

FERMENTE ET ÜRÜNLERİNDE FONKSİYONEL STARTER KÜLTÜRLER VE PROBİYOTİKLER

Functional Starter Cultures and Probiotics in Fermented Meat Products

Gülden BAŞYİĞİT, Aynur Gül KARAHAN, Birol KILIÇ

Süleyman Demirel Üniversitesi,
Ziraat Fakültesi,
Gıda Mühendisliği Bölümü,
ISPARTA

İletişim:

Gülden BAŞYİĞİT

Süleyman Demirel Üniversitesi,

Ziraat Fakültesi,

Gıda Mühendisliği Bölümü,

Batı Yerleşkesi/ISPARTA

Tel: 0 246 211 15 42

Faks: 0 246 237 04 37

E-posta:

bgulden@ziraat.sdu.edu.tr

ÖZET

Starter kültürlerin et ürünlerine eklenmesinin amaçları; patojenleri inhibe ederek gıda güvenliğini arttırmak, bozulma etmeni olan bakterileri inhibe ederek ürünün raf ömrünü uzatmak, arzu edilen duyuşal özellikleri geliştirmek ve sağlık üzerinde olumlu etkiler sağlamaktır. Çok uzun zamandan beri laktik asit bakterileri et ürünlerinde starter kültür olarak kullanılmaktadır. Probiyotikler, beslenme üzerindeki etkilerinin yanı sıra, insan sağlığına faydaları olan canlı mikrobiyal kültürlerdir. Günümüzde probiyotik özellikteki laktik asit bakterilerinin kullanılmasıyla üretilen fonksiyonel gıdalara olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır.

Bu derlemede, fermente et ürünlerinde standardizasyonu sağlamak ve ürüne fonksiyonel özellikler kazandırmak amacıyla kullanılan starter kültürlerin ve probiyotik bakterilerin üzerinde durulmuş; probiyotik bakterilerin ürün güvenliği ve kalitesine olan etkilerinden bahsedilmiştir.

Anahtar sözcükler: Probiyotikler, starter kültürler, fermentasyon, et ürünleri.

ABSTRACT

The purposes of addition of starter cultures to meat products are improving food safety by inactivation of pathogens, extension of shelf life via inhibition of spoilage bacteria, development of desirable sensory properties, and beneficial health effects. Lactic acid bacteria have been used as starters in meat products for a long time. Probiotics are live microbial cultures provide beneficial health effects to the consumer beyond basic nutrition. Functional foods produced by lactic acid bacteria having probiotic properties are getting attention in food industry.

In this review starter cultures and probiotics which are used in fermented meat products to provide standardization and to add functional properties has been discussed. Effects of probiotics on food safety and quality are described.

Key words: Probiotics, starter cultures, fermentation, meat products.

GİRİŞ

Sucuk, Devlet İstatistik Enstitüsü 2005 yılı verilerine göre, yıllık 14.619 ton üretim ile ülkemizde en fazla tüketilen et ürünlerinden birisidir (1). Ülkemizde fermente kuru et ürünü olarak tanımlanan sucuk, üretim yöntemlerine göre değişmekle birlikte Almanya ve diğer bazı Avrupa Ülkelerinde sucuk benzeri ürünler, ABD'de kuru (İtalyan Salamı, Milano vs.) veya yarı-kuru fermente et ürünleri olarak farklı isimlerle bilinmektedirler (2).

Küçük işletmelerde, doğal florayı içeren etlerin, starter kültür kullanılmadan küflenmesiyle doğal fermente sucuklar hazırlanmaktadır. Doğal fermantasyon ile üretilen sucuklar, endüstriyel starter kültürler kullanılarak, kontrollü fermantasyon ile üretilen sucuklara kıyasla, daha üstün özelliklere sahiptirler. Bu üstünlük; kullanılan çığ etin kalitesine, kullanılan teknolojinin özelliğine ve doğal floranın özgül yapısına bağlıdır. Fakat bu şekilde üretilen sucuklarda her zaman yapı, tat ve diğer özellikler birbirine benzememekte, aynı özelliklere sahip ürünlerin üretilmesi mümkün olmamaktadır.

Buna rağmen küçük işletmelerin pek çoğu starter kültür kullanmadan, doğal fermantasyon ile üretim yapmaya devam etmektedirler (3). Bunun sebepleri arasında ticari firmalardan elde edilen starