. plantarum*, 2 tanesi *P. pentosaceus*, 2 tanesi *Leuconostoc*, 1 tanesi *L. collinoides*, 3 tanesi *L. delbrueckii*, 3 tanesi *L. pentosus*, 1 tanesi *L. brevis*, 1 tanesi de *L. cellobiosis* olarak tanımlanmıştır. Sucuk örneklerinden ise 2 tanesi *L. pentosus*, 3 tanesi *P. pentosaceus* olarak tanımlanmıştır.

Yapılan identifikasyon test sonuçları Çizelge 3.9., Şekil 3.9. ve Şekil 3.10 da gösterilmiştir. Ayrıca izolatların EPS üretim yeteneklerinin test sonuçları Çizelge 3.10. a., Çizelge 3.10.b ve Çizelge 3.10.c de özetlenmiştir.

Çizelge 3.9. Et ve Et Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin İdentifikasyon Test Sonuçları. (+: pozitif, -: negatif, D/Y: dip/yüzey, ±: belirsiz)

İzolat numarası	Temin Edildiği Ürün	Gram Boyama	Hücre Morfolojisi	Katalaz	4 °C' de gelişim	15 °C' de gelişim	45 °C' de gelişim	% 6,5 NaCl 'de gelişim	% 7,0 NaCl 'de gelişim	% 10 NaCl 'de gelişim	Arjininden NH ₃ Oluşumu	pH: 3,9' da gelişim	H ₂ S üretimi			EPS Üretimi (Glikoz)	EPS Üretimi (Fruktoz)	EPS Üretimi (Sukroz)	EPS Üretimi (Laktöz)
													H ₂ S	D/Y	Gaz				
5.P1.5	Pastırma	+	r	-	±	+	-	-	-	-	±	+	-	Al/Al	-	-	-	-	-
8.P1.8	Pastırma	+	r	-	+	+	±	+	-	-	+	-	-	As/As	-	-	-	-	-
9.P1.9	Pastırma	+	r	-	+	+	±	+	-	-	+	-	-	As/As	-	-	-	-	-
10.P1.10	Pastırma	+	r	-	+	+	±	+	-	-	+	-	-	As/As	-	-	-	+	-
11.P1.11	Pastırma	+	cr	-	+	+	±	+	±	-	+	-	-	Al/Al	-	-	-	-	-
12.P1.12	Pastırma	+	cr	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	Al/Al	-	-	-	-	-
13.P1.13	Pastırma	+	c	-	±	±	+	+	+	-	+	+	-	As/As	-	-	-	-	-
14.P1.14	Pastırma	+	c	-	±	+	+	+	+	-	+	+	-	Al/Al	-	-	-	-	-
16.P1.16	Pastırma	+	r	-	+	+	-	+	±	±	±	-	-	As/As	-	-	-	-	-
19.P1.19	Pastırma	+	cr	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	Al/Al	-	-	-	-	-
24.P2.1	Pastırma	+	cr	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	As/As	-	-	-	-	-
25.P2.2	Pastırma	+	r	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	Al/As	-	-	-	-	-
27.P2.4	Pastırma	+	cr	-	+	+	±	+	+	-	-	-	-	As/As	-	-	-	+	-

Çizelge 3.9.(Devam) Et ve Et Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin İdentifikasyon Test Sonuçları. (+: pozitif, -: negatif, D/Y: dip/yüzey, ±: belirsiz)

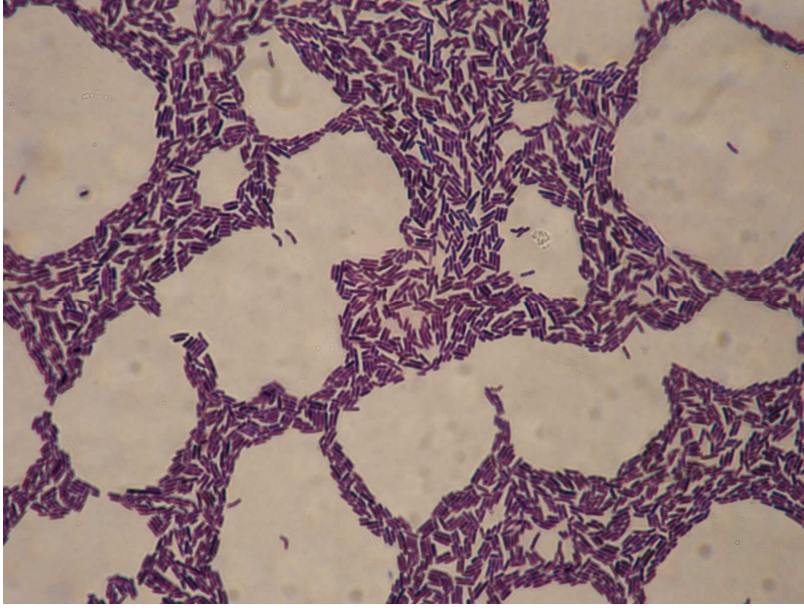
İzolat numarası	Temin Edildiği Ürün	Gram Boyama	Hücre Morfolojisi	Katalaz	4 °C' de gelişim	15 °C' de gelişim	45 °C' de gelişim	% 6,5 NaCl 'de gelişim	% 7,0 NaCl 'de gelişim	% 10 NaCl 'de gelişim	Arjininden NH ₃ Oluşumu	pH: 3,9' da gelişim	H ₂ S üretimi			EPS Üretimi (Glukoz)	EPS Üretimi (Fruktoz)	EPS Üretimi (Sukroz)	EPS Üretimi (Laktoz)
													H ₂ S	D/Y	Gaz				
28.P2.5	Pastırma	+	r	-	-	+	-	-	-	-	±	+	-	Al/As	-	-	-	-	-
32.P2.9	Pastırma	+	cr	-	±	+	±	+	-	-	+	-	-	Al/Al	-	-	-	-	-
48.P3.3	Pastırma	+	c	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	As/As	-	+	-	-	-
49.P3.4	Pastırma	+	r	-	±	+	-	-	-	-	-	±	-	As/As	-	-	-	-	-
51.P3.6	Pastırma	+	cr	-	+	+	-	+	+	±	-	-	-	As/As	-	+	-	-	-
67.P3.22	Pastırma	+	cr	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	As/Al	-	+	-	-	-
97.P4.28	Pastırma	+	c	-	-	±	+	±	-	-	+	-	-	Al/Al	-	-	-	-	-
98.P4.29	Pastırma	+	c	-	-	+	+	+	+	±	+	+	-	As/As	-	-	-	-	-
99.P4.30	Pastırma	+	c	-	-	+	+	±	-	-	+	-	-	Al/Al	-	-	-	-	-
144.P5.1	Pastırma	+	r	-	-	+	-	-	-	-	±	±	-	Al/As	-	-	-	-	-
145.P5.2	Pastırma	+	c	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	Al/Al	-	-	-	-	-
146.P5.3	Pastırma	+	r	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	Al/Al	-	-	-	-	-
147.P5.4	Pastırma	+	r	-	-	+	-	-	-	-	-	±	-	Al/Al	-	-	-	-	-

Çizelge 3.9.(Devam) Et ve Et Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin İdentifikasyon Test Sonuçları. (+: pozitif, -: negatif, D/Y: dip/yüzey, ±: belirsiz)

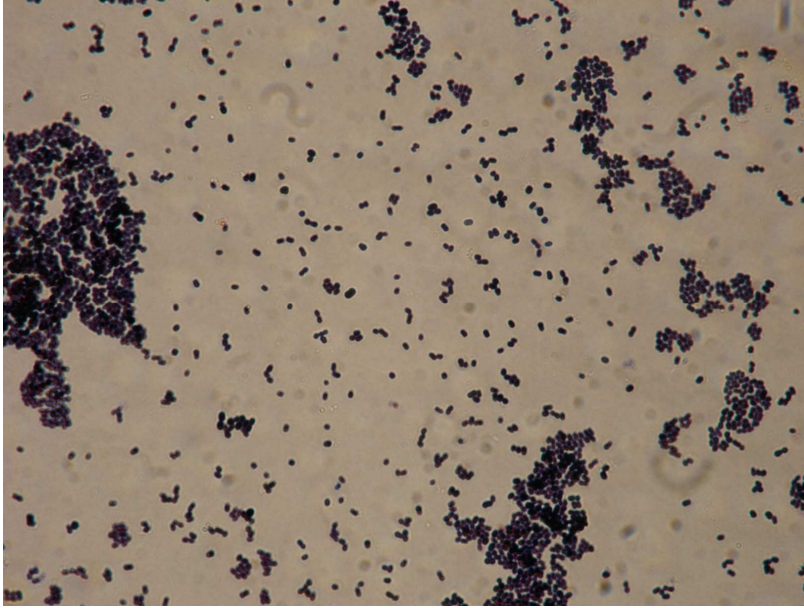
İzolat numarası	Temin Edildiği Ürün	Gram Boyama	Hücre Morfolojisi	Katalaz	4 °C' de gelişim	15 °C' de gelişim	45 °C' de gelişim	% 6,5 NaCl 'de gelişim	% 7,0 NaCl 'de gelişim	% 10 NaCl 'de gelişim	Arjininden NH ₃ Oluşumu	pH: 3,9' da gelişim	H ₂ S üretimi			EPS Üretimi (Glikoz)	EPS Üretimi (Fruktoz)	EPS Üretimi (Sukroz)	EPS Üretimi (Laktöz)
													H ₂ S	D/Y	Gaz				
148.P5.5	Pastırma	+	r	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	Al/Al	-	-	-	+	-
149.P6.2	Pastırma	+	r	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	As/As	-	-	-	-	-
150.P6.3	Pastırma	+	r	-	±	±	+	±	-	-	+	-	-	As/As	-	-	-	-	-
151.P6.4	Pastırma	+	r	-	+	+	-	+	+	±	-	+	-	As/As	-	-	-	-	-
152.P6.5	Pastırma	+	r	-	+	+	±	+	+	-	-	+	-	As/As	-	-	-	-	-
154.P7.2	Pastırma	+	r	-	+	+	-	±	-	-	+	+	-	Al/Al	-	-	-	-	+
156.P7.8	Pastırma	+	r	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	As/As	-	-	-	-	-
157.P7.4	Pastırma	+	r	-	±	+	-	+	+	-	+	+	-	As/As	-	-	-	+	-
159.P7.6	Pastırma	+	r	-	+	+	-	±	-	-	+	-	-	As/As	-	-	-	-	-
160.P5.5	Pastırma	+	r	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	As/As	-	-	-	-	-
161.P5.6	Pastırma	+	r	-	+	+	±	+	-	-	+	-	-	As/As	-	-	-	-	-
163.P5.7	Pastırma	+	r	-	+	+	±	+	-	-	+	+	-	As/As	-	-	-	-	-
163.P5.8	Pastırma	+	r	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	Al/Al	-	-	-	+	-

Çizelge 3.9.(Devam) Et ve Et Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin İdentifikasyon Test Sonuçları. (+: pozitif, -: negatif, D/Y: dip/yüzey, ±: belirsiz)

İzolat numarası	Temin Edildiği Ürün	Gram Boyama	Hücre Morfolojisi	Katalaz	4 °C' de gelişim	15 °C' de gelişim	45 °C' de gelişim	% 6,5 NaCl ' de gelişim	% 7,0 NaCl ' de gelişim	% 10 NaCl ' de gelişim	Arjinden NH ₃ Oluşumu	pH: 3,9' da gelişim	H ₂ S üretimi			EPS Üretimi (Glikoz)	EPS Üretimi (Fruktoz)	EPS Üretimi (Sukroz)	EPS Üretimi (Laktöz)
													H ₂ S	D/Y	Gaz				
164.P6.6	Pastırma	+	cr	-	-	±	±	+	-	-	+	-	-	As/As	-	-	-	-	-
165.P5.8	Pastırma	+	r	-	-	+	±	+	-	-	+	+	-	As/As	-	+	-	+	-
166.P6.8	Pastırma	+	r	-	-	+	-	±	-	-	+	-	-	As/As	-	-	-	-	-
167.P5.9	Pastırma	+	cr	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	As/As	-	-	-	+	-
168.P6.10	Pastırma	+	c	-	-	+	+	+	±	-	+	-	-	As/As	-	-	-	-	-
169.P6.11	Pastırma	+	c	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	As/As	-	-	-	+	-
171.P7.8	Pastırma	+	cr	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-		-	-	-	-	-
172.P7.9	Pastırma	+	r	-	±	+	-	-	-	-	+	+	-	As/As	-	-	-	-	-
220.K1.9	Kıyma	+	c	-	±	+	-	+	+	-	+	+	-	Al/Al	-	-	-	+	-
235.S2.2A	Sucuk	+	c	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Al/Al	-	-	-	-	-
277.S3.11	Sucuk	+	c	-	-	±	+	+	+	-	+	+	-	Al/Al	-	-	-	-	-
294.S4.14	Sucuk	+	c	-	-	±	+	+	-	-	+	+	-	As/As	-	-	-	+	+
299.S4.19	Sucuk	+	c	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	As/As	-	-	-	-	-



Şekil 3.9. 149.P2.6 (*Lactobacillus plantarum*), izolatının ışık mikroskopunda görüntüsü. Büyütme; 100X, Boyama yöntemi; gram boyama.



Şekil 3.10. 29.P2.6 (*Enterococcus faecium*), izolatının ışık mikroskopunda görüntüsü. Büyütme; 100X, Boyama yöntemi; gram boyama.

Çizelge 3.10.a. EPS Üretimi İçin Seçilen İzolatların Sukroz İçeren Ortamda Viskoziteleri

İzolat Numarası	Sukroz için standart 48 saat sonra			Sukroz için standart 72 saat sonra			
	rpm	Viskozite mpas.sn	Doğruluk	rpm	Viskozite mpas.sn	Doğruluk	
		200	1,95	%69	200	1,99	%70
		100	1,28	%22	100	1,29	%22
	60	1,08	%12	60	1,07	%11	
10.P1.10	200	2,06	%72	200	2,01	%71	
	100	1,28	%22	100	1,29	%22	
	60	1,17	%12	60	1,16	%12	
27.P2.4	200	2,02	%71	200	2,01	%70	
	100	1,31	%23	100	1,31	%22	
	60	1,11	%11	60	1,10	%11	
67.P3.22	200	2,03	%72	200	2,00	%70	
	100	1,31	%23	100	1,30	%22	
	60	1,12	%11	60	1,13	%11	
148.P6.1	200	2,11	%74	200	2,07	%73	
	100	2,24	%21	100	1,25	%22	
	60	1,24	%12	60	1,23	%12	
157.P7.4	200	2,48	%87	200	2,48	%86	
	100	2,52	%43	100	2,38	%40	
	60	2,70	%27	60	2,52	%25	
163.P5.8	200	2,53	%88	200	2,54	%86	
	100	2,09	%36	100	1,94	%33	
	60	2,16	%22	60	2,05	%20	
169.P6.11	200	2,01	%71	200	2,01	%70	
	100	1,29	%22	100	1,29	%22	
	60	1,13	%11	60	1,12	%11	

Çizelge 3.10.a. (Devam)

EPS Üretimi İçin Seçilen İzolatların Sukroz İçeren Ortamda Viskoziteleri

İzolat Numarası	Sukroz için standart 24 saat sonra			Sukroz için standart 48 saat sonra			
	rpm	Viskozite mpas.sn	Doğruluk	rpm	Viskozite mpas.sn	Doğruluk	
		200	1,95	%69	200	1,99	%70
		100	1,28	%22	100	1,29	%22
		60	1,08	%12	60	1,07	%11
	200	2,01	%71	200	2,01	%70	
220.K1.9	100	1,30	%22	100	1,34	%22	
	60	1,13	%11	60	1,08	%11	
	200	2,15	%76	200	2,31	%81	
294.S4.14	100	1,39	%24	100	1,61	%28	
	60	1,43	%14	60	1,65	%16	

Çizelge 3.10.b. EPS Üretimi İçin Seçilen İzolatların Glikoz İçeren Ortamda Viskoziteleri

İzolat Numarası	Glikoz için standart 24 saat sonra			Glikoz için standart 48 saat sonra			
	rpm	Viskozite mpas.sn	Doğruluk	rpm	Viskozite mpas.sn	Doğruluk	
		200	1,98	%70	200	1,97	%70
		100	1,26	%22	100	1,27	%22
		60	1,07	%11	60	1,07	%11
	200	2,00	%70	200	2,00	%70	
51.P3.6	100	1,28	%22	100	1,28	%22	
	60	1,12	%11	60	1,12	%11	
	200	2,00	%71	200	2,00	%70	
67.P3.22	100	1,29	%22	100	1,28	%22	
	60	1,11	%12	60	1,10	%11	

Çizelge 3.10.c. EPS Üretimi İçin Seçilen İzolatların Laktoz İçeren Ortamda Viskoziteleri

İzolot Numarası	Laktoz için standart 24 saat sonra			Laktoz için standart 48 saat sonra		
	rpm	Viskozite mpas.sn	Doğruluk	rpm	Viskozite mpas.sn	Doğruluk
	200	2,00	%71	200	1,98	%71
	100	1,32	%23	100	1,29	%22
60	1,11	%11	60	1,11	%11	
154.P7.22	200	2,03	%72	200	2,00	%71
	100	2,42	%41	100	1,33	%23
	60	1,11	%10	60	1,13	%11
294.S4.14	200	2,04	%72	200	1,98	%70
	100	1,33	%23	100	1,32	%22
	60	1,13	%11	60	111	%11

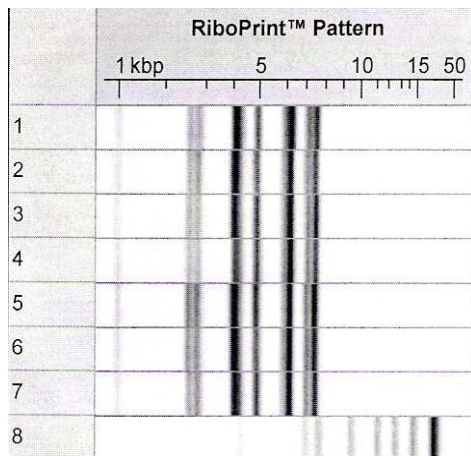
İzolatların EPS üretimi ile ilgili yapılan çalışmalarda, EPS üretiminin zayıf olduğu bulunmuştur. İzolatların fruktoz şekeri bulunan ortamda hiçbirinin EPS üretmediği gözlemlenmiştir. Glikoz içeren ortamda seçilen örneklerden yalnızca 4 tanesi, laktoz içeren ortamda ise yalnızca 2 tanesinin EPS üretme ihtimalinin olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmada izolatların EPS üretimini en çok destekleyen şeker kaynağının sukroz içeren ortam olduğu bulunmuştur. Farklı şeker içeren agar petriyelerinde yapılan çalışma sonucunda EPS üretme ihtimali olduğu düşünülen izolatların (sukroz içeren ortamda 9 izolat, glikoz içeren ortamda 2 izolat, laktoz içeren ortamda 2 izolat) viskozitemetre yardımı ile ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen viskozite ölçümleri çizelge 3.10. a, 3.10.b. ve 3.10.c'de gösterilmiştir.

Yapılan çalışma sonucunda izolatların viskoziteleri yüksek bulunmamıştır. 48 ve 72 saat sonrasında sonuçlarda büyük bir değişim görülmezken, en yüksek değere sahip izolat olarak 163.P5.8 bulunmuştur.

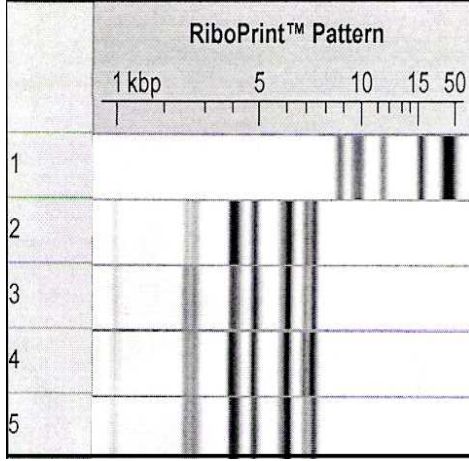
3.6. Laktik Asit Bakteri İzolatlarını Riboprinter Sistem İle Tanımlanması

Riboprinter sistem ile yapılan tanımlamalar sonucunda seçilmiş olan izolatlardan 6 tanesi *Lactobacillus sakei* (5.P1.5, 8.P1.8, 10.P1.10, 11.P1.11, 12.P1.12 ve 28.P2.5), 20 tanesi *Lactobacillus plantarum* (9.P1.9, 16.P1.16, 25.P2.2, 51.P3.6, 67.P3.22, 148.P5.5, 149.P6.2, 150.P6.3, 151.P6.4, 152.P6.5, 154.P7.2, 157.P7.4, 159.P7.6, 160.P5.5, 161.P5.6, 163.P5.7, 164.P6.6, 166.P6.8 167.P6.9 ve 172.P7.9), 1 tanesi *Lactobacillus reuteri* (49.P3.4), 5 tanesi *Pediococcus acidilactici* (13.P1.13, 14.P1.14, 48.P3.3, 98.P4.29 ve 235.S2.2A), 2 tanesi *Weissella hellenica* (27.P2.4 ve 32.P2.9), 3 tanesi *Weissella viridescens* (144.P5.1, 146.P5.3 ve 147.P5.4), 3 tanesi *Weissella confusa* (163.P5.8, 171.P7.8 ve 294.S4.14), 1 tanesi *Leuconostoc citreum* (220.K1.9), 1 tanesi *Leuconostoc sp.* (24.P2.1), 8 tanesi *Enterococcus faecium* (29.P2.6, 97.P4.28, 99.P4.30, 145.PP5.2, 168.P6.8, 169.P6.11, 294.S4.19, 299.SS4.19) olarak bulunmuştur.

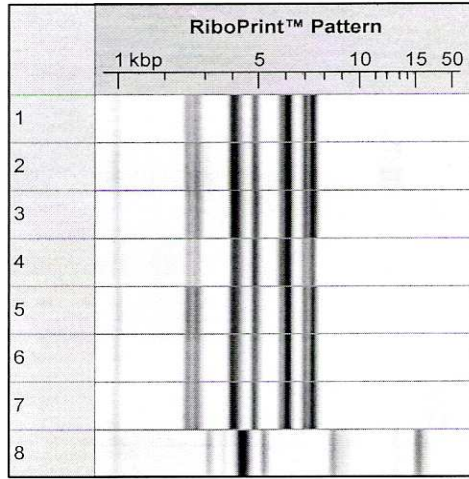
Laktik asit bakterilerinin ribotiplendirme sistemi ile ve API CHL50 kitleri ile tanımlanması sonucunda elde edilen türler Çizelge 3.11. de gösterilmiştir. Ayrıca riboprinter sistemi ile yapılan çalışma sonucunda elde edilen bant profilleri Şekil 3.11., Şekil 3.12., Şekil 3.13., Şekil 3.14., Şekil 3.15., Şekil 3.16. ve Şekil 3.17.de gösterilmiştir.



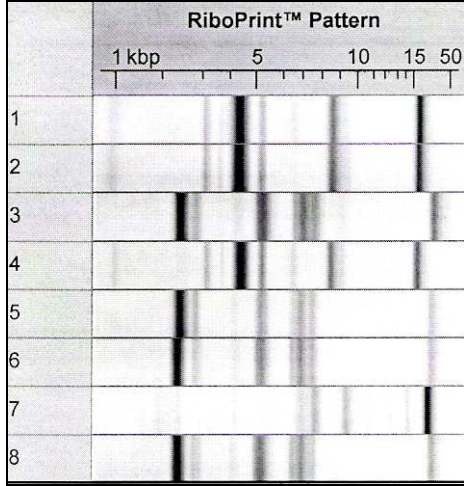
Şekil 3.11 Laktik asit bakteri izolatlarının Riboprinter sistemi ile tür düzeyinde tanımlanması. Şekil üzerinde 1: 9.P1.9, 2: 164.P6.6, 3: 161.P5.6, 4: 167.P6.9, 5: 172.P7.9, 6: 160.P5.5, 7: 162.P5.7, 8: 163.P5.8.



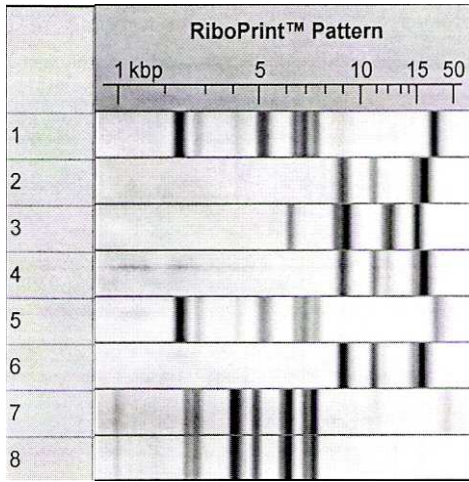
Şekil 3.12 Laktik asit bakteri izolatlarının Riboprinter sistemi ile tür düzeyinde tanımlanması. Şekil üzerinde 1: 49.P3.4, 2: 25.P2.2, 3: 16.P1.16, 4: 67.P3.22, 5: 166.P6.8



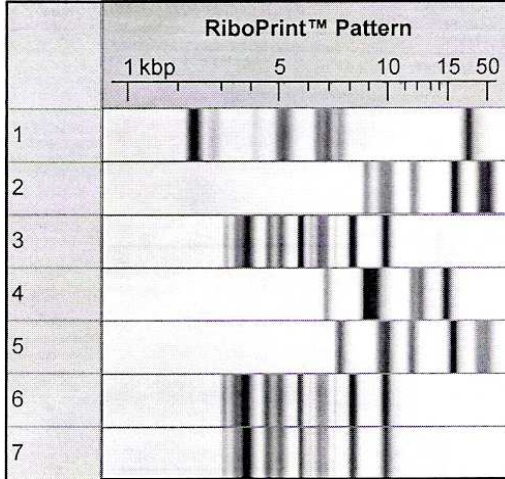
Şekil 3.13 Laktik asit bakteri izolatlarının Riboprinter sistemi ile tür düzeyinde tanımlanması. Şekil üzerinde 1: 51.P3.6, 2: 150.P6.3, 3: 151.P6.4, 4: 152.P6.5, 5: 154.P7.2, 6: 157.P7.4, 7: 159.P7.6, 8: 235.S2.2A



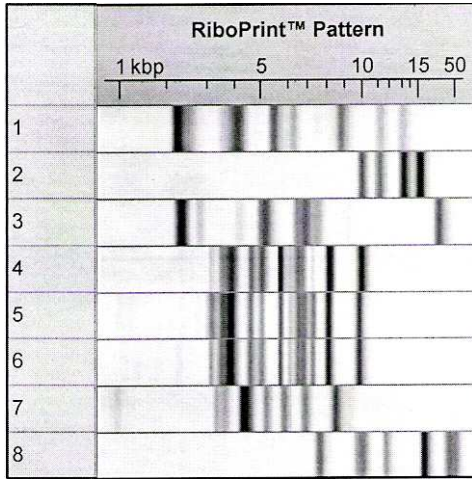
Şekil 3.14 Laktik asit bakteri izolatlarının Riboprinter sistemi ile tür düzeyinde tanımlanması. Şekil üzerinde 1: 13.P1.13, 2: 14.P1.14, 3: 97.P4.28, 4: 98.P4.29, 5: 99.P4.30, 6: 277.S3.11, 7: 294.S4.14, 8: 299.S4.19



Şekil 3.15 Laktik asit bakteri izolatlarının Riboprinter sistemi ile tür düzeyinde tanımlanması. Şekil üzerinde 1: 169.P6.11, 2: 146.P5.3, 3: 156.P7.3, 4: 144.P5.1, 5: 145.P5.2, 6: 147.P5.4, 7: 149.P6.2, 8: 148.P6.1



Şekil 3.16 Laktik asit bakteri izolatlarının Riboprinter sistemi ile tür düzeyinde tanımlanması. Şekil üzerinde 1: 29.P2.6, 2: 24.P2.1, 3: 11.P1.11, 4: 171.P7.8, 5: 32.P2.9, 6: 12.P1.12, 7: 10.P1.10



Şekil 3.17 Laktik asit bakteri izolatlarının Riboprinter sistemi ile tür düzeyinde tanımlanması. Şekil üzerinde 1: 19.P1.19, 2: 220.K1.9, 3: 168.P6.10, 4: 8.P1.8, 5: 5.P1.5, 6: 28.P2.5, 7: 48.P3.3, 8: 27.P2.4

Çizelge 3.11. Laktik Asit Bakteri İzolatlarının Riboprinter Sistem İle Tanımlanması

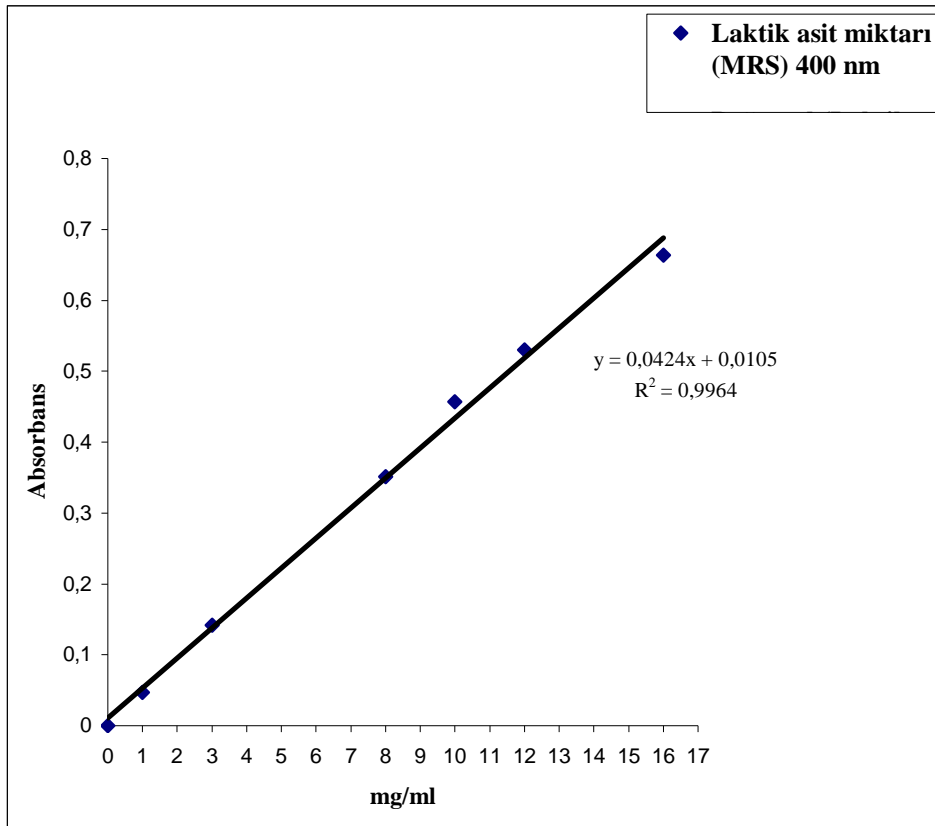
İzolat numarası	Tanımlanan tür		İzolat numarası	Tanımlanan tür	
	Ribotiping	API CHL50		Ribotiping	API CHL50
5.P1.5	<i>L. sakei</i>	<i>L. fermentum</i>	147.P5.4	<i>W. viridescens</i>	<i>L. plantarum</i>
8.P1.8	<i>L. sakei</i>	<i>L. mesenteroides</i>	148.P5.5	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i>
9.P1.9	<i>L. plantarum</i>	<i>L. fermentum</i>	149.P6.2	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i>
10.P1.10	<i>L. sakei</i>	<i>L. fermentum</i>	150.P6.3	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i>
11.P1.11	<i>L. sakei</i>	<i>L. mesenteroides</i>	151.P6.4	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i>
12.P1.12	<i>L. sakei</i>	<i>Leuconostoc</i>	152.P6.5	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i>
13.P1.13	<i>P. acidilactici</i>	<i>P. pentosaceus</i>	154.P7.2	<i>L. plantarum</i>	<i>L. delbrueckii</i>
14.P1.14	<i>P. acidilactici</i>	<i>L. lactis</i>	156.P7.3	<i>S. dysgalactice</i>	<i>L. delbrueckii</i>
16.P1.16	<i>L. plantarum</i>	<i>L. lactis</i>	157.P7.4	<i>L. plantarum</i>	<i>L. delbrueckii</i>
19.P1.19	<i>Bacillus</i>	<i>L. collinoides</i>	159.P7.6	<i>L. plantarum</i>	<i>L. mesenteroides</i>
24.P2.1	<i>Leuconostoc</i>	<i>L. cellobiosis</i>	160.P5.5	<i>L. plantarum</i>	<i>L. lactis</i>
25.P2.2	<i>L. plantarum</i>	<i>L. mesenteroides</i>	161.P5.6	<i>L. plantarum</i>	<i>L. fermentum</i>
27.P2.4	<i>W. hellenica</i>	<i>L. mesenteroides</i>	163.P5.7	<i>L. plantarum</i>	<i>L. brevis</i>
28.P2.5	<i>L. sakei</i>	<i>L. lactis</i>	163.P5.8	<i>W. confusa</i>	<i>L. pentosus</i>
29.P2.6	<i>E. faecium</i>	-	164.P6.6	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i>
32.P2.9	<i>W. hellenica</i>	<i>L. mesenteroides</i>	166.P6.8	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i>
48.P3.3	<i>P. acidilactici</i>	<i>Leuconostoc</i>	167.P6.9	<i>L. plantarum</i>	<i>L. fermentum</i>
49.P3.4	<i>L. reuteri</i>	<i>L. mesenteroides</i>	168.P6.10	<i>E. faecium</i>	<i>L. plantarum</i>
51.P3.6	<i>L. plantarum</i>	<i>L. mesenteroides</i>	169.P6.11	<i>E. faecium</i>	<i>P. pentosaceus</i>
67.P3.22	<i>L. plantarum</i>	<i>L. mesenteroides</i>	171.P7.8	<i>W. confusa</i>	<i>L. pentosus</i>
97.P4.28	<i>E. faecium</i>	<i>L. plantarum</i>	172.P7.9	<i>L. plantarum</i>	<i>L. pentosus</i>
98.P4.29	<i>P. acidilactici</i>	<i>L. plantarum</i>	220.K1.9	<i>L. citreum</i>	<i>P. pentosaceus</i>
99.P4.30	<i>E. faecium</i>	<i>L. plantarum</i>	235.S2.2A	<i>P. acidilactici</i>	<i>P. pentosaceus</i>
144.P5.1	<i>W. viridescens</i>	<i>L. plantarum</i>	277.S3.11	<i>E. faecium</i>	<i>P. pentosaceus</i>
145.P5.2	<i>E. faecium</i>	<i>L. plantarum</i>	294.S4.14	<i>W. confusa</i>	<i>L. pentosus</i>
146.P5.3	<i>W. viridescens</i>	<i>L. curvatus</i>	299.S4.19	<i>E. faecium</i>	<i>L. pentosus</i>

3.7. Et ve Et Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakteri İzolatlarının pH ve Metabolik Ürünlerinin Tespiti

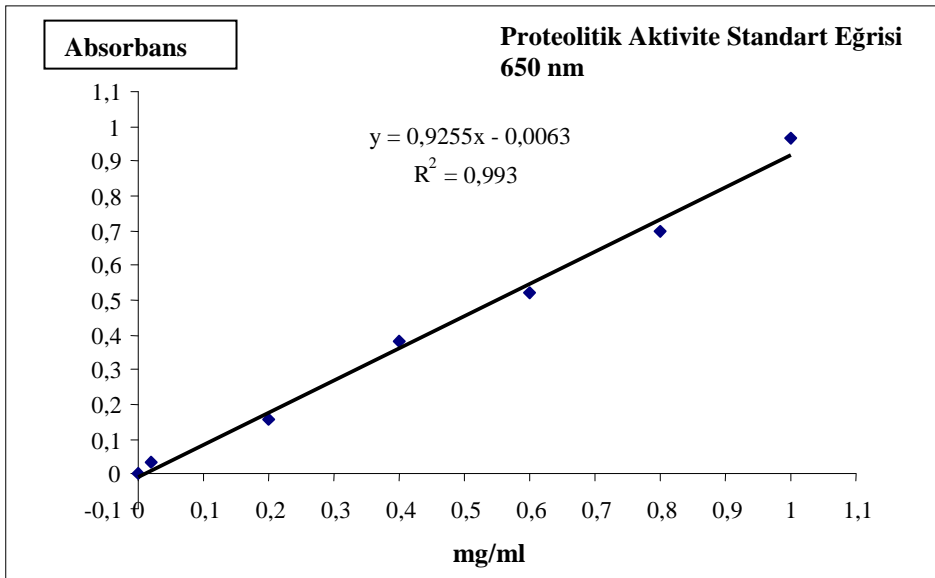
Et ve et ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin pH, laktik asit miktarı, proteolitik aktivite ve hidrojen peroksit üretim miktarı sonuçları Çizelge 3.12.' de gösterilmiştir. Ayrıca Şekil 3.18.' de laktik asit miktar belirlenmesi için kullanılan standart eğri, Şekil 3.19.' da proteolitik aktivite belirlenmesi için kullanılan standart eğri, Şekil 3.20.' de hidrojen peroksit üretiminin belirlenmesi için kullanılan standart eğri gösterilmiştir. Laktik asit miktarı ve proteolitik aktivite miktarı belirlenmesinde birim olarak mg/ml kullanılırken Hidrojen peroksit miktarı belirlenmesinde $\mu\text{g/ml}$ kullanılmıştır.

Yapılan çalışmada izolatların genel olarak proteolitik aktivite miktarlarının düşük olduğu, laktik asit ve hidrojen peroksit üretim miktarlarının yüksek olduğu gözlemlenmiştir.

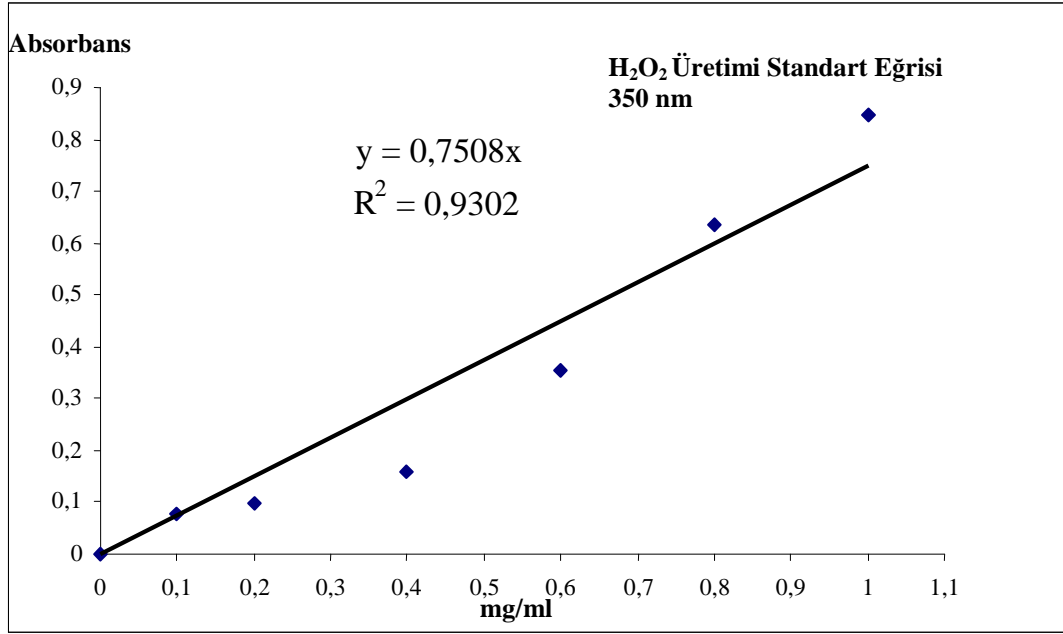
Yapılan çalışmada izolatların pH aralığı 3,78 – 5,31 bulunmuştur. İzolatların laktik asit miktarları 1,36 – 22,96 mg/ml arasında bulunurken 148.P5.5 numaralı izolat en yüksek ve 24.P2.1 numaralı izolat en düşük laktik asit miktarına sahip örnek olarak belirlenmiştir. İzolatların proteolitik aktivite miktarları 0,001 – 0,487 mg/ml arasında bulunurken, 48.P3.3. numaralı izolat en yüksek ve 149.P6.2. numaralı izolat en düşük proteolitik aktiviteye sahip örnek olarak belirlenmiştir. İzolatların hidrojen peroksit üretim miktarları 0,001 – 1,082 $\mu\text{g/ml}$ arasında bulunurken 27.P2.4 numaralı izolat en yüksek ve 147.P5.4 numaralı izolat en düşük hidrojen peroksit miktarına sahip örnek olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.12.).



Şekil 3.18. Laktik Asit Miktarı Standart Eğrisi (MRS 400nm)



Şekil 3.19. Proteolitik Aktivite Standart Eğrisi (650 nm)



Şekil 3.20. Hidrojen Peroksit Üretimi Standart Eğrisi (350 nm)

Çizelge 3.12. Et ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakteri İzolatlarının pH ve Metabolik Ürünlerinin Miktarı

İzolatlar	pH	Laktik Asit Miktarı mg/ml	Proteolitik Aktivite Miktarı Tirozin mg/ml	Hidrojen Peroksit Miktarı µg/ml
5.P1.5	4,18	14,840 ± 0,002	0,042 ± 0,011	0,032 ± 0,018
8.P1.8	4,18	16,090 ± 0,002	0,240 ± 0,014	0,984 ± 0,095
9.P1.9	4,20	17,170 ± 0,004	0,230 ± 0,056	1,080 ± 0,0456
10.P1.10	4,20	20,960 ± 0,010	0,090 ± 0,0370	1,019 ± 0,099
11.P1.11	3,98	15,820 ± 0,230	0,080 ± 0,020	0,961 ± 0,349
12.P1.12	4,01	16,260 ± 0,020	0,080 ± 0,072	0,170 ± 0,0652
13.P1.13	4,45	17,440 ± 0,008	0,010 ± 0,018	0,268 ± 0,0963
14.P1.14	3,78	8,820 ± 0,018	0,028 ± 0,019	0,001 ± 0,042
16.P1.16	4,09	16,090 ± 0,024	0,013 ± 0,008	1,059 ± 0,021
19.P1.19	4,16	19,810 ± 0,150	0,167 ± 0,005	0,998 ± 0,058
24.P2.1	4,44	1,360 ± 0,0148	0,365 ± 0,034	1,081 ± 0,037
25.P2.2	4,51	18,160 ± 0,001	0,008 ± 0,004	1,068 ± 0,158
27.P2.4	4,53	20,440 ± 0,003	0,042 ± 0,036	1,082 ± 0,0419
28.P2.5	4,27	17,320 ± 0,010	0,043 ± 0,010	0,046 ± 0,065
32.P2.9	4,44	21,300 ± 0,007	0,043 ± 0,005	0,950 ± 0,050

Çizelge 3.12. (Devam) Et ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakteri İzolatlarının pH ve Metabolik Ürünlerinin Miktarı

İzolatlar	pH	Laktik Asit Miktarı mg/ml	Proteolitik Aktivite Miktarı Tirozin mg/ml	Hidrojen Peroksit Miktarı µg/ml
48.P3.3	4,78	19,280 ± 0,003	0,487 ± 0,055	1,080 ± 0,022
49.P3.4	4,30	11,650 ± 0,030	0,033 ± 0,013	0,041 ± 0,083
51.P3.6	4,34	11,440 ± 0,005	0,074 ± 0,024	1,033 ± 0,064
67.P3.22	4,29	10,310 ± 0,006	0,122 ± 0,040	0,991 ± 0,039
97.P4.28	4,45	8,270 ± 0,004	0,160 ± 0,080	0,538 ± 0,027
98.P4.29	3,83	9,150 ± 0,0348	0,021 ± 0,061	0,105 ± 0,022
99.P4.30	4,50	14,410 ± 0,002	0,340 ± 0,132	0,492 ± 0,143
144.P5.1	4,30	16,180 ± 0,003	0,027 ± 0,010	0,081 ± 0,098
145.P5.2	4,34	11,100 ± 0,003	0,094 ± 0,035	0,027 ± 0,038
146.P5.3	4,24	11,700 ± 0,006	0,108 ± 0,031	0,163 ± 0,024
147.P5.4	4,29	10,340 ± 0,042	0,110 ± 0,044	0,001 ± 0,041
148.P5.5	3,80	22,960 ± 0,003	0,079 ± 0,038	0,105 ± 0,038
149.P6.2	3,79	19,050 ± 0,020	0,001 ± 0,010	0,905 ± 0,120
150.P6.3	3,93	19,740 ± 0,001	0,445 ± 0,072	1,044 ± 0,091
151.P6.4	3,78	20,580 ± 0,015	0,168 ± 0,017	1,035 ± 0,014
152.P6.5	3,78	17,020 ± 0,040	0,153 ± 0,038	1,032 ± 0,017
154.P7.2	4,25	13,990 ± 0,004	0,470 ± 0,075	1,082 ± 0,088
156.P7.8	4,26	17,910 ± 0,016	0,340 ± 0,061	0,915 ± 0,065
157.P7.4	4,27	9,340 ± 0,004	0,182 ± 0,054	1,073 ± 0,032
159.P7.6	4,14	17,230 ± 0,010	0,514 ± 0,099	1,077 ± 0,024
160.P5.5	4,20	15,070 ± 0,011	0,240 ± 0,063	1,005 ± 0,029
161.P5.6	4,21	13,990 ± 0,004	0,003 ± 0,012	1,037 ± 0,014
163.P5.7	4,26	10,640 ± 0,006	0,037 ± 0,021	1,003 ± 0,004
163.P5.8	4,23	10,720 ± 0,010	0,106 ± 0,014	0,074 ± 0,073
164.P6.6	4,64	21,370 ± 0,012	0,008 ± 0,010	1,055 ± 0,033
165.P5.8	4,28	11,910 ± 0,103	0,011 ± 0,024	0,108 ± 0,084
166.P6.8	4,26	13,140 ± 0,00238	0,320 ± 0,027	1,010 ± 0,066
167.P5.9	4,26	15,650 ± 0,003	0,440 ± 0,031	1,001 ± 0,047
168.P6.10	4,54	20,170 ± 0,018	0,041 ± 0,025	1,035 ± 0,099
169.P6.11	4,05	11,780 ± 0,006	0,060 ± 0,029	1,034 ± 0,111
171.P7.8	4,24	10,850 ± 0,006	0,032 ± 0,017	0,858 ± 0,082
172.P7.9	4,34	10,980 ± 0,008	0,392 ± 0,035	0,975 ± 0,049

Çizelge 3.12. (Devam) Et ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakteri İzolatlarının pH ve Metabolik Ürünlerinin Miktarı

İzolatlar	pH	Laktik Asit Miktarı mg/ml	Proteolitik Aktivite Miktarı Tirozin mg/ml	Hidrojen Peroksit Miktarı µg/ml
220.K1.9	5,31	11,110 ± 0,002	0,038 ±0,023	0,138 ± 0,109
235.S2.2A	3,90	18,880 ± 0,015	0,061 ±0,028	0,985 ± 0,100
277.S3.11	4,22	7,720 ± 0,010	0,007 ±0,077	0,456 ± 0,054
294.S4.14	4,56	8,850 ± 0,005	0,079 ±0,13	0,233 ± 0,021
299.S4.19	4,46	10,260 ± 0,012	0,069 ±0,098	0,085 ± 0,009

3.8. Antibiyotik Duyarlılık Testi Sonuçları

Et ve et ürünlerinden izole edilerek seçilmiş olan 52 izolatın antibiyotik duyarlılık testi sonuçları Çizelge 3.13' de gösterilmiştir. Çalışma için Seftriakson, Siprofloksasin, Penisilin- G, Gentamisin ve Netilmisin Sülfat olmak üzere 5 farklı antibiyotik kullanılmıştır.

Yapılan çalışma sonucunda izolatların direnç ve duyarlılık durumları kültürden kültüre değişiklik göstermekle birlikte, izolatların genel olarak Seftriakson' a karşı dirençli oldukları Siprofloksasin, Penisilin- G, Gentamisin ve Netilmisin Sülfat' a ise çoğu izolatın duyarlı olduğu bulunmuştur. İzolatlardan 146.P5.3, 49.P3.4, 277.S3.11, 294.S4.14 ve 299.S4.19 kullanılan tüm antibiyotiklere karşı yüksek derecede duyarlı bulunurken; 9.P1.9, 19.P1.19 ve 161.P5.6 numaralı izolatlar hemen hemen kullanılan tüm antibiyotiklere karşı oldukça dirençli bulunmuşlardır (Çizelge 3.13.).

Çizelge 3.13. Antibiyotik Duyarlılık Testi Sonuçları (Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. R: dirençli, S: duyarlı)

İzolatlar	Siprofloksasin	Penisilin- G	Gentamisin	Netilmisin Sülfat	Seftriakson
5.P1.5	16	20	20	18	R
8.P1.8	16	18	20	16	R
9.P1.9	R	R	R	15	R

Çizelge 3.13. (Devam) Antibiyotik Duyarlılık Testi Sonuçları (Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. R: dirençli, S: duyarlı).

İzolatlar	Siprofloksasin	Penisilin- G	Gentamisin	Netilmisin Sülfat	Seftriakson
10.P1.10	14	15	R	15	R
11.P1.11	32	27	25	25	15
12.P1.12	13	11	12	12	R
13.P1.13	18	30	26	25	R
14.P1.14	18	25	20	18	R
16.P1.16	16	21	R	12	R
19.P1.19	R	15	R	R	R
24.P2.1	20	20	21	20	14
25.P2.2	20	24	30	26	20
27.P2.4	24	26	25	30	11
28.P2.5	30	13	20	24	R
32.P2.9	20	28	21	20	15
48.P3.3	24	30	25	27	17
49.P3.4	S	S	S	S	S
51.P3.6	21	25	25	25	14
67.P3.22	16	22	17	17	R
97.P4.28	25	26	20	17	15
98.P4.29	15	25	20	22	R
99.P4.30	S	28	20	R	R
144.P5.1	15	20	22	18	R
145.P5.2	15	22	17	18	15
146.P5.3	S	S	S	S	S
147.P5.4	12	20	20	15	R
148.P5.5	14	18	16	18	R
149.P6.2	13	20	25	25	R
150.P6.3	32	33	23	21	11
151.P6.4	15	21	25	22	R
152.P6.5	16	22	25	25	R
154.P7.2	20	21	23	21	11
156.P7.8	15	20	21	18	15
157.P7.4	20	22	24	22	11
159.P7.6	15	25	26	25	R

Çizelge 3.13. (Devam) Antibiyotik Duyarlılık Testi Sonuçları (Sonuçlar mm cinsinde verilmiştir. R: dirençli, S: duyarlı).

İzolatlar	Siprofloksasin	Penisilin- G	Gentamisin	Netilmisin Sülfat	Seftriakson
160.P5.5	R	30	26	23	R
161.P5.6	15	R	R	R	R
163.P5.7	12	17	16	14	12
163.P5.8	15	25	16	15	R
164.P6.6	20	30	15	15	R
166.P6.8	30	30	20	16	R
167.P5.9	15	18	R	R	R
168.P6.10	26	27	17	16	R
169.P6.11	35	30	28	25	17
171.P7.8	13	22	15	12	10
172.P7.9	12	21	16	15	11
220.K1.9	17	24	16	16	10
235.S2.2A	R	32	25	28	R
277.S3.11	S	S	S	S	S
294.S4.14	S	S	S	S	S
299.S4.19	S	S	S	S	S

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Firmicutes filumuna ait çeşitli bakteri cinslerini kapsayan laktik asit bakterileri; gram pozitif, katalaz negatif, spor oluşturmeyen, aerotolerant mikroorganizmalardan oluşmaktadır. Daha çok *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* ve *Weisella* cinsleri ile tanınan laktik asit bakterileri günümüzde çeşitli fermente gıdaların üretiminde kullanılmaları dolayısıyla yoğun ilgi görmektedir (Beasley, 2004; Madigan ve Matrinko, 2006). Çalışmamızda çok çeşitli ortamlarda bulunabilen laktik asit bakterilerinin et ve et ürünlerinden izolasyonu, tanımlanması ve elde edilen strainlerin bakteriyosin ya da bakteriyosin benzeri madde üretimi araştırılmıştır. Çalışma için 8 farklı pastırma, 4 farklı sucuk ve 1 çeşit de kıyma örneğinden toplamda 163 adet laktik asit bakterisi izole edilmiş ve antimikrobiyal aktivite testlerine tabi tutulmuştur. Elde edilen izolatlardan 95 tanesi pastırma örneklerine, 58 tanesi sucuk örneklerine ve 10 tanesi kıyma örneğine aittir (Çizelge 3.1.).

Pastırma örneklerinde aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı $1,22 \times 10^2$ ile $2,15 \times 10^3$ kob/g arasına, maya küf sayısı ise $3,4 \times 10^1$ ile $1,5 \times 10^3$ kob/g arasında değişmiştir. Sucuk örneklerinde ise aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı 68–90 kob/g arasında, maya küf sayısı ise $1,0 \times 10^2$ ile $9,8 \times 10^2$ kob/g arasında saptanmıştır. *Bacillus cereus*'a örneklerin hiç birinde rastlanmamıştır.

Ülkemizde tüketime sunulan etlerin mikrobiyolojik açıdan analizlerinin gerçekleştirildiği bir çalışmada; İstanbul'da satışa sunulan hazır 27 kıyma örneğinde aerobik mezofilik bakteri sayısının gramda $2,7 \times 10^6$ kob, maya-küf sayısının $1,4 \times 10^5$ kob ve *Bacillus cereus* sayısının $9,5 \times 10^3$ kob olduğu bildirilmiştir (Başkaya ve ark., 2004). Yine İstanbul'da tüketime sunulan 75 hazır köfte örneğinde aerobik mezofilik bakteri sayısı $5,6 \times 10^5$ kob/g, maya-küf sayısı $9,6 \times 10^4$ kob/g olarak saptanmıştır (Yıldız ve ark., 2007). Yapılan bir başka çalışmada Apaydın ve ark. (2003), değişik firmalara ait salamların bazı mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerini inceleyerek, Erzurum piyasasından, 4 farklı firmadan elde ettikleri numunelerin %90'ında aerobik mezofilik

mikroorganizma sayısını 5 kob/g dan daha düşük, maya-küf sayısını ise 2 kob/g dan düşük bulduklarını bildirmişlerdir.

Ülkemizde Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğinin (2006), çiğ kırmızı et ve hazırlanmış kırmızı et karışımlarının tekniğine uygun ve hijyenik şekilde üretilmesi, hazırlanması ve işlenmesi ile ambalajlama, muhafaza, depolama, taşıma ve pazarlamasını sağlamak üzere gerekli özelliklerini belirttiği ‘Çiğ Kırmızı Et ve Hazırlanmış Kırmızı Et Karışımları Tebliği’ ne göre çiğ etlerde, kıymada ve hazırlanmış kırmızı et karışımlarında aerobik mezofilik mikroorganizma sayısının incelemeye alınan her 5 numunenin en fazla iki tanesinde gramda 5×10^5 ile 5×10^6 arasında ise kabul edilebilir olduğu ve 25 gramda *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella* türleri bulunmaması gerektiği bildirilmiştir.

Buna göre, incelediğimiz et ve et ürünlerindeki, toplam mezofilik bakteri ve maya-küf sayısının yönetmeliklere uygun olduğu görülmüştür. Ayrıca yapılan çeşitli çalışmalarda et örneklerinde *Bacillus cereus* varlığı tespit edilirken çalışmamızda kullandığımız örneklerde *Bacillus cereus* bulunamamıştır.

İncelediğimiz et ve et ürünlerinden izole edilen 163 laktik asit bakteri izolatının hepsi sandvic overlay yöntemi ile yapılan antimikrobiyal aktivite testinde, test mikroorganizmalarının tümüne karşı etkili olarak bulunmuştur. İzolatların hücresiz filtratlarının pH 5,5'e ayarlanmış ve test mikroorganizmalarına karşı olan antimikrobiyal aktiviteleri agar difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. İncelenen izolatlardan 80 tanesinin, etki spektrumu izolattan izolata değişmek kaydıyla, gram pozitif ve gram negatif test bakterilerine karşı oldukça yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur (Çizelge 3.3.).

Sandvic-overlay yönteminde izolatların hepsinin etkili görülmesi, ortamda laktik asit bakteri hücrelerinin bulunmasına ve ortamda halen gelişimin devam etmesine bağlanabilir. Çünkü laktik asit bakterileri laktik asit gibi organik asitleri üreterek ortam pH sınırın değişmesine neden olabilir. Çalışma sırasında sıvı besiyeride geliştirilen izolatların pH değerleri ölçülmüş ve izolatların oldukça asidik pH değerlerine sahip ortam oluşturdukları (pH 3–5) görülmüştür. Ancak agar difüzyon yönteminde ise hücresiz filtratların pH'sı 5,5 e ayarlandığı için

asitlik nedeni ile ortaya çıkabilecek etki engellenmiştir. Benzer şekilde Schillinger ve Lücke (1989) etlerden izole ettikleri *Lactobacillus sake* izolatlarının antimikrobiyal aktivitelerini inceledikleri çalışmalarında sandvic-overlay yöntemi ile 19 izolatı etkili bulurken agar difüzyon yönteminde yalnızca 6 izolatı etkili bulmuşlar ve bakteriyosin üretiminin katı ve sıvı ortamda farklı olabileceğine dikkat çekmişlerdir. Yine bir başka çalışmada Bromberg ve ark. (2004) etlerden izole ettikleri laktik asit bakterilerinin 174 tanesini sandvic-overlay yöntemi ile etkili bulurken, agar difüzyon yönteminde bunlardan yalnızca 128 tanesinin etkili olduğunu bildirmişlerdir. Lewus ve ark (1991) etlerden izole ettikleri, sandvic-overlay yöntemi ile antimikrobiyal aktiviteye sahip bulunan laktik asit bakteri izolatlarından çok azının agar difüzyon yönteminde etkili bulunduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar agar difüzyon yönteminde çökelti oluşma ihtimalinin, agar içerisine difüze olamayan bakteriyosinlerin varlığının ve kullanılan konsantrasyonun yöntemi daha hassas hale getirebildiğini ve negatif sonuç çıkma ihtimalinin arttığını bildirmişlerdir.

Laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal aktivitesinin onların hidrojen peroksit üretim yetenekleri ile yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir (Eschebach ve ark., 1989). Oksijen varlığında flavoprotein oksidaz ya da nikotinamid adenin dinükleotit (NADH) aracılığıyla sentezlenen hidrojen peroksit çeşitli enzimlerin sülfidril gruplarını denatüre ederek membran permeabilitesini arttırmaktadır (Ammor ve ark., 2006). Hidrojen peroksit nedeni ile meydana gelebilecek antimikrobiyal aktiviteyi ortadan kaldırmak için hücresiz filtratlara katalaz ilave edilerek agar difüzyon yöntemi ile filtratlar test bakterilerine uygulanmıştır. Sonuçta daha önceki testlerde oldukça yüksek aktiviteye sahip görülen izolatlardan 35 tanesinin (6.P1.6, 17.P1.17, 21.P1.21, 23.P1.23, 26.P2.3, 30.P2.7, 35.P2.12, 38.P2.5, 42.P2.19, 43.P2.20, 45.P2.22, 46.P3.1, 50.P3.5, 54.P3.9, 74.P4.5, 85.P4.16, 153.P7.1, 155.P7.2, 158.P7.5, 170.P7.7, 173.P7.10, 174.P7.11, 211.K1.3, 213.K1.9, 214.K1.2, 215.K1.5, 216.K16, 219.P8.6, 226.S1.11, 237.S2.3, 276.S3.10, 280.S3.8, 295.S4.15, 296.S4.16 ve 297.S4.17) aktivitelerini kaybettiği gözlenmiştir (Çizelge 3.4.). Yapılan çalışmada ortama katalaz ilavesi ile mevcut hidrojen peroksidin eliminasyonu sağlandığından bu duruma paralel olarak aktivite kaybeden izolatların etkilerinin bakteriyosin ya da bakteriyosin

benzeri madde üretiminden değil hidrojen peroksitten kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer şekilde Gonzalez ve ark. (2007) yaptıkları çalışmalarda peynirden izole ettikleri laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal aktivitelerini araştırırken sandvic-overlay ve agar difüzyon yöntemi ile çalışmalarını gerçekleştirmişler ve daha sonra antimikrobiyal aktivite sergileyen izolatların etkilerinin hidrojen peroksit kökenli olup olmadığını belirlemek amacı ile filtratlara katalaz ilavesi yaptıklarını bildirmişlerdir. Zhu ve ark. (2000) yaptıkları çalışmalarda *L. gasseri* KT7 strainin sergilediği yüksek antimikrobiyal aktivitenin kaynağını araştırırken antimikrobiyal etkinin hidrojen peroksit üretimi kaynaklı olup olmadığını belirlemek için ortama katalaz ilave etmiş ve katalaz ilavesi ile etkinin kaybolmadığını bildirmişlerdir. Todorov ve Dicks (2006) bozadan izole ettikleri laktik asit bakteri strainlerinin antimikrobiyal aktivitelerini araştırdıkları çalışmalarında izolatlardan elde ettikleri filtratlara katalaz ilave ederek hidrojen peroksit üretimine bağlı antimikrobiyal aktivite sergilemediklerini bulduklarını bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar yine bozadan izole ettikleri *Pediococcus pentosaceus* ST18 suşunun ürettiği anti-listeriyal etki yapan pediocin ST18 bakteriyosininin karakterizasyon çalışmalarında hidrojen peroksit üretiminin antimikrobiyal aktivite üzerindeki etkisini belirlemek amacı ile katalaz, karbonhidrat kökenli bileşiklerin etkisini belirlemek amacı ile de α -amilaz kullandıklarını bildirmişlerdir (Todorov ve Dicks 2005b).

Yüksek antimikrobiyal aktivite gösteren ve aktivitesinin bakteriyosin ya da bakteriyosin benzeri protein veya protein olmayan madde üretiminden kaynaklandığı düşünülen 52 adet izolat belirlenmiştir. İzolatların belirlenmesinde özellikle *Listeria monocytogenes* üzerindeki antimikrobiyal aktivite göz önünde bulundurulmuştur.

Listeriosis etmeni olan *L. monocytogenes* gıda kökenli bir patojen olmakla birlikte, ciddi hastalıklara yol açtığı ve ölümlere neden olabildiği gibi gıda endüstrisinde ciddi maddi kayıplara yol açmaktadır. Bu nedenle gıda endüstrisinde özellikle *L. monocytogenes* kontaminasyonu, bu durumun engellenmesi büyük önem taşımaktadır (Halami ve Chandrashekar, 2005). Düşük sıcaklık derecelerinde anaerobik koşullar altında gelişebilen bu patojen organizma spor oluşturmeyen bakteriler arasında olumsuz koşullara karşı oldukça dirençli

olduğundan et ve et ürünlerinde de kontaminant olarak sıklıkla bulunmaktadır (Hequet ve ark., 2007). Güven ve Patır (1998), Elazığ ilinde tüketime sunulan et ve et ürünü örneklerinde *Listeria* türlerinin varlığını araştırmışlar ve inceledikleri 100 kıyma, 80 sucuk örneğinin çoğunda *Listeria* türlerinin bulunduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte taksonomik pozisyonları açısından net olmamakla birlikte *Listeria* cinsinin Laktobasillere yakın olduğu bildirilmiş ve bu nedenle özellikle *Lactobacillus* türleri tarafından üretilen bakteriyosinlerin *Listeria* türleri üzerinde etkili olma ihtimalinin yüksek olduğu kaydedilmiştir (Schillinger ve Lücke, 1989). Drosinos ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada Güney Yunanistan'daki geleneksel fermente sucuklarda *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus sakei* türlerini baskın olarak bulan araştırmacılar *Listeria monocytogenes*'e karşı antimikrobiyal aktivite sergileyen 3 laktik asit bakteri straini bulduklarını bildirmişlerdir. Martinis ve Freitas (2003) Brezilya'da et ürünlerinden izole ettikleri *Leuconostoc*, *Lactobacillus sakei* izolatlarının *L. monocytogenes* strainlerine karşı antilisterial etki yaptığını bildirmişlerdir.

Bunun yanı sıra seçilen izolatlar yalnızca *L. monocytogenes*'e karşı değil, kullanılan diğer bazı gram pozitif ve gram negatif test bakterilerine karşı da antimikrobiyal etki göstermektedir. Etki spektrumu ve etki derecesi izolattan izolata farklılık göstermekle birlikte elde edilen sonuçlara genel olarak bakıldığı zaman izolatların büyük bir kısmının kullanılan test mikroorganizmalarından *Proteus vulgaris*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı düşük antimikrobiyal aktivite sergilediği gözlenmiştir. Bunun yanı sıra laktik asit bakterilerine ait saf filtratların *L. buchneri*, *L. plantarum*, *S. lactis*, *L. paramesenteroides* ve *L. bulgaricus* üzerinde etkili olmadığı, sadece 144.P5.1 numaralı izolatin *S. lactis*, 145.P5.2 numaralı izolatin *L. bulgaricus*, 146.P5.3 numaralı izolatin *L. bulgaricus* ve *L. buchneri*, 147.P5.4 ve 148.P6.1 numaralı izolatların *S. lactis*, 149.P6.2 numaralı izolatin *S. lactis* ve *L. bulgaricus*, 151.P6.4 numaralı izolatin *S. lactis*, *L. bulgaricus* ve *L. buchneri*, 152.P6.5 numaralı izolatin *S. lactis* ve *L. bulgaricus*, 154.P7.2 numaralı izolatin *L. bulgaricus*, 160.P5.5 numaralı izolatin *S. lactis* ve *L. buchneri* üzerine konsantrasyonu azaltıcı bir etkisi olduğu saptanmıştır.

Günümüze kadar laktik asit bakterileri ile ilgili yapılmış olan antimikrobiyal aktivite çalışmalarında, bu bakterilerin gram negatif mikroorganizmalar üzerine etki ettiği çok az çalışmada bildirmiştir (Todorov ve Dicks, 2006). Gram negatif bakteriler özellikle sahip oldukları dış membranlarının koruyucu etkisi ile çeşitli antimikrobiyal bileşiklere karşı oldukça dirençli durumdadırlar. Bununla birlikte laktik asit bakterileri tarafından üretilen az sayıdaki bakteriyosinin, *Lactobacillus reuteri* tarafından üretilen reuterin'in, *Lactobacillus plantarum* tarafından üretilen benzoik asit, mevalonik asit gibi çeşitli bileşiklerin, tüm laktik asit bakterileri tarafından üretilen laktik asidin ve asetik asidin, *Lactococcus* türleri tarafından üretilen diasetilin gram negatif bakteriler üzerinde gelişimi inhibe edici etkisi olduğu bilinmekte ve son dönem yapılan çalışmalarda çeşitli antimikrobiyal bileşiklerin özellikle sinerjik etki yaparak gram negatif bakterilerin de kontrol altına alınabildiği bildirilmektedir (Helander ve ark., 1997). Todorov ve Dicks (2005c) zeytinyağından izole ettikleri çeşitli laktik asit bakteri izolatlarının ürettiği bakteriyosinlerin alışılmışın tersine *E. coli* ve *P. aeruginosa* üzerinde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu vurgulamışlardır.

Çalışmamızda seçilmiş olan 52 izolatın identifikasyonunda 'Holt ve ark.' (2000) tarafından düzenlenmiş olan 'Bergey's Manual of Determinative Bacteriology' ve 'Balowa ve ark.' (1992) tarafından düzenlenmiş olan 'The Procaryotes' kullanılmıştır. 52 örnek için gram boyama, farklı sıcaklıklarda gelişim, farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim, pH 3,9 da gelişim, H₂S üretimi, arjininden amonyak oluşumu gibi biyokimyasal testler yapılmış ve sonuçlar Çizelge 3.9. da gösterilmiştir. Yapılan biyokimyasal testler arasından özellikle arjininden amonyak oluşumu, arjinin deiminaz (ADI) yolu düşük pH değerlerine sahip asidik ortamlarda mikroorganizmaları bu çevrenin yaratabileceği zararlardan koruduğu için, önem taşımaktadır (Rollan ve ark., 2003). İzolatların büyük bir kısmının arjininden amonyak oluşumu testinde pozitif sonuç vermiş olması bu strainlerin, arınılan diğer özellikler de mevcut olduğu sürece, starter olarak kullanımları için olumlu bir özellik olarak değerlendirilmiştir. İzolatlardan 42 tanesinin %6,5 oranında tuz konsantrasyonu içeren ortamda gelişim gösterdiği saptanırken, 10 izolatın (5.P1.5, 24.P2.1, 28.P2.5, 49.P3.4, 144.P5.1, 145.P5.2, 146.P5.3, 147.P5.4, 148.P5.5 ve 172.P7.9) duyarlı olduğu belirlenmiştir. Tuz

konsantrasyonunun %7 oranına arttırılması ile birlikte gelişim gösteren izolat sayısı 24'e (11.P1.11, 12.P1.12, 13.P1.13, 14.P1.14, 16.P1.16, 19.P1.19, 25.P2.2, 27.P2.4, 48.P3.3, 51.P3.6, 67.P3.22, 98.P4.29, 149.P6.2, 151.P6.4, 152.P6.5, 156.P7.8, 157.P7.4, 163.P5.8, 168.P6.10 171.P7.8, 220.K1.9, 235.S2.2A, 277.S3.11) düşmüştür. %10 tuz konsantrasyonunda ise izolatlardan yalnızca 7 tanesi (16.P1.16, 19.P1.19, 25.P2.2, 51.P3.6, 98.P4.29, 151.P6.4 ve 235.S2.2A) toleranslı, diğerli duyarlı olarak bulunmuştur.

Seçilmiş olan izolatların tanımlanmaları hem API CHL50 (bioMerieux) kitleri ile yönetici talimatları doğrultusunda karbonhidrat fermentasyon testleri gerçekleştirilerek biyokimyasal ve fizyolojik özellikler aracılığıyla, hem de 16 S rRNA'yı temel alan Riboprinter sistem ile gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda izolatların biyokimyasal ve moleküler temelli tanımlanmasının birbirleri ile örtüşmediği gözlenmiştir. Fenotipik özellikler dikkate alınarak yapılan tanımlamalar sonucunda izolatlar *L. fermentum*, *L. mesenteroides*, *L. lactis*, *L. plantarum*, *P. pentosaceus*, *Leuconostoc*, *L. collinoides*, *L. delbrueckii*, *L. pentosus*, *L. brevis*, *L. cellobiosis* türleri bulunurken; Riboprinter sistem ile *L. plantarum*, *L. sakei*, *P. acidilactici*, *W. hellenica*, *E. faecium*, *L. reuteri*, *W. viridescens*, *W. confusa* türleri bulunmuştur. Laktik asit bakterilerinin fenotipik ve genotipik özelliklerine dayalı sınıflandırmaları arasında çeşitli farklılıkların bulunabildiği yapılan bazı çalışmalarda da bildirilmiştir. Ammor ve ark. (2005) sucuklardan izole ettikleri laktik asit bakterilerini karbonhidrat fermentasyon testleri, farklı tuz konsantrasyonlarında ve sıcaklıklarda gelişim gibi fenotipik karakterler ile sınıflandırdıkları zaman elde ettikleri sonuçlarla genotipik identifikasyon sonuçlarının birbirini tutmadığını bildirmişlerdir. Özellikle Laktobasillerin sınıflandırılmasında biyokimyasal karakterlerin yetersiz kaldığı ve genotipik identifikasyonun daha güvenilir olduğu bildirilmiştir (Tannock, 1999). Evrensel olarak genotipik sınıflandırmalar daha geçerli ve güvenilir kabul edildiği için çalışmamızda kullanılan izolatların tanımlanmalarında Riboprinter sistem ile yapılan çalışmaların sonuçları dikkate alınmıştır.

Riboprinter sistem ile yapılan tanımlamalar sonucunda seçilmiş olan izolatlardan 6 tanesi *L. sakei* (5.P1.5, 8.P1.8, 10.P1.10, 11.P1.11, 12.P1.12 ve 28.P2.5), 20 tanesi *L. plantarum* (9.P1.9, 16.P1.16, 25.P2.2, 51.P3.6, 67.P3.22,

148.P5.5, 149.P6.2, 150.P6.3, 151.P6.4, 152.P6.5, 154.P7.2, 157.P7.4, 159.P7.6, 160.P5.5, 161.P5.6, 163.P5.7, 164.P6.6, 166.P6.8 167.P6.9 ve 172.P7.9), 1 tanesi *L. reuteri* (49.P3.4), 5 tanesi *P. acidilactici* (13.P1.13, 14.P1.14, 48.P3.3, 98.P4.29 ve 235.S2.2A), 2 tanesi *W. hellenica* (27.P2.4 ve 32.P2.9), 3 tanesi *W. viridescens* (144.P5.1, 146.P5.3 ve 147.P5.4), 3 tanesi *W. confusa* (163.P5.8, 171.P7.8 ve 294.S4.14), 1 tanesi *L. citreum* (220.K1.9), 1 tanesi *Leuconostoc sp.* (24.P2.1), 8 tanesi *E. faecium* (29.P2.6, 97.P4.28, 99.P4.30, 145.PP5.2, 168.P6.8, 169.P6.11, 294.S4.19, 299.SS4.19) olarak bulunmuştur.

Drosinos ve ark.(2007) yaptıkları çalışmalarda Güney Yunanistan'daki geleneksel fermente sucuklardan 300 adet laktik asit bakterisi izole etmiş ve bu bakterilerin fenotipik ve teknolojik özelliklerini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmalar sonucunda genel olarak *L. plantarum* ve *L. sakei* türlerini baskın olarak bulunduğunu bildirmişlerdir. Martinis ve Freitas (2003) yaptıkları çalışmalarda Brezilya da et ürünlerinde bakteriyosin üreten laktik asit bakterilerini araştırmışlar ve örneklerden *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus sakei* türlerini izole ettiklerini bildirmişlerdir. *Lactococcus lactis subsp. lactis* fermente ürünlerde bulunan laktik asit bakterilerinden biri olup sıklıkla süt ve süt ürünlerinden izole edilmiştir. Bu türün sebzelerde de bulunduğu bildirilmiştir (Harris ve ark., 1992).

Laktik asit bakterilerinin çeşitli gıda kökenli patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite gösteren; laktik asit, hidrojen peroksit, diasetil, bakteriyosin gibi maddeler üretmesi bu bakterilerin fermantasyon proseslerindeki kullanılabilirliği konusundaki araştırmaları arttırmış ve son 20 yıl içerisinde özellikle laktik asit bakterilerinde bakteriyosin üretimi ile ilgili pek çok çalışma gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmalarda üretimi belirlenen bakteriyosinlerin bazılarının geniş ölçüde karakterizasyonu yapılmış olsa da halen tam karakterizasyonu çalışılmamış pek çok bakteriyosin bulunmaktadır (Aymerich ve ark., 2000; Zhu ve ark., 2000).

Bakteriyosinler antimikrobiyal aktiviteye sahip, oligoprotein, protein ya da protein kompleksi olarak salgılanmaktadır. Ribozomlarda sentezlenen bu bileşikler polipeptit ya da prekürsör polipeptitler olarak anılmaktadırlar (Jack ve ark., 1995; Remiger ve ark., 1999). Genel olarak 4 büyük grup altında sınıflandırılan bakteriyosinlerin 1. grubunu lanthionin, metillanthionin gibi

alışılmadık aminoasitleri bünyesinde barındıran lantibiotikler oluşturmaktadır. 2. grupta ise ısıya karşı dayanıklı, küçük ve non-modifiye peptitler yer almaktadır. Özellikle 2. sınıf bakteriyosinlerin *Listeria* türleri üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir. 3. grup bakteriyosinler ise daha büyük molekül ağırlıklı ve ısıya duyarlı peptitleri kapsamaktadır. Bakteriyosinlerin son grubunda ise karbonhidrat ya da lipit gibi diğer moleküllerle birlikte yapı oluşturan kompleks proteinler bulunmaktadır (Cleveland ve ark., 2001).

Bakteriyosinlerin proteinaz K ve pankreas orijinli tripsin, α -kimotripsin gibi metabolik proteolitik enzimlerden etkilenebildiği bilinmektedir. Bakteriyosinler protein yapısında moleküller olduklarından enzimlere benzer şekilde sıcaklık ve ortamın pH değerlerinden de etkilenmektedirler. Ancak sınıflandırmada da baz alınan bu özellikler bakteriyosinin cinsine göre değişebilmektedir (Piard ve Desmazeaud, 1992). Piard ve Demazeaud (1992)' e göre, bakteriyosinler üzerine etkili olan faktörler Çizelge 4.1. de verilmiştir.

Günümüzde bakteriyosin araştırmaları oldukça ilgi çeken bir konu olduğu için üretimi belirlenen bakteriyosinler ve bu bakteriyosinler ile ilgili bilgiler her geçen gün artış göstermektedir. Farklı araştırmacılar tarafından çok çeşitli fermente gıdalardaki mevcut laktik asit bakterileri ve bakteriyosin üretimi çalışılmaktadır. Özellikle et ve et ürünlerinde nisin kullanımında zorlukların ortaya çıkması ile birlikte diğer bakteriyosinlerin kullanımları ile ilgili çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Leucocin A, enterocin, sakacin, carnobacteriocin A ve B gibi çeşitli bakteriyosinlerin taze etlerde raf ömrünü uzattığı bilinmektedir (Cleveland ve ark., 2001). Choi ve ark (2000) Kore'de bulunan geleneksel fermente sebzelerden izole ettikleri *Lactococcus lactis subsp. lactis* A164 izolatının ısıya ve düşük pH derecelerine dayanıklı nisin benzeri bir bakteriyosin ürettiğini bildirmişlerdir.

Çizelge 4.1. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen bakteriyosinlerin enzim duyarlılıkları, asit ve sıcaklık toleransları. Piard ve Demazeaud (1992)

Bakteriyosin	İnaktive eden enzimler	Sıcaklık ve asit toleransı
Nisin	α -kimotripsin, nisinaz	115°C, pH:2
Lactostrepcins	α -kimotripsin, pronaz, tripsin, fosfolipaz D	100 °C, 10 dk.
Diplococccin	α -kimotripsin, tripsin, pronaz	1 saat, 100°C, pH:5 ve alkali pH
Bac	α -kimotripsin, pronaz, proteinaz K	30 dk, 100°C, pH:4.5, pH:7.0 ve pH:9.4
Lacticin 481	α -kimotripsin, ficin, pronaz, proteinaz K, rennet	1 saat, 100°C, pH:4,5 ve pH:7.0
Lactocin 27	Tripsin, pronaz	1 saat, 100°C
Helveticin J	Tripsin, ficin, pronaz, proteinaz K, pepsin,	30 dk, 100°C,
Bac	Tripsin, pepsin	30 dk, 96°C, pH:5
Lactacin B	Proteinaz K	Saflaştırılmamış,
Lactacin F	Tripsin, ficin, proteinaz K	15 dk, 121°C
Plantaricin A	Proteolitik preparasyonlar	30 dk, 100°C
Plantaricin B	α -kimotripsin, α -amilaz, pronaz, tripsin, pepsin, lipaz	
Plantaricin S	α -kimotripsin, proteinaz K, pronaz, tripsin, α -amilaz, lipaz, ficin, termolizin	1 saat, 100°C
Sakacin A	Tripsin, pepsin	20 dk, 100°C
Lactocin S	Tripsin, proteaz tip 14	1 saat, 100°C de %50 aktivasyon kaybı
Caseicin 80	α -kimotripsin, proteinaz K, pronaz, tripsin, pepsin	10 dk, 60°C, pH:2
Brevicin 37	Pronaz, tripsin	1 saat, 121°C, pH:2-4
Pediocin A	Pronaz	1 saat, 100°C
Pediocin AcH	Tripsin	1 saat 100°C, pH:7

Çalışmamızda yüksek antimikrobiyal aktivite gösteren ve katalaz ilavesi ile birlikte aktivitesini kaybetmeyen 52 izolat seçilerek proteinaz K, tripsin, α -kimotripsin, lizozim, pronaz, α -amilaz enzimlerinin aktivite üzerine etkisi araştırılmıştır (Çizelge 3.5 ve Çizelge 3.6). Seçilmiş olan 52 izolat için yapılan çalışmalarda izolatların proteinaz K ilave edildikten sonra çoğunun normalde gösterdikleri antimikrobiyal etkilerini tamamen veya kısmen kaybettiği gözlenmiştir. İzolatların proteinaz K ilavesinden sonra etki spektrumları izolata bağlı olarak düşüş göstermekle birlikte, genel olarak izolatların büyük çoğunluğunun *Listeria monocytogenes* PNE QCILI üzerindeki etkilerini korudukları gözlemlenmiştir. Seçilmiş olan izolatların tripsin ve alfa kimotripsin ve pronaz ile yüksek oranda etkilerini kaybettikleri saptanmıştır.

Çalışmada kullanılan hücresiz süpernatantların proteolitik enzimler ile muamelesi sonucunda aktivite kaybı göstermeleri etken maddenin protein yapısında olduğunu göstermektedir. α -amilaz uygulamaları ile aktivite kaybı görülmesi ise antimikrobiyal aktivite için karbonhidrat bileşiklerinin gereksinimini açığa vurmaktadır (Todorov ve Dicks, 2005b; Todorov ve Dicks, 2005c).

Laktik asit bakterilerinin cinslerinden *Lactobacillus*'un günümüzde 60'ın üzerinde tür içerdiği bilinmektedir. Laktobasiller doğada karbonhidrat içeriği yüksek olan ortamlarda kolaylıkla bulunabilmektedir. İnsan ya da hayvanların mukozal membranları, bitkisel materyaller, gübreler, lağım pisliği, fermente gıdalar bu mikroorganizmaların başlıca habitatlarından bazılarıdır (Gürsoy ve Kınık, 2005). Geçmişten günümüze yapılan birçok çalışmada laktobasillerin çok çeşitli bakteriyosinleri ürettikleri rapor edilmiştir. Ogunshe ve ark. (2007) yaptıkları çalışmalarda Nijerya'da üretilen yerli fermente gıdalardan 50 adet bakteriyosin üreten *Lactobacillus* straini izole ettiklerini bildirmiştir. İtalyan peynirleri ile yapılan bir başka çalışmada, bu peynir tipinin içerdiği Laktobasiller 16S rDNA analizleri ile sınıflandırılmış ve 13 çeşit farklı *Lactobacillus* türü içerdiği bildirilmiştir (Morea ve ark., 1998).

Değişik araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda *Lactobacillus sakei* izolatlarının çeşitli bakteriyosinleri üretebildiği gösterilmiştir. Hequet ve ark. (2007) yaptıkları çalışmalarda *L. sakei* 2512 olarak adlandırdıkları izolat

tarafından üretilen sakacin G'nin *Listeria* üzrine etki gösterdiğini bildirmişler ve *Listeria*'ya karşı olan etkinin artırılması için yeni besi ortamı dizaynları kullanarak izolatların karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Vermeiren ve ark. (2006) yaptıkları çalışmalarda pişmiş jambonda *Listeria monocytogenes*'e karşı etkili olan lactocin S üreticisi *Lactobacillus sakei* 148 ve bakteriyosin üretmeyen *Lactobacillus sakei* 10A arasındaki etkileşimleri incelemişlerdir. Bakteriyosin üreten *L. sakei* strainleri ile yapılan bir başka çalışmada mevcut strainin sakacin P üretim yeteneğine sahip olduğu, ancak bakteriyosin üretiminin yüksek tuz konsantrasyonlarında (%5 w/v) azaldığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada mevcut strainler sucuk fermantasyonunda kullanıldığında yüksek miktarda bakteriyosin üretimi gözlemlendiği bildirilmiştir (Urso ve ark., 2006). Diep ve ark. (2000) yaptıkları çalışmalarda *L. sakei* Lb706 straininde sakacin A üretiminin 25–30°C de maksimum olduğunu ancak az miktardaki bir sıcaklık artışı ile (33–35°C) dahi bakteriyosin üretiminin azaldığını ya da tamamen yok olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda seçilmiş olan izolatlardan 6 tanesi Riboprinter sistem ile yapılan tanımlamalar sonucunda *L. sakei* olarak bulunmuştur. Bu izolatlar 5.P1.5, 8.P1.8, 10.P1.10, 11.P1.11, 12.P1.12 ve 28.P2.5 numaralı izolatlardır. 5.P1.5, 8.P1.8, 10.P1.10, 11.P1.11 numaralı izolatların filtratlarının özellikle tripsin ilavesinde aktivite kaybı göstermeleri, bu izolatların *L. sakei* tarafından üretildiği daha önce bildirilmiş olan sakacin A ve lactocin B ile benzerlik gösterebileceğini düşündürmektedir. 28.P2.5 numaralı izolatta ait filtratta ise genel olarak tüm enzimlerde düşük aktivite kaybı gözlenirken 12.P1.12 numaralı izolatın filtratının özellikle pronaz ilavesi ile aktivite kaybına uğradığı gözlenmiştir.

Lactobacillus plantarum, laktik asit bakterilerinin en tanınmış türlerinden biri olup, günümüze kadar yapılmış olan pek çok çalışmada çok çeşitli fermente gıdalardan (et, süt, peynir, yağ, meyve suları vb.) izole edilmiş ve çeşitli bakteriyosinleri ürettiği bildirilmiştir (Todorov ve Dicks, 2005a). Remiger ve ark. (1999) *L. plantarum* TMW1,25 straini tarafından üretilen iki bakteriyosinin, plantaricin 1,25 α ve plantaricin 1,25 β , saflaştırılmasını ve kısmi sekans analizini gerçekleştirmişlerdir. Et ve et ürünlerinde sıklıkla dominant olarak bulunan ve bakteriyosin ürettiği bilinen *L. plantarum* izolatları diğer bazı gıdalarda da bulunabilmektedir. Franz ve ark. (1998) yaptıkları çalışmalarda fermente

sebzelerden *Lactobacillus sakei* ve *Listeria monocytogenes*'e karşı antimikrobiyal aktivite gösteren plantaricin D üretim yeteneğine sahip *Lactobacillus plantarum* BFE 905 strainini izole ettiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar yaptıkları çalışmalar sonucu plantaricin D'nin 121°C' de ısı ile muamele sonucunda yapısını koruduğunu ancak tripsin, pepsin, α -kimotripsin enzimlerinin bakteriyosini inaktive ettiğini de bildirmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada zeytinyağı fermantasyonunda plantaricin S ve plantaricin T adlı iki bakteriyosini üretme yeteneğine sahip olan *L. plantarum* LPC010 izolatının bulunduğu bildirilmiştir (Jimenez-Diaz ve ark., 1993). Bir diğer çalışmada yemeklik yağlardan izole edilen *L.s plantarum* LB17.2b straininin pH: 6,5' de *Enterococcus faecalis*' üzerinde etkili antibakteriyal protein bileşikleri ürettiği bildirilmiştir (Delgado ve ark., 2001).

Çalışmamızda seçilmiş olan izolatlardan 20 tanesi Riboprinter sistem ile yapılan tanımlamalar sonucunda *L. plantarum* olarak bulunmuştur. Bu izolatlar 9.P1.9, 16.P1.16, 25.P2.2, 51.P3.6, 67.P3.22, 148.P5.5, 149.P6.2, 150.P6.3, 151.P6.4, 152.P6.5, 154.P7.2, 157.P7.4, 159.P7.6, 160.P5.5, 161.P5.6, 163.P5.7, 164.P6.6, 166.P6.8 167.P6.9 ve 172.P7.9 numaralı izolatlardır. *L. plantarum* olarak tanımlanan izolatların filtratlarının büyük bir çoğunluğunun farklı farklı düzeylerde de olsa proteinaz K, tripsin, α -kimotripsin, pronaz, α -amilaz enzimlerinin varlığından yüksek oranda etkilendiği bulunmuştur. İzolatların *L. plantarum* tarafından üretildiği daha önce bildirilmiş olan ve benzer enzimlere karşı duyarlı olan plantaricin B ve plantaricin S üretebileceği ya da bu bakteriyosinlere benzerlik gösteren madde üretme ihtimali olduğu düşünülmektedir. Ayrıca izolatların hücresiz filtratlarına α -amilaz ilavesi ile birlikte aktivite kaybının görülmesi antimikrobiyal aktivite için karbonhidrat hareketlerinin gerekliliğine işaret etmektedir. Daha önce belirtildiği gibi özellikle 4. sınıf bakteriyosinleri kompleks proteinler olup, aktivite için glikozidal aktiviteye ihtiyaç duymaktadırlar. Bununla birlikte diğer *L. plantarum* izolatları olan 67.P3.22, 150.P6.3, 161.P5.6, 164.P6.6, 167.P6.9'a ait hücresiz filtratların enzim ilaveleri sonucunda çok yüksek aktivite kaybına uğramadığı bulunmuştur. Plantaricin A gibi yine *L. plantarum* tarafından üretilen çeşitli bakteriyosinlerin enzimlere karşı dirençli olması çalışmada kullanılan ve dirençli bulunan

izolatların ürettikleri antimikrobiyal bileşiklerin bu tip bakteriyosinlere benzer olma ihtimalini düşündürmektedir.

Gıda kökenli çeşitli gram pozitif, gram negatif bakterilere, bazı maya ve protozoa türleri üzerine antimikrobiyal etkisi bulunan Reuterin, *Lactobacillus reuteri* tarafından sentezlenen düşük moleküler ağırlıklı bir bileşiktir (Rasch ve ark., 2002). Ganzle ve Vogel (2003) yaptıkları çalışmalar sonucu, hamur mayasından *L. reuteri* LTH2584 strainini izole etmişler ve bu izolatın Reutericyclin adında düşük moleküler ağırlıklı bir antibiyotik ürettiğini bildirmişlerdir. Bakteriyosin üreticisi olan *L. reuteri*, aynı zamanda insan ve hayvanların gastrointestinal sisteminde de bulunmakta ve probiyotik karakterler taşıması nedeni ile önem arz etmektedir (Wu ve Chung, 2006). Probiyotik özellikleri ile dikkati çeken *L. reuteri* ile yapılan çalışmalarda fermente sucuklarda mikrokapsül ile çevrelenmiş izolatların kullanılmasının sucuk kalitesi üzerine etkisi araştırılmış ve etin lezzeti açısından önemli bir farklılık bulunmadığı bildirilmiştir (Muthukumarasamy ve Holley, 2006).

L. reuteri olarak saptanan 49.P3.4 numaralı izolatın hücresiz filtratı enzimlerle ve sıcaklıkla muamele sonucunda antimikrobiyal aktivitesini kaybetmekte ve bu türün ürettiği tipik antimikrobiyal madde olan reuterin ile benzer özellik göstermemektedir. Elde edilen sonuçlar izolatın proteolitik enzimlere ve yüksek sıcaklığa duyarlı, muhtemelen protein doğasında antimikrobiyal özellik taşıyan bir bileşik ürettiğini düşündürmektedir.

Homofermentatif laktik asit bakterileri arasında yer alan Pediokoklar, çeşitli bakteriyosinleri ürettiği bilinen bir diğer cinsi oluşturmaktadır. Günümüze kadar çeşitli *Pediococcus* türleri ile araştırmalar yapılmış ve bu bakterilerin ürettikleri pediocin A, pediocin AcH gibi bakteriyosinler tanımlanmıştır. Halami ve Chandrashekar (2005) yaptıkları çalışmalarda *Pediococcus acidilactici* C20 adını verdikleri strain tarafından üretilen pediocin C20'nin üretimini arttırmak için uygun ortamın optimizasyon çalışmalarını gerçekleştirmişler ve üretimin laktoz temelli ortamlarda 1–5 kat arttığını bildirmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada Albano ve ark. (2007) Portekiz'de üretilen fermente sucuklardan izole ettikleri *P. acidilactici* izolatlarının iki yeni türde bakteriyosin ürettiğini bildirmişlerdir. Nieto-Lozano ve ark. (2006) yaptıkları çalışmalarda, İspanya'daki çiğ etlerde

bulunan *P. acidilactici* izolatlarının ürettiği bakteriyosinin *Listeria monocytogenes* ve *Clostridium perfringens* üzerindeki etkisini incelemişler ve 1000–5000 BU/ml bakteriyosinin etin 15°C de 72 saat süresince depolanması esnasında *L. monocytogenes* sayısını azalttığını bildirmişlerdir. Türkiye de yapılan bir çalışmada fermente sosisten izole edilen *P. acidilactici* F' in pediocin F olarak adlandırılan, proteolitik enzimlere karşı hassas, ısıya ve organik çözücülere karşı dayanıklı bir antimikrobiyal peptit ürettiği rapor edilmiştir (Osmanağaoğlu ve ark, 1998).

Çalışmamızda seçilmiş olan 52 izolattan 5 tanesi (13.P1.13, 14.P1.14, 48.P3.3, 98.P4.29 ve 235.S2.2A) *P. acidilactici* olarak tanımlanmıştır. *P. acidilactici* olarak tanımlanan izolatların hücresiz filtratlarının hepsi tripsin ve α -kimotripsin varlığına kıyasla α -amilaz ve pronaz varlığında daha yüksek aktivite kaybı göstermiştir. Ayrıca, 60 ve 121°C de ısı ile muamele sonucu da izolatlarda aktivite kaybı gözlenmiştir. İzolatların özellikle pronaz varlığındaki aktivite kaybı izolatların, bu tür tarafından üretildiği bilinen ve karakterizasyonu yapılmış olan Bac ya da *Pediococcus pentosaceus* tarafından üretilen pronaza duyarlı pediocin A ile benzer özellik gösteren antimikrobiyal madde üretebileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte ısı ile muamele sonucunda ve α -amilaz varlığında aktivite kaybı görülmesi antimikrobiyal aktivitenin kompleks proteinler olan 4. sınıf bakteriyosinlere benzer bir bileşikten meydana gelebileceğini düşündürmektedir.

16S ve 23S rRNA sekans analizleri dikkate alındığında laktik asit bakterileri *Weissella* adı altında az sayıda tür içeren bir cinsi daha kapsamaktadır. *Weissella* cinsinin tam olarak doğru sınıflandırılması ancak 1990 yılında gerçekleştirilebilmiştir. Bu cins, *Weissella confusa*, *Weissella halotolerans*, *Weissella hellenica*, *Weissella kandleri*, *Weissella minor*, *Weissella paramesenteroides*, *Weissella thailandensis*, *Weissella viridescens* olmak üzere 8 türü kapsamaktadır. Bunlardan *W. paramesenteroides*, taze sebzelerde dominant olarak bulunurken, *W. hellenica*, *W. viridescens*, daha çok et ve et ürünlerinde bulunmaktadır *W. confusa* ise süt ve meyva sularında bulunmaktadır (Bjorkroth ve ark., 2002; Mavhungu, 2005). Araştırmalara daha az konu olan *W. hellenica* ile yapılan çalışmalarda etlerin değişik türlerde paketlenmesi sırasında 0. saatte bu türe

ait izolatların dominant olduğu fakat depolamanın ileriki safhalarında olasılıkla diğer laktik asit bakterilerinin dominant duruma geçmesi ile birlikte bu türe hiç rastlanmadığını belirlenmiştir (Ercoloni ve ark., 2006). Ayrıca yapılan çalışmalar *W. hellenica*'nın çeşitli balık türlerinde de bulunduğunu göstermiştir. Cai ve ark. (1998) yaptıkları çalışmalarda dil balığının bağırsaklarından izole ettikleri *W. hellenica* DS-12 izolatının *Aeromonas*, *Vibrio* gibi çeşitli cinslere ait balık patojeni mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite sergilediğini bildirmişlerdir.

W. hellenica olarak bulunan 27.P2.4 ve 32.P2.9 numaralı iki izolatın hücresiz filtratları enzimler ile muamele edildiğinde 27.P2.7 numaralı izolatın filtratı α -amilaz ve pronaz varlığında, 32.P2.9 numaralı izolatın filtratı ise daha çok tripsin ve α -kimotripsin varlığında aktivitesini kaybetmektedir. Ayrıca 27.P2.4 numaralı izolatın filtratının 60 ve 121°C de ısı ile muamele işlemlerine karşı duyarlı olduğu gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar bu izolatların, diğer türlerin ürettiği bilinen bakteriyosinlerine benzer, çeşitli enzimlere karşı duyarlı, protein doğasında olması muhtemel antimikrobiyal bileşikler ürettiğini düşündürmektedir.

W. viridescens ilk kez 1949 yılına çiğ sucuk yüzeylerinden izole edilmiş, ancak tam tanımlaması 1957 yılında gerçekleştirilmiştir. İlk etapta atipik *Lactobacillus* türleri ile ilişkilendirilen bu türün daha sonra yapılan çalışmalarda filogenetik olarak *Leuconostoc paramesenteroides* ile daha yakın olduğu görülmüştür (Koort, 2006). Santos ve ark. (2005) 'morcilla de burgos' olarak adlandırılan tipik İspanyol sucuklarından 176 laktik asit bakterisinin izolasyonu ve tanımlanması çalışmalarında, florada dominant olarak *W. viridescens* bulunduğunu bildirmişlerdir. Daha sonra yapılan bir başka çalışmada Santos ve ark. (2005) tarafından izole edilen ve tanımlanamamış olan strainlerin ve *Weissella* türlerinin sınıflandırılması 16S rRNA sekans analizleri, nümerik taksonomi ve DNA-DNA hibridizasyon çalışmaları ile gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar yaptıkları çalışmalar sonucunda izolatların 16S rRNA analizlerine göre *W. viridescens* ile ilişkili bulunduğunu ancak nümerik analizlerle elde edilen sonuçların daha farklı bulunduğunu bildirmişlerdir (Koort ve ark., 2006).

Çalışmamızda seçilmiş olan 52 izolattan 3 tanesi *Weissella viridescens* olarak tanımlanmıştır. Bu izolatlar 144.P5.1, 146.P5.3 ve 147.P5.4 numaralı izolatlardır. Üç izolata ait filtrat da enzim ilaveleri ve sıcaklık muamelesi sonucunda benzer sonuçlar göstermiştir. Yapılan çalışmalarda hücresiz filtratların gerek enzimlerle, gerekse sıcaklık muamelesi ile yüksek oranda aktivite kaybettiği gözlenmiştir. Bununla birlikte, enzim ilavesi ile aktivite kaybına rağmen izolatların *Enterococcus faecalis* üzerindeki etkisinin devam ettiği gözlemlenmiştir.

DNA teknolojisinin gelişimi ile birlikte *Weissella* cinsu *Lactobacillus* cinsundan ayrıldıktan sonra *Lactobacillus confusus* ya da diğer adıyla *Lactobacillus coprophilus* olarak bilinen organizma *Weissella confusa* adını almıştır. Yapılan çalışmalarda *W. confusa*'nın insan patojeni *Helicobacter pylori*'e karşı antimikrobiyal özellikler sergilediği gösterilmiştir (Nam ve ark., 2002). Bjorkroth ve ark. (2002) Malezya'da gıdalardan, klinik örneklerden ve hayvanlardan 39 *Weissella* straini izole etmiş ve bunların taksonomik karakterizasyonunu 16S ve 23S rDNA RFLP (ribotyping) analizleri ile belirlemişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları çalışmalar sonucu izolatların *W. confusa* ve *Weissella cibaria* sp. adlı yeni bir türe ait olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda incelenen izolatlardan 3 tanesi *W. confusa* olarak bulunmuştur. 163.P5.8, 171.P7.8 ve 294.S4.14 numaralarını taşıyan bu izolatların hücresiz filtratları enzimler ile muamele edildiğinde yüksek oranda antimikrobiyal aktivite kaybı gözlenmiş olması izolatların enzimlere duyarlı, protein doğasında antimikrobiyal bileşikler olduğunu düşündürmektedir.

Leuconostoc türleri; fermente sebzelerde, süt ürünlerinde ve şaraplarda bulunan, heterofermentatif laktik asit bakterileridir. *Leuconostoc* içerisinde yer alan birkaç türün bakteriyosin ürettiği bilinmektedir. Bu bakteriler geleneksel olarak diğer laktik asit bakterileri ile birlikte doğal ya da fermente gıdaları korumak için kullanılmaktadır. *Leuconostoc* cinsine dahil strainlerin bazılarının leucocin A, mesentericin Y105, mesentericin 52, leuconocin J gibi bakteriyosinler ürettiği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Choi ve ark., 1999). Yapılan bir çalışmada vakumla paketlenmiş etlerden izole edilen *Leuconostoc gelidum* UAL 187, straininin, ısıya ve düşük pH değerlerine dayanıklı, proteolitik enzimlere

hassas leucocin A-UAL 187 isimli bir bakteriyosin ürettiği bildirilmiştir (Hastings ve ark., 1991). Park ve ark. (2005) yaptıkları çalışmalarda bitkisel orijinli *Leuconostoc citreum* IH3 straininde bulunan pIH01 plazmitinin karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir.

Çalışmamızda seçilmiş olan 52 izolattan 2 tanesi *Leuconostoc* türü olarak tanımlanmıştır. Bunlardan 24.P2.1 numaralı izolat *Leuconostoc sp.* olarak tanımlanmış ve bu izolattan elde edilen hücresiz filtrat enzimlerle muamele sonucunda yüksek oranda aktivite kaybı göstermiştir. Bu nedenle izolatın ürettiği antimikrobiyal bileşiğin proteolitik enzimlere karşı hassas olduğu düşünülmektedir. *L. citreum* olarak tanımlanan 220.K1.9 numaralı izolatın filtratı ise pronaz varlığında aktivitesini neredeyse tamamen kaybederken diğer enzim ilavelerinde daha düşük oranlarda aktivite kaybı göstermiştir.

Enterokoklar, klinik ve çevresel mikrobiyolojide önemli roller üstlenen bir diğer mikroorganizma grubunu oluşturmaktadır. *Enterococcus*'un ayrı bir cins olarak anılmaya başlaması ve gelişen identifikasyon yöntemleri ile birlikte bu cinsa dahil birkaç yeni tür tanımlaması yapılmış olmasına karşın, *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* insanlarda ve özellikle süt ürünlerinde en çok rastlanan türler olarak görülmektedir. Bu bakteriler özellikle çeşitli peynirlerde, pastörize sütlerde, inek sütlerinde bulunmakta ve peynirin kalitesinde önemli rol üstlenmektedir. Bir diğer yandan ise Enterokoklar fekal kontaminasyon indikatörü olarak kullanılmakta ve hastane ile ilişkili hastalarda çeşitli enfeksiyonlara yol açtığı bilinmektedir (Jurkovic ve ark., 2007). Laktik asit bakterilerinin *Enterococcus* türleri zararsız, bağırsak mikroorganizmaları olarak görülürken, hastalık etmeni enterokokların çeşitli antibiyotiklere oldukça dirençli olan, diğer bakteri türlerindeki konjugatif plazmitler ve transpozonlar aracılığı ile direnç kazanan, türlerle ilişkili bulunmaktadır. Benzer şekilde bakteriyosin üreten enterokoklarda üretim genellikle pAD1, pMB2 deki AS-48, pMB1 deki Bc-48 gibi plazmitlerle ilişkili olarak bulunmaktadır (Ruiz-Barba ve ark., 2007).

Özellikle son 10 yıldır, gıdalarda bulunan ve bakteriyosin üreten enterokoklar ile daha çok *E. faecium* strainleri ile ilgili olarak yayımlar bulunmaktadır. Bakteriyosin üreten strainlerin çoğu süt ürünlerinden, sucuklardan ve sebzelerden elde edilmiştir. Yapılan çalışmalarda İtalyan keçi, sütünde bulunan

2 farklı *E. faecium* straini izole edilmiş ve bunların bakteriyosin üretim yeteneğinde olduğu bildirilmiştir (Cocolin ve ark., 2007). Yapılan bir başka çalışmada da Tunus da bulunan peynirlerden elde edilen *E. faecium* MMT21 izolatının enterocin A ve enterocin B adında, tripsin ve proteinaz K enzimlerine duyarlı iki yeni tipte bakteriyosin ürettiği bildirilmiştir (Ghraiiri ve ark., 2007). Shibata ve ark. (2007) yaptıkları çalışmalarda fermente ham pirinçte *E. faecium*'un amilolitik özellikte yeni bir strainini bulduklarını bildirmişlerdir.

İzolatlardan 8 tanesi *E. faecium* olarak bulunmuştur. Bu izolatlardan 145.PP5.2, 169.P6.11 ve 299.SS4.19 numaralarını taşıyan izolatlardan elde edilen hücresiz filtratlar enzim ilaveleri ile birlikte antimikrobiyal aktivitelerini büyük ölçüde kaybetmişlerdir. 97.P4.28 ve 99.P4.30 numaralı izolatların hücresiz filtratları ise diğer enzimlerden de etkilenmekle birlikte pronaz ve α -amilaz varlığında neredeyse tüm aktivitelerini kaybetmişlerdir. Özellikle α -amilaz ve pronaz varlığında görülen aktivite kaybı bu strainlerin ürettiği antimikrobiyal bileşiğin 4. sınıf bakteriyosinlere yakın olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte 29.P2.6, 168.P6.8 ve 294.S4.19 numaralı izolatların filtratları pronaz ve α -amilaz varlığında bir miktar aktivite kaybı göstermekle birlikte *E. faecalis* olarak tanımlanan diğer izolatlara nazaran aktivitelerini büyük ölçüde korumuşlardır.

Çalışmamızda, enzimlerin ve sıcaklık uygulamasının antimikrobiyal aktivite üzerindeki etkilerinin belirlenmesi ile birlikte kısmen proteolitik enzimlere ve sıcaklığa tolerans gösterdiği düşünülen 10 izolat belirlenmiş, bu izolatlar tarafından üretilen antimikrobiyal maddelerin farklı sıcaklık ve pH değerlerine karşı dayanıklılığı araştırılmıştır. Seçilen izolatlardan 2 tanesi (8.P1.8 ve 28.P2.5) *Lactobacillus sakei*, 5 tanesi (67.P3.22, 150.P6.3, 161.P5.6, 164.P6.6 ve 169.P6.9) *Lactobacillus plantarum*, 3 tanesi (29.P2., 168.P6.8 ve 277.S3.11) *Enterococcus faecium* türlerine ait olan izolatlardır

Yüksek ve düşük pH değerlerinin (pH: 1, 9, 11 ve 13) antimikrobiyal etki gösteren maddeyi etkilediği gözlenmiştir. Bununla birlikte 29.P2.6, 161.P5.6 ve 167.P6.9 numaralı izolatlara ait filtratların yalnızca pH 5 de yani kendi doğal pH değerlerinde iken etkilerini kaybetmedikleri, diğer izolatlara ait filtratların ise pH:3 pH:5ve pH:7 de etkilerini sürdürdükleri gözlenmiştir. Ayrıca filtratların doğal pH değerleri ile kullanılmaları durumunda pH:5,5 e ayarlanmış durumlarına

kıyasla daha etkili oldukları bulunmuştur. Hücresiz filtratlardaki etken maddenin yüksek pH değerlerinden ziyade asidik koşullardan etkilenmemesi, izolatların normal şartlar altında ortamın pH değerini düşürmesine ve kısmen asidik ortamlarda gelişmeye adapte olmasına bağlanabilir.

Sıcaklığın antimikrobiyal aktivite üzerine etkisinin belirlenmesi çalışmaları sonucunda izolatların sıcaklık ile muamelesiyle birlikte genel olarak test organizmalarına karşı inhibe edici etkinin stabil kaldığı gözlemlenmiştir. 8.P1.8, 164.P6.10, 167.P6.9, 168.P6.10 ve 277.S3.11 izolatlarına ait filtratlar sıcaklık uygulamalarında *S. aureus* hariç diğer test bakterilerine karşı etkili olarak bulunmuştur. Bununla birlikte sıcaklık uygulaması ile 29.P2.6 izolatına ait filtrat bütün sıcaklık uygulamalarında antimikrobiyal etkisini tamamen kaybetmiştir. Benzer şekilde yapılan araştırmalarda değişik araştırmacılar çeşitli laktik asit bakterilerinin ısıya karşı dirençli bakteriyosinler ürettiğini bildirmiştir (Choi ve ark., 1999; Ghrairi ve ark., 2007). Özellikle gıdaların işlenmesi sırasında genellikle ısı uygulamalarının yapıyor olması, gıdaların korunması için kullanılan bakteriyosin ve bakteriyosin bezeri maddelerin sıcaklık stabilitesine sahip olmalarının önemini artırmaktadır. Bu nedenle seçilen izolatların ürettikleri antimikrobiyal bileşiklerin genel olarak sıcaklık muamelesine karşı dirençli bulunmaları oldukça önemli bir özelliği oluşturmaktadır.

Ülkemizde benzer olarak yapılan çalışmalarda Çon ve Gökalp (2000) Türkiye'nin farklı bölgelerinden alınan 51 sucuk örneğini bakteriyosin üretimi gerçekleştirebilen laktik asit bakterileri açısından incelemiş ve izole ettikleri 424 izolattan 57 tanesinin bakteriyosin benzeri metabolitler ürettiğini bildirmişlerdir. Benzer bir çalışmada araştırmacılar Denizli'den elde edilen 10 sucuk örneğini fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik karakteristikleri için analiz etmişler ve toplamda izole ettikleri 100 strainden 6 tanesinin bakteriyosin benzeri metabolitleri ürettiğini, bu izolatların starter kültür olarak kullanılabilme potansiyellerinin bulunduğunu bildirmişlerdir (Yaman ve ark., 1998).

Laktik asit bakterilerinin bakteriyosin üretimi dışında hidrojen peroksit laktik asit, diasetil gibi maddelerin üretimi ile de çeşitli mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etki gösterdikleri yapılan birçok çalışmada bildirilmiştir (Zhu ve ark., 2000; Kurt ve Zorba, 2005). Yapılan çeşitli çalışmalar bu

bakterilerde laktik asit ve hidrojen peroksit miktarının türe bağılı olarak değişmekle birlikte yüksek olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda izolatların laktik asit miktarları 1,36 – 22,96 mg/ml arasında, proteolitik aktivite miktarları 0,001 – 0,487 mg/ml arasında, hidrojen peroksit üretim miktarları 0,001 – 1,082 µg/ml arasında bulunmuştur. Genel olarak yüksek bulunan hidrojen peroksit ve laktik asit miktarları izolatlardan elde edilen ve modifiye edilmeyen saf filtratların test organizmalarına karşı gösterdiği yüksek antimikrobiyal etkiyi açıklamaktadır. Çalışmalar sırasında kullanılan izolatlardan *L. plantarum* olarak tanımlanan 148.P5.5 numaralı izolat en yüksek laktik asit miktarına sahip örnek olarak, *P. acidilactici* olarak tanımlanan 48.P3.3. numaralı izolat en yüksek proteolitik aktiviteye sahip örnek olarak, *W. hellenica* olarak tanımlanan 27.P2.4 numaralı izolat en yüksek hidrojen peroksit miktarına sahip örnek olarak belirlenmiştir. Ülkemizde çeşitli laktik asit bakterilerinin ürettikleri hidrojen peroksit, laktik asit gibi metabolitlerin miktar ve etkileri ile ilgili çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Mumcu (1997) kefirde izole ettiği *Lactobacillus* suşlarının hidrojen peroksit üretim miktarının 0,04–0,019 µg/ml arasında olduğunu bildirmiştir. Yapılan bir başka çalışmada yoğurtdan izole edilen *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* izolatlarının hidrojen peroksit üretim miktarlarının 0,26–0,51 µg/ml arasında olduğu bulunmuştur (Aslım ve ark., 2000). Erdoğan ve ark.(2002) yaptıkları çalışmalarda Kahramanmaraş piyasasında satılan 7 adet değişik marka sucuk örneğinden *Pediococcus* cinsine ait 34 tür bakteri izole etmiş ve. identifiye edilen suşların oluşturdukları laktik asit miktarlarını % 0,11–0,32 düzeyinde belirlenirken, H₂O₂ miktarlarını 0,41–0,81 g/ml arasında tespit ettiklerini bildirmiştir. Toksoy ve ark. (1999) yaptıkları çalışmalarda piyasada satılan 10 değişik marka sucuk ve sosis örneğinden *Lactobacillus* cinsine dahil 97 adet bakteri izole etmiş ve identifiye edilen suşların oluşturdukları laktik asit miktarının %0.61–0.88; H₂O₂ miktarının 1.80–3.45 µg/ml arasında olduğunu belirtmişlerdir.

Escenbach ve ark. (1989) yaptıkları çalışmalarda bakterial vajinozis olan kadınlar ve sağlıklı kadınlarda *Lactobacillus* türleri tarafından hidrojen peroksit üretim miktarlarını karşılaştırmış ve hastalık taşıyan kadınlarda üretimin arttığını bildirmiştir. Çeşitli araştırmacılar *Lactobacillus* türlerindeki H₂O₂ üretiminin

belirlenmesi için kullanılan ortamın optimizasyon çalışmalarını gerçekleştirmiştir (Rabe ve Hillier, 2003).

Her ne kadar *Bacillus*, *Proteus*, *Pseudomonas* gibi çeşitli bakteri grupları ile kıyaslandığı zaman laktik asit bakterilerinde görülen proteolitik aktivite zayıf bulunsada, özellikle süt ürünlerinde meydana getirilen proteolizis olayı göz önüne alındığında laktik asit bakterilerinde görülen proteolitik aktivitenin önemi açığa çıkmaktadır. Yapılan çeşitli çalışmalar bu bakterilerden laktobasiller arasında proteolitik aktivitenin daha yüksek olduğunu göstermektedir (Law ve Kolstad, 1983). Rajagopal ve Sandine (1990) tarafından yapılan çalışmada *Lactobacillus bulgaricus* strainlerinin ürettikleri proteolitik aktivite miktarı 61–144,6 µg tirozin/ml olarak bulunurken *S. thermophilus* strainlerinin proteolitik aktivitesinin 2,4–14,8 µg tirozin/ml arasında bulunduğu belirtilmiştir. Benzer olarak yapılan bir başka çalışmada Beyatlı ve Tunail (1984) sütle bulunan *S. thermophilus* strainlerinin proteolitik aktivitesinin 0,2–1,0 mg tirozin/ml arasında olduğunu belirtmişlerdir.

Laktik asit bakterilerinde ekzopolisakkarit (EPS) üretimi çeşitli fermente gıdalarda yapı ve rheological özelliklerin oluşumunda önem taşıdığı için bu bakterilerin EPS üretim yetenekleri ve gıdalar üzerindeki etkileri çeşitli araştırmalara konu olmaktadır (Bouzar ve ark., 1999). Günümüze kadar yapılmış olan çeşitli araştırmalarda *S. thermophilus* da EPS üretiminin artırılması için çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Levander ve ark., 2002). Van Calsteren ve ark. (2002) yaptıkları çalışmalarda *Lactobacillus rhamnosus* strainlerinde üretilen EPS'nin yapısal araştırmalarını gerçekleştirmişlerdir.

İzolatların EPS üretimi ile ilgili yapılan çalışmalarda, EPS üretiminin zayıf olduğu bulunmuştur. İzolatların fruktoz şekeri bulunan ortamda hiçbirinin EPS üretmediği gözlemlenmiştir. Glikoz içeren ortamda seçilen örneklerden yalnızca 4 tanesi, laktoz içeren ortamda ise yalnızca 2 tanesinin EPS üretme ihtimalinin olduğu gözlenmiştir. Yapılan çalışmada izolatların EPS üretimini en çok destekleyen şeker kaynağının sukroz içeren ortam olduğu bulunmuştur.

Laktik asit bakterinin çoğu antibiyotiklere dirençlidir. Bu dirençliliğin yapısal olduğu ve transfer edilemediği kabul edilmektedir (Adams ve Marteau, 1995; Charteris ve ark., 1998; Saminen ve ark., 1998). Bununla beraber *L.*

fermentum, *L. plantarum*, *L. reuteri* gibi bazı laktik asit bakterilerinin plazmitler tarafından kodlanan antibiyotik dirençlilik genlerini taşıdığı bildirilmiştir (Ishiwa ve Iwata, 1980; Ahn ve ark., 1992; Tannock ve ark., 1994; Fons ve ark., 1997). Antibiyotik dirençliliğinin patojen veya patojen olmayan bakterilere transferi sağlık açısından ve probiyotiklerin güvenilirliği açısından büyük önem taşımaktadır. Plazmitlerle taşınan antibiyotik dirençlilik özelliği gösteren suşların veya strainlerin insan ve hayvanlarda probiotik olarak kullanılması uygun değildir. Diğer taraftan transfer edilemeyen dirençlilik uygulamalarda yararlı olabilmektedir (Salminen ve ark., 1998).

Yapılan çalışmada seçilmiş olan 52 izolatın antibiyotik duyarlılık testi için Seftriakson, Siprofloksasin, Penisilin- G, Gentamisin ve Netilmisin Sülfat olmak üzere 5 farklı antibiyotik kullanılmış ve sonuçlar Çizelge 3.10 da gösterilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda izolatların kullanılan antibiyotiklere direnç ve duyarlılık durumları kültürden kültüre değişiklik göstermekle birlikte, izolatların genel olarak Seftriakson' a karşı dirençli oldukları Siprofloksasin, Penisilin- G, Gentamisin ve Netilmisin Sülfat' a ise çoğu izolatın duyarlı olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte 9.P1.9 (*L. plantarum*), 161.P5.6 (*L. plantarum*) numaralı izolatlar hemen hemen kullanılan tüm antibiyotiklere karşı oldukça dirençli bulunmuşlardır. Benzer olarak yapılan bir çalışmada *L. plantarum*'un Gentamisin, Neomisin, Kanamisin, Streptomisin gibi antibiotiklere dirençli olduğu bildirilmiştir (Zhou ve ark., 2005).

Fermente gıdaların üretiminde starter bakterilerin kullanımı ile birlikte daha kaliteli ve standart tipte ürünler elde etme çalışmaları ve starter kültür olarak laktik asit bakterilerinin kullanımı günümüz dünyasında oldukça ilgi gören bir konu olmasına rağmen ülkemizde starter kültür ilavesi ile et ürünleri üretimi ve bu konuda yapılan çalışmalar daha sınırlı miktardadır. Bununla birlikte yapılan çeşitli çalışmalarda sucuk üretiminde starter kültür kullanılması ve kullanılmaması durumunda *L. monocytogenes* sayısındaki değişim incelenmiş ve *L. plantarum*, *L. sakei* gibi çeşitli laktik asit bakterilerinin starter kültür olarak kullanımı ile *L. monocytogenes* sayısında yüksek oranda düşüş görüldüğü bildirilmiştir (Kaya ve Gökalp, 2004). Benzer biçimde gerçekleştirilen bir başka çalışmada araştırmacılar bakteriyosin oluşturan starter kültür kullanımının fermente sucuklarda *L.*

monocytogenes üzerine etkisini araştırmışlar ve starter kültür kullanımının yarattığı olumlu etkileri bildirmişlerdir (Erol ve ark., 1999).

Laktik asit bakterilerinin gıda alanında kullanım potansiyelleri ile dikkati çektiği günümüzde, et ve et ürünlerindeki laktik asit bakterilerinin araştırılması, antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi gibi konular oldukça yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Özellikle ülkemizde fermente et üretiminde starter kültür kullanımının yaygın olmayışı, bu konuda yapılan çalışmalarda eksiklikler önemli bir sorun teşkil etmektedir. Bu çalışma ile; et ve et ürünlerinden antimikrobiyal özelliğe sahip yerel suşların seçilmesi, izole edilen bakterilerin çeşitli yöntemler ile (biyokimyasal, moleküler testler) tanımlanması, antimikrobiyal özelliğin bakteriosin mi yoksa suşlar tarafından üretilen diğer metabolitler tarafından mı olduğunun ortaya konması, EPS (ekzopolisakkarit) üretim yetenekleri ortaya konmaya çalışılmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçlar izole edilen ve yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olan izolatların et ve et ürünleri üretiminde starter kültür olarak kullanılabilme potansiyeli olduğunu düşündürmektedir. Bununla birlikte üretimde kullanılacak özellikte suşların seçimi için mevcut çalışmanın daha ilerki safhalara taşınması gerekmektedir. Özellikle antimikrobiyal aktivitenin enzimlerle olan ilişkisi, asit ve sıcaklık toleransı gibi özelliklerinin belirlenmesinden sonra, bakteriyosin olduğu düşünülen proteinlerin saflaştırılması, moleküler analizlerinin yapılması, DNA sekans analizlerinin gerçekleştirilmesi ve mevcut antimikrobiyal maddenin bakteriyosin olduğunun kesin olarak ispatlanması gerekmektedir.

Özellikle çalışmada yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunan *L. plantarum* olarak tanımlanan, 150.P6.3, 161.P5.6, 164.P6.6. ve *E. faecium* olarak tanımlanan 168.P6.10 numaralı izolatların genel olarak proteolitik enzimlere ve sıcaklığa dirençli, düşük pH değerlerinde aktivite sergileyen antimikrobiyal madde ürettiği belirlenmiş olup, bu izolatların daha ilerki çalışmalarla birlikte gıdalarda koruyucu olarak kullanılabilme potansiyeli olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Adams, M.R., Marteau, P. (1995), 'On the safety of lactic acid bacteria from food,' *International Journal of Food Microbiology*, **27**, 263-264.
- Ahn, C., Thompson, D.C., Duncan, C., Stiles, M.E. (1992), 'Mobilization and location of the genetic determinant of chloramphenicol resistance from *Lactobacillus plantarum* Ca TCRR,' *Plasmid*, **27**, 169-176.
- Akçelik, M., Ayhan, K., Çakır, İ., Doğan, H.B., Gürgün, V., Halkman, A., Kaleli, D., Kuleaşan, H., Özkaya, D.F., Tunail, N., Tükel, Ç. (2000), *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Birimi, Ankara, 2. Baskı, 229-275, 514-515.
- Akçelik, M., Şanlıbaba, P., Tükel, Ç., Tuncer, Y. (2001), 'Laktokoklarda Endüstriyel Açından Önem Taşıyan Özelliklerin Genetik Determinantları,' *Turk J Vet Anim Sci*, **25**, 615-621.
- Aksu, M.İ., Kaya, M. (2002), 'Farklı Kürlenme Yöntemleri ve Starter Kullanılarak Pastırma Üretimi,' *Turk J Vet Anim Sci*, **26**, 909-916.
- Albano, H., Todorov, S.D., Reenen, C.A., Hogg, T., Dicks, L.M.T., Teixeira, P. (2007), 'Characterization of two bacteriocins produced by *Pediococcus acidilactici* isolated from 'Alheria', a fermented sausage traditionally produced in Portugal,' *International Journal of Food Microbiology*, **116**, 239-247.
- Ammor, S., Rachman, C., Chaillou, S., Prevost, H., Dousset, X., Zagorec, M., Dufour, E., Chevallier, I. (2005), 'Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from a small-scale facility producing traditional dry sausages,' *Food Microbiology*, **22**, 373-382.
- Ammor, S., Tauveron, G., Dufour, E., Chevallier, I. (2006), 'Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility 1-Screening and characterization of the antibacterial compounds,' *Food Control*, **17**, 454-461.
- Anonim (1997), *Disk Diffusion Susceptibility Testing (Kirby-Bauer Method)*, <http://www.addl.purdue.edu/newsletters/1997/spring/dds.shtml>

- Anonim (2007), *Sigma&Aldrich*,
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/SpecificationSheetPage/SIGMA/B2176>
- Apaydın, G., Ceylan, Z.G., Kaya, M. (2003), 'Değişik Firmalara Ait Salamların Bazı Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özellikleri,' *Turk J Vet Anim Sci*, **27**, 1299–1303.
- Arıcı, M. (2005), 'Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Çoğalması Üzerine Patulinin Etkisi,' *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, **2** (1), 36–43.
- Aslım, B. (1994), *Lactobacillus bulgaricus ve Streptococcus thermophilus Bakterilerinin Metabolik ve Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Bazı Fiziksel ve Kimyasal Mutajenlerin Etkisi, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara.*
- Aslım, B., Beyatlı, Y., Halkman, K. (2000), 'Yoğurt Starter Kültür Metabolitlerinin İnhibisyon Etkisi,' *Turk J. Biol* **24**: 65-78.
- Aymerich, M.T., Garriga, M., Monfort, J.M., Nes, I. and Hugas, M. (2000), 'Bacteriocin-producing lactobacilli in Spanish-style fermented sausages: characterization of bacteriocins,' *Food Microbiology* **17**, 33-45.
- Balows, A., Trüper, H.G., Dworkin, M., Harder, W., Schleifer, K.H. (1992), *The Prokaryotes, A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications*, Volume II, Springer-Verlag, New York, 1483-1581.
- Başkaya, R., Karaca, T., Sevinç, İ., Çakmak, Ö., Yıldız, A., Yörük, M. (2004), 'İstanbul'da Satışa Sunulan Hazır Kıymaların Histolojik, Mikrobiyolojik ve Serolojik Kalitesi,' *YYÜ Veterinerlik Fak. Dergisi*, **15** (1–2): 41–46.
- Beasley, S. (2004), *Isolation, identification and exploitation of lactic acid bacteria from human and animal microbiota*, Academic Dissertation in Microbiology, University of Helsinki, Faculty of Agriculture and Forestry Sciences, Finland.
- Bennik, M.H.J., Verheul, A., Abee, T., Naaktgeboren-Stofels, G., Gorris, L.G.M. ve Smid, E.J. (1997), 'Interaction of Nisin and Pediocin PA-1 with Closely Related Lactic Acid Bacteria That Manifest over 100-Fold Differences In Bacteriocin Sensitivity,' *Applied and Environmental Microbiology*, **63** (9), 3628–3636.

- Beyatlı, Y. ve Tunail. N. (1984), 'Relationship between lactic acid production and proteolytic activity of thermophilic lactic microorganisms isolated from yogurt,' *J. Dairy Sci.*, **67** (1), 83-87.
- Bhunia, A.K., Johnson, M.C., Ray, B. (1988), 'Purification, characterization and antimicrobial spectrum of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*,' *Journal of Applied Bacteriology*, **65**, 261-268.
- Björkroth, K., Schillinger, U., Geisen, R., Weiss, N., Hoste, B. Holzapfel, W.H., Korkeala, H.J. and Vandamm, P. (2002), 'Taxonomic study of *Weissella confusa* and description of *Weissella cibaria* sp. nov., detected in food and clinical samples,' *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **52**, 141-148.
- Bouzar, F., Cerning, J., Desmazeaud, M. (1996), 'Exopolysaccharide Production in Milk by *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* CNRZ 1187 and by Two Kolonial Variants,' *Journal of Dairy Science*, **79** (2), 205–211.
- Bromberg, R., Moreno, I., Zaganini, C.L., Delboni, R.R., Oliveira, J. (2004), 'Isolation of bacteriosin-Producing Lactic Acid Bacteri from Meat Products and Its Spectrum of Inhibitory Activity,' *Brazillian Journal of Microbiology* **35**: 137-144.
- Bruno, M.E.C. and Montville, T.J. (1993), 'Common Mechanistic Action of Bacteriosins from Lactic Acid Bacteria,' *Applied and Environmental Microbiology*, **59** (9), 3003–3010.
- Cai, Y., Benno, Y., Nakase, T. and Ohi, T. (1998), 'Specific probiotic characterization of *Weissella hellenica* DS-12 isolated from flounder intestine,' *J. Gen. Applied. Microbiology*, **44**, 311–316.
- Caplice, E., Fitzgerald, G.F. (1999). 'Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation,' *International Journal of Food Microbiology*, **50**, 131–149.
- Champagne, C.P., Gardner, N.J., Lacroix, C. (2007), 'Fermentation technologies for the production of exopolysaccharide synthesizing *Lactobacillus rhamnosus* concentrated cultures,' *Journal of Biotechnology*, **10** (2), 211–220.

- Charteris, W.P., Kelly, P.M., Morelli, L., Collins, J.K. (1998), 'Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus tür,*' *Journal of Food Protection*, **61**, 1636-1643.
- Choi, H.J., Lee, H.S., Her, S., Oh, D.H., Yoon, S.S. (1999), 'Partial characterization and cloning of leuconocin J, a bacteriocin produced by *Leuconostoc sp.* J2 isolated from the Korean fermented Vegetable Kimchi,' *Journal of Applied Microbiology* **86**, 175–181.
- Choi, H.J., Cheigh, C.I., Kim, S.B., Pyun, Y.R. (2000), 'Production of a nisin-like bacteriocin by *Lactococcus lactis subsp. lactis* A164 isolated from Kimchi,' *Journal of Applied Microbiology*, **88**, 563–571.
- Christensen, M.D., Albury, M.N, Pederson, C.S. (1958), 'Variation in the Acetic Acid-Lactic Acid Ratio Among the Lactic Acid Bacteria,' *Applied and Environmental Microbiology*, **6** (5), 316-318.
- Christensen, M.D. ve Pederson, C.S. (1958), 'Factors Affecting Diacetyl Production by Lactic Acid Bacteria,' *Applied and Environmental Microbiology*, **6** (5); 319–322.
- Cleveland, J., Montville, T.J., Nes, I.F., Chikindas, M.L. (2001) 'Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation,' *International Journal of Food Microbiology*, **71** (1), 1-20.
- Cocolin, L., Foschino, R., Comi, G., Fortina, M.G. (2007), 'Description of the bacteriocins produced by two strains of *Enterococcus faecium* isolated from Italian goat milk,' *Food Microbiology*, unpublished article.
- Coşkun, F. (2006), 'Gıdalarda Bulunan Doğal Koruyucular,' *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, **2**, 27–33.
- Çon, A.H., Gökalp, H.Y. (2000), 'Production of bacteriocin-like metabolites by lactic acid cultures isolated from sucuk samples,' *Meat Science*, **55**, 89-96.
- Çotuk, A., Anğ-Küçüker, M. (1992), *Biyologlar için Mikrobiyoloji Laboratuar Kılavuzu*, İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 127–128.
- Danacıoğlu, Ö. (2007), '*Fermente Et Ürünleri İşleme Teknolojisi*,' <http://gidamuhendisi.tripod.com/FERMENTE.HTM>

- Delgado, A., Brito, D., Fevereiro, P., Peres, C., Figueiredo Marques, J. (2001), 'Antimicrobial activity of *L. plantarum*, isolated from a traditional lactic acid fermentation of table olives,' *INRA, EPD Sciences*, **81**, 203-215.
- Diep, D.B., Axelsson, L., Grefslı, C. and Nes, I.F. (2000), 'The synthesis of the bacteriocin sakacin A is a temperature-sensitive process regulated by a pheromone peptide through a three-component regulatory system,' *Microbiology*, **146**, 2155-2160.
- Doğruer, Y., Nizamlıoğlu, M., Gürbüz, Ü., Kayaardı, S. (1998), 'Çeşitli Çemen Karışımlarının Pastırma Kalitesine Etkisi II; Mikrobiyolojik Nitelikler,' *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences*, **22**, 221-229.
- Drinan, D.F., Tobin, S., Cogan, T.M. (1976), 'Citric Acid Metabolism in Hetero- and Homofermentative Lactic Acid Bacteria,' *Applied and Environmental Microbiology*, **31** (4), 481-486.
- Drosinos, E.F., Paramithiotis, S., Kolovos, G., Tsikouras, I., Metaxopoulos, I. (2007), 'Phenotypic and technological diversity of lactic acid bacteria and staphylococci isolated from traditionally fermented sausages in Southern Greece,' *Food Microbiology*, **24**, 260-270.
- Dupuis, C., Corre, C., Boyaval, P. (1995), 'Proteinase activity of dairy Propionibacteriu,' *Applied Microbiolog and Biotechnology*, **42** (5), 750-755.
- Egan, A.F. (1983), 'Lactic acid bacteria of meat and meat products,' *Antonie van Leeuwenhoek*, **49**, 327-336.
- Eijsink, V.G.H., Skeie, M., Middelhoven, P.H., Brurberg, M.B., Nes, I.F. (1998), 'Comparative Studies of Class Ila Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria,' *Applied and Environmental Microbiology*, **64** (9), 3275-3281.
- Elferink, S.J.E.H., Krooneman, J., Gottschal, J.C., Spoelstra, S.F., Faber, F., Driehuis, F. (2001), 'Anaerobic Conversion of Lactic Acid to Acetic Acid and 1,2-Propanediol by *Lactobacillus buchneri*,' *Applied and Environmental Microbiology*, **67** (1), 125-132.
- Ercoloni, D., Russo, F., Torrieri, E., Masi, P. and Villani, F. (2006), 'Changes in the Spoilage-Related Microbiota of Beef during Refrigerated Storage under

- Different Packaging Conditions,' *Applied and Environmental Microbiology*, **72** (7), 4663-4671.
- Erdoğrul, Ö.T., Çetin, Ö., Ergün, Ö. (2002), 'Fermente Sucuklardan İzole Edilen *Pediococcus pentosaceus* Suşlarının Bazı Metabolik ve Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Çalışmalar,' *İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, **28** (1), 294-254.
- Erol, İ., Çelik, T.H., Şireli, U.T., Özdemir, H. (1999), 'Bakteriyosin Oluşturan Starter Kültürlerin Fermente Türk Sucuklarında *Listeria monocytogenes* Üzerine Etkisi,' *Tr. J. of Veterinary and Animal Science*, **23**, 793–802.
- Eschenbach, D.A., Davick, P.R., Williams, B.L., Klebanoff, S.J., Young-Smith, K., Critchlow, C.M., Holmes, K.K. (1989), 'Prevalence of hydrogen Peroxide-Producing *Lactobacillus* Tür in Normal Women and Women with Bacterial Vaginosis,' *Journal of Clinical Microbiology*, **27** (2), 251–256.
- Felten, A., Barreau, C., Bizet, C., Lagrange, P.H., Philippon, A. (1999), '*Lactobacillus* Tür Identification, H₂O₂ Production, and Antibiotic Resistance and Correlation with Human Clinical Status,' *Journal of Clinical Microbiology*, **37** (3), 729–733.
- Filiz, N. (2002), 'Yüksek Isı Uygulaması İle Üretilen "Türk Sucuklarında" Starter Kültür Kullanımı Üzerine Araştırmalar,' *İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, **28** (1), 17–29.
- Fons, M., Hege, T., Ladire, M., Panibauol, P., Ducluzeau, R., Maguin, E. (1997), 'Isolation and characterization of a plasmid from *Lactobacillus fermentum* conferring erythromycin resistance,' *Plasmid*, **37**, 199-203.
- Franz, C.M.A.P, Toit, M., Olasupo, N.A., Schillinger, U. and Holzapfel, W.H. (1998), 'Plantaricin D, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* BFE 905 from ready-to-eat salad,' *Letters in Applied Microbiology*, **26**, 231-235.
- Ganzle, M.G., Vogel, R.F. (2003), 'Contribution of reutericyclin production to the stable persistence of *Lactobacillus reuteri* in an industrial sourdough fermentation.' *International Journal of Food Microbiology*, **80**, 31– 45.

- Ganzle, M.G., Vermeulen, N., Vogel, R.F. (2007), 'Carbohydrate, peptide and lipid metabolism of lactic acid bacteria in sourdough,' *Food Microbiology*, **24**, 128-138.
- Geredeli, S. ve Anlı, E. (2005), 'Şaraplardaki Laktik Asit Bakterilerinin Malolaktik Fermantasyondaki Önemleri,' *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, **3** (1), 1-14.
- Ghraiiri, T., Frere, J., Berjeaud, J.M., Mania, M. (2007), 'Purification and characterisation of bacteriocins produced by *Enterococcus faecium* from Tunisian rigouta cheese,' *Food Control*, unpublished article.
- González, L., Sandoval, H., Sacristán, N., Castro, J.M., Fresno, J.M., Tornadijo, M.E. (2007), 'Identification of lactic acid bacteria isolated from Genestoso cheese throughout ripening and study of their antimicrobial activity,' *Food Control*, **18**, 716-722.
- Gültekin, M. (2004), 'Probiyotikler' *ANKEM Dergisi*, **18** (Ek 2): 87-89.
- Gürsoy, O. ve Kınık, O. (2005), 'Laktobasiller ve Probiyotik Peynir Üretiminde Kullanım Potansiyelleri,' *Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **11** (3), 361-371.
- Gürsoy, O. ve Kınık, Ö. (2006), 'Peynir Üretiminde Probiyotik Bakterilerin Kullanımı: Probiyotik Peynir,' *Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **12** (1), 105-116.
- Güven, A. Ve Patır, B. (1998), 'Elazığ İlinde Tüketime Sunulan Et ve Bazı Et Ürünlerinde *Listeria* Türlerinin Araştırılması,' *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences*, **22**, 205-212.
- Halami, P.M., Chandrashekar, A., Nand, K. (2000), 'Lactobacillus farciminis MD, a new strain with potential for bacteriocin and antibiotic assay,' *Letters in Applied Microbiology*, **30**, 197-202.
- Halami, P.M., Chandrashekar, A. (2005), 'Enhanced production of Pediocin C20 by a native strain of *Pediococcus acidilactici* C20 in an optimized food-grade medium,' *Process Biochemistry*, **40**, 1835-1840.
- Halkman, A.K. (2005), *Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*, Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd. Şti. Ankara, 73-89, 250.
- Hampikyan, H., Çolak, H. (2007), 'Nisin ve Gıdalardaki Antimikrobiyal Etkisi,' *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*, **6** (2), 142-147.

- Harris, L.J., Fleming, H.P. and Klaenhammer, T.R. (1992), 'Characterization of two nisin-producing *Lactobacillus lactis subsp. lactis* strains isolated from a commercial sauerkraut fermentation,' *Applied and Environmental Microbiology*, **58**, 1477–1483.
- Hastings, J.W., Sailer, M., Johnson, K., Roy, K.L., Vederas, J.C. and Stilers, M.E. (1991), 'Characterization of Leucocin A-UAL 187 and Cloning of the Bacteriocin Gene from *Leuconostoc gelidum*,' *Journal of Bacteriology*, **173** (23), 7491–7500.
- Helander, I.M., Wright, A., Mattila-Sandholm, T.M. (1997), 'Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against Gram-negative bacteria,' *Trends in Food Science & Technology*, **8**, 146-150.
- Heller, K.J. (2001), 'Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms,' *American Journal of Clinical Nutrition*, **73**, 374S - 379S.
- Hequet, A., Laffitte, V., Simon, L., Sousa-Caetano, D., Thomas, C., Fremaux, C., Berjeaud, J.M. (2007), 'Characterization of new bacteriocinogenic lactic acid bacteria isolated using a medium designed to simulate inhibition of *Listeria* by *Lactobacillus sakei* 2512 on meat,' *International Journal of Food Microbiology*, **113**, 67-74.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H., Staley, J.T., Williams, S.T. (2000), *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 527-567.
- Ishiwa, H., Iwata, S. (1980), 'Drug resistance plasmids in *Lactobacillus fermentum*,' *Journal of General and Applied Microbiology*, **26**, 71-74.
- İnanç, N., Şahin, H., Çiçek, B. (2005), 'Probiyotik ve Prebiyotiklerin Sağlık Üzerine Etkileri,' *Erciyes Tıp Dergisi*, **27** (3), 122-127.
- İşler, M. (2005), 'İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı ve Probiyotikler,' *Güncel Gastroenteroloji*, **9** (3), 134–140.
- Jack, R.W., Tagg, J.R. and Ray, B. (1995), 'Bacteriocins of Gram-Positive Bacteria,' *MICROBIOLOGICAL REVIEWS*, **59** (2), 171–200.
- Jehanno, D., Thuault, D., Bourgeois, C.M. (1992), 'Development of a Method for Detection of Lactic Acid Bacteria Producing Exclusively the L-(+)- Isomer

- of Lactic Acid,' *Applied and Environmental Microbiology*, **58** (12), 4064-4067.
- Jimenez-Diaz, Rios-Sanchez, R.M., Desmazeaud, M., Ruiz-Barba, J.L., Piard J.C. (1993), 'Plantaricins Sand T, Two New Bacteriocins Produced by *Lactobacillus plantarum* LPC010 Isolated from a Gren Olive Fermentation,' *Applied and Environmental Microbiology*, **59** (5), 1416–1424.
- Jurkovic, D., Krizpva, L., Sojka, M., Takacova, M., Dusinsky, R., Krajcovic, J., Vandamme, P., Vancannety, M. (2007), 'Genetic diversity of *Enterococcus faecium* isolated from Bryndza cheese,' *International Journal of Food Microbiology*, **116**, 82-87.
- Kandler, O. (1983), 'Carbonhydrate metabolism in lactic acid bacteria,' *Antonie van Leeuwenhoek* **49**, 209–224.
- Kaya, M., Gökalp, H.Y. (2004), 'Farklı Laktik Starter Kültürler Kullanılarak Üretilen Sucuklarda *Listeria monocytogenes*'in Davranışı,' *Turk J Vet Anim Sci*, **28**, 1113-1120.
- Kılıç, S., (2001), *Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri*, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 542, İzmir., 109-111.
- Kışla, D., Ünlütürk, A. (2003), 'Nisinin Antimikrobiyal Etkisi, Taze ve İşlenmiş Balıklarda Kullanımı,' *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi* **20** (3–4), 543–550.
- Koort, J. (2006), '*Polyphaitic Taxonoic Studies Of Lactic Acid Bacteria Associated With Non-Fermented Meats*,' Academic Dissertation, University of Helsinki, Faculty of Veterinary medicine, Finland.
- Koort, J., Coenye, T., Santos, E.M, Molinero, C., Jaime, I., Rovira, J., Vandamme, P., Björkroth, J. (2006), 'Diversity of *Weissella viridescens* strains associated with "Morcilla de Burgos",' *International Journal of Food Microbiology*, **109**, 164-168.
- Korakli, M. (2002), '*Sucrose metabolism and exopolisaccharide production by Lactobacillus sanfranciscensis*,' Doctoral thesis, Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt Freising.

- Kök, F. (2003), 'Pastırma Üretim Teknolojisini Geliştirme Çabaları,' *Uludağ Üniversitesi J. Fac. Vet. Med*, **22** (1–2–3), 109–114.
- Kunji, E.R.S., Mierau, I., Hagting, A., Poolman, B., Konings, W.N. (1996), 'The proteolytic systems of lactic acid bacteria,' *Antonie van Leeuwenhoek* **70** (2–4), 187–221.
- Kurt, E., Göksoy, E.Ö., Nazlı, B. (2001), 'Değişik Paketleme Türlerinin Etin Kalitesi Üzerine Etkileri,' *İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, **27** (1), 281-299.
- Kurt, Ş. ve Zorba, Ö. (2005), 'Bakteriyosinler ve Gıdalarda Kullanım Olanakları,' *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi* **16** (1), 77–83.
- Law, B.A. and Kolstad, J. (1983), 'Proteolytic systems in lactic acid bacteria,' *Antonie van Leeuwenhoek* **49**, 225–245.
- Levander, F., Svensson, M., Radström, P. (2002), 'Enhanced Exopolysaccharide Production by Metabolic Engineering of *Streptococcus thermophilus*,' *Applied and Environmental Microbiology*, **68** (2), 784–790.
- Lewus, C.B., Kaiser, A., Montville, T.J. (1991), 'Inhibition of Food-Borne Bacterial Pathogens by Bacteriosins from Lactic Acid Bacteria Isolated from Meat,' *Applied and Environmental Microbiology*, **57** (6), 1683–1688.
- Lücke, F.K. (1996) 'Lactic acid bacteria involved in food fermentations and their present and future uses in food industry,' *NATO ASI Series, Series H: Cell Biology*, Vol 98, Springer, New York, 81–99.
- Lüders, T., Birkemo, G.A., Fimland, G., Nissen-Meyer, J., Nes I.F. (2003), 'Strong Synergy between a Eukaryotic Antimicrobial Peptide and Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria,' *Applied and Environmental Microbiology*, **69** (3), 1797–1799.
- Macfarlane, G.T. (1999), 'Probiotics and Prebiotics: can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health?' *BMJ*, **318**, 999–1003.
- Madiedo, P.R. and Reyes-Gavilan, C.G., (2005), 'Invited Review: Methods for the Screening, Isolation, and Characterization of Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria,' *Journal of Dairy Science*, **88**, 843-856.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M. (2006), '*Brock Biology Of Microorganisms*,' Pearson Education, Inc. Eleventh Edition, 375–378.

- Martinis, E.C.P., Freitas, F.Z. (2003), 'Screening of lactic acid bacteria from Brazilian meats for bacteriocin formation,' *Food Control*, **14**, 197-200.
- Mavhungu, J. (2005), '*Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from 'Ting' in the Northern Province of South Africa*,' Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements For the Degree MSc Microbiology, University of Pretoria, Faculty of Natural and Agricultural Science, South Africa.
- Messi, P., Bondi, M., Sabia, C., Batini, R., Manicardi, G. (2001), 'Detection and preliminary characterization of a bacteriocin (plantaricin 35d) produced by a *Lactobacillus plantarum* strain,' *International Journal of Food Microbiology*, **64**, 193-198.
- Morea, M., Baruzzi, F., Cappa, F., Cocconcelli, P.S. (1998), 'Molecular characterization of the *Lactobacillus* community in traditional processing of Mozzarella cheese,' *International Journal of Food Microbiology*, **43**, 53–60.
- Mozzi, F., Vaningelgem, F., Hebert, E.M., Van der Meulen, R., Moreno, M.R.F., Font de Valdez, G., Vuyst, L. (2006), 'Diversity of Heteropolysaccharide-Producing Lactic Acid Bacterium Strains and Their Biopolymers,' *Applied and Environmental Microbiology*, **72** (6), 4431–4435.
- Mumcu, Z.N. (1997), *Kefirden İzole Edilen Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Metabolik, Antimikrobiyal ve Plazmit DNA'larının İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Muthukumarasamy, P., Holley, R.A. (2006), 'Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated *Lactobacillus reuteri*.' *International Journal of Food Microbiology*, **111**, 164–169.
- Nam, H., Ha, M., Bae, O., Lee, Y. (2002), 'Effect of *Weissella confusa* Strain PL9001 on the Adherence and Growth of *Helicobacter pylori*,' *Applied and Environmental Microbiology*, **68** (9), 4642-4645.
- Nieto-Lozano, J.C., Reguera-Useros, J.I., Pelaez-Martinez, M.C., Torre, A.H. (2006), 'Effect of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* against

- Listeria monocytogenes* and *Clostridium perfringens* on Spanish raw meat,' *Meat Science*, **72**, 57-61.
- Nordal, J. and Slinde, E. (1980), 'Characteristics of Some Lactic Acid Bacteria Used as Starter Cultures in Dry Sausage Production,' *Applied and Environmental Microbiology*, **40** (3), 472–475.
- Ogunshe, A.A.O., Omotoso, M.A. and Adeyeye, J.A. (2007), 'In vitro antimicrobial characteristics of bacteriocin producing *Lactobacillus* strains from Nigerian indigenous fermented foods.' *African Journal of Biotechnology*, **6** (4), 445–453.
- Osmanağaoğlu, Ö., Ufuk, G., Beyatlı, Y., Çökmüş, C. (1998), 'Purification and Characterization of Pediocin F, A Bacteriocin Produced By *Pediococcus acidilactici* F,' *Tr. J. of Biology*, **22**, 217–228.
- Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E. Kotzekidou, P. (2003), 'Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Grek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties,' *Meat Science*, **65**, 859-867.
- Park, J., Lee, M., Jung, J., Kim, J. (2005), 'pIH01, a small cryptic plasmid from *Leuconostoc citreum* IH3,' *Plasmid*, **54**, 184–189.
- Piard, J.C., Desmazeaud, M. (1992) 'Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 2. Bacteriosins and other antibacterial substances,' *Lait* **72**, 113–142.
- Rabe, L.K., and Hillier, S.L. (2003), 'Optimization of Media for Detection of Hydrogen Peroxide Production by *Lactobacillus Tür*,' *Journal of Clinical Microbiology*, **41** (7), 3260–3264.
- Rajagopal, S.N. and Sandine, W.E. (1990), 'Associative Growth and Protolysis of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in Skim Milk,' *J. Dairy Sci.* **73**, 894-899.
- Rasch, M., Barker, G.C., Sachau, K., Jakobsen, M., Arneborg, N. (2002), 'Characterisation and modelling of oscillatory behaviour related to reuterin production by *Lactobacillus reuteri*,' *International Journal of Food Microbiology*, **73**, 383–394.

- Remiger, A., Eijsink, V.G.H., Ehrmann, M.A., Sletten, K., Nes, I.F., Vogel, R.F. (1999), 'Purification and partial amino acid sequence of Plantaricin 1,25 α and 1,25 β , two bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* TMW1.25,' *Journal of Applied Microbiology*, **86**, 1053-1058.
- Rollan, G., Lorca, G.L., Font, G., Valdez, F. (2003), 'Arginine catabolism and acid tolerance response in *Lactobacillus reuteri* isolated from sourdough,' *Food Microbiology*, **20**, 313-319.
- Rollins, M., Joseph, S.W. (2000), *BSCI 424 — Pathogenic Microbiology, Antibiotic Disk Susceptibilities (Kirby-Bauer Disk-Diffusion Method)*, <http://www.life.umd.edu/classroom/bsci424/LabMaterialsMethods/AntibioticDisk.htm>.
- Ross, R.P., Desmond, C., Fitzgerald, G.F., Stanton, C. (2005), 'Overcoming the technological hurdles in the development of probiotic foods,' *Journal of Applied Microbiology*, **98**, 1410-1417.
- Ruiz-Barba, J.L., Floriano, B., Maldonado-Barragan, A., Jimenez-Diaz, R. (2007), 'Molecular analysis of the 21-kb bacteriocin-encoding plasmid pEF1 from *Enterococcus faecium* 6T1a,' *Plasmid*, **57**, 175–181.
- Rushing, N.B. ve Senn, V.J. (1960), 'Effect of Citric Acid Concentration on the Formation of Diacetyl by Certain Lactic Acid Bacteria,' *Applied and Environmental Microbiology*, **8** (5): 286–290.
- Ryan, M.P., Rea, M.C., Hill, C., Ross, R.P. (1996), 'An Application in Cheddar Cheese Manufacture for a Strain Of *Lactococcus lactis* Producing a Novel Broad-Spectrum Bacteriocin, Lacticin 3147,' *Applied and Environmental Microbiology*, **62** (2), 612–619.
- Salminen, S., Von Wright, A., Morelli, L., Marteau, P., Buassant, D., Vos de, W.M., Fonde'n, R., Saxelin, M., Collins, K., Mogensen G., Birkeland, S.E., Sandholm, T.M. (1998), 'Demonstration of safety of probiotics- a review,' *International Journal of Food Microbiology*, **44**, 93-106.
- Sanders, M.E. (1999), 'Probiotics,' *Food Technology*, **53** (11), 67–77.
- Santos, E.M., Jaime, I., Rovira, J., Lyhs, U., Korkeala, H., Björkroth, J. (2005), 'Characterization and identification of lactic acid bacteria in "morcilla de Burgos",' *International Journal of Food Microbiology*, **97**, 285-296.

- Schillinger, U. and Lücke, F.K. (1989), 'Antibacterial Activity of *Lactobacillus sake* Isolated from Meat,' *Applied and Environmental Microbiology*, **55** (8), 1901–1906.
- Shibata, K., Flores, D.M., Kobayashi, G., Sonomoto, K. (2007), 'Direct L-Lactic acid fermentation with sago starch by a novel amylolytic lactic acid bacterium, *Enterococcus faecium*,' *Enzyme and Microbial Technology*, **41**, 149-155.
- Smit, G., Vlieg, J.H., Smit, B.A., Ayad, E.H.E. (2002), 'Fermentative formation of flavour compounds by lactic acid bacteria,' *The Australian Journal of Dairy Technology*, **57** (2), 61–68.
- Song, Y., Kato, N., Matsumiya, Y., Liu, C., Kato, H., Watanabe, K. (1999), 'Identification of and Hydrogen Peroxide Production by Fecal and Vaginal Lactobacilli Isolated from Japanese Women and Newborn Infants,' *Journal of Clinical Microbiology*, **37** (9), 3062–3064.
- Soomro, A.H., Anwaar, M., Anwar, K. (2002), 'Role of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Food Preservation and Human Health,' *Pakistan Journal of Nutrition*, **1** (1), 20-24.
- Speck, M.L. (1976), *Compendium Of Methods For The Microbiological Examination Of Foods*, American Public Health Association, Washington, DC, 89.
- Stingele, F., Neeser, J.R., Mollet, B. (1996), 'Identification and Characterization of the *eps* (Exopolysaccharide) Gene Cluster from *Streptococcus thermophilus* Sfi6,' *Journal of Bacteriology*, **178** (6), 1680–1690.
- Tallon, R., Bressollier, P., Urdaci, M.C. (2003), 'Isolation and characterization of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* EP56,' *Research in Microbiology*, **154** (10), 705–712.
- Tamer, A.Ü., Uçar, F., Ünver, E., Karaboz, İ., Bursalıoğlu, M., Oğultekin, R. (1989), *3. ve 4. Sınıf Mikrobiyoloji Laboratuvar Klavuzu*, Anadolu Üniversitesi, Eğitim Sağlık ve Bilimsel Araştırma Çalışmaları Vakfı Yayınları, No. 74, Eskişehir, 23-25, 240.
- Tannock, G.W. (1999), 'Identification of Lactobacilli and Bifidobacteria,' *Current Issues Molec. Biol.*, **1** (1), 53-64.

- Tannock, G.W., Luchansky, J.B., Miller, L., Cannell, H., Thode-Andersen, S., Mercer, A.A., Klaenhammer, T.R. (1994), 'Molecular characterization of a plasmid-borne (pGT 633) erythromycin resistance determinant (erm GT) from *Lactobacillus reuteri* 100-63,' *Plasmid*, **31**, 60-71.
- Todorov, S.D. and Dicks, L.M.T. (2005a), 'Effect of Growth Medium on Bacteriocin Production by *Lactobacillus plantarum* ST194BZ, a Strain Isolated from Boza,' *Food Technol. Biotechnol*, **43** (2), 165–173.
- Todorov, S.D. and Dicks, L.M.T. (2005b), 'Pediocin ST18, an anti-listerial bacteriocin produced by *Pediococcus pentosaceus* ST18 isolated from boza, a traditional cereal beverage from Bulgaria,' *Process Biochemistry*, **40**, 365-370.
- Todorov, S.D. and Dicks, L.M.T. (2005c), 'Characterization of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from spoiled black olives,' *J. Basic Microbiology*, **45** (4), 312-322.
- Todorov, S.D. and Dicks, L.M.T. (2006), 'Screening for bacteriocin-producing lactic acid bacteria from boza, a traditional cereal beverage from Bulgaria Comparison of the bacteriocins,' *Process Biochemistry*, **41**, 11-19.
- Toksoy, A., Beyatlı, Y., Aslım, B. (1999), 'Sucuk ve Sosislerden İzole edilen *Lactobacillus plantarum* Suşlarının Bazı Metabolik ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi,' *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences*, **23**, 533–540.
- Turantaş, F. (2007), '*Laktik Asit Bakterileri Tarafından Hidrojen Pereoksit Üretimi*,' <http://www.fulyaturantas.com/Bilimsel/H2O2.doc>
- Tükel, Ç. ve Akçelik M. (2000), '*Lactococcus lactis subsp. lactis* Suşlarında Laktoz Plazmitlerinin Tanımlanması,' *Turk J. Biol* **24**, 405–424.
- Tükel, Ç. (2004), *Starter Kültür Olarak Kullanılan Laktokok Suşlarında Doğal Gen Aktarım Sistemlerinin Analizi*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, (2006), *Çiğ Kırmızı Et ve Hazırlanmış Kırmızı Et Karışımları Tebliği*, Resmi Gazete, 26211, Tebliğ No: 2006/31.
- Türk Standartları Enstitüsü, (1991), TS8979, *Laktik Asit-Sanayide Kullanılan*, Ankara.

- Urso, R., Rantsiou, K., Cantoni, C., Comi, G., Cocolin, L. (2006), 'Technological characterization of a bacteriocin-producing *Lactobacillus sakei* and its use in fermented sausages production,' *International Journal of Food Microbiology*, **110**, 232-239.
- Van Calsteren, M.R., Pau-Roblot, C., Begin, A., Roy, D. (2002), 'Structure determination of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus rhamnosus* strains RW-9595M and R,' *Journal of Biochemical Society*, **363**, 7-17.
- Vermeiren, L., Devlieghere, F., Vandekinderen, I., Debevere, J. (2006), 'The interaction of the non-bacteriocinogenic *Lactobacillus sakei* 10A and lactocin S producing *Lactobacillus sakei* 148 towards *Listera monocytogenes* on a model cooked ham,' *Food Microbiology*, **23**, 511-518.
- Visser, R., Holzapfel, W.H., Bezuidenhout, J.J., Kotze, J.M. (1986), 'Antagonism of Lactic Acid Bacteria against Phytopathogenic Bacteria,' *Applied and Environmental Microbiology*, **52** (3), 552–555.
- Welman, A.D., Maddox, I.S., Archer, R.H. (2003), 'Screening and selection of exopolysaccharide-producing strains of *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*,' *Journal of Applied Microbiology*, **95**, 1200–1206.
- Wilks, M., Wiggins, R., Whiley, A., Hennessy, E., Warwick, S., Porter, H., Corfield, A., Millar, M. (2004), 'Identification and H₂O₂ production of Vaginal Lactobacilli from Pregnant Women at High Risk of Preterm Birth and Relation with Outcome,' *Journal of Clinical Microbiology*, **42** (2), 713–717.
- Wu, C.M., Chung, T.C. (2006), 'Green fluorescent protein is a reliable reporter for screening signal peptides functional in *Lactobacillus reuteri*,' *Journal of Microbiological Methods*, **67**, 181–186.
- Yağcı, R.V. (2005), 'Probiyotik ve Prebiyotikler,' *Güncel Gastroenteroloji*, **9** (4), 223 – 225.
- Yaman, A., Gökalp, H.Y., Çon, A.H. (1998), 'Some Characteristics of Lactic Acid Bacteria Present in Commercial Sucuk Samples,' *Meat Science*, **49** (4), 387-397.

- Yang, R., Johnson, M.C., Ray, B. (1992), 'Novel Method To Extract Large Amounts of Bacteriosins from Lactic Acid Bacteria,' *Applied and Environmental Microbiology*, **58** (10), 3335–3359.
- Yıldız, A., Karaca, T., Çakmak, Ö., Yörük, M., Başkaya, R. (2007), 'İstanbul'da Tüketime Sunulan Köftelerin Histolojik, Mikrobiyolojik ve Serolojik Kalitesi,' *YYÜ Vet Fak Derg*, **15** (1–2), 53–57.
- Yılmaz, M. (2004), 'Prebiyotik ve Probiyotikler,' *Güncel Pediatri*, **2**, 142–145.
- Yılmaz, M., Çelik Yuvalı, G. (2007), 'Bakteriyel Ekstraselüler Polisakkaritler (EPS),' *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, **05** (2), 7-13.
- Zhou, J.S., Pillidge, C.J., Gopal, P.K., Gill, H.S.(2005), 'Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains,' *International Journal of Food Microbiology*, **98**, 211-217.
- Zhu, W.M., Liu, W., Wu, D.Q. (2000), 'Isolation and characterization of a new bacteriocin from *Lactobacillus gasseri* KT7,' *Journal of Applied Microbiology*, **88**, 877-886.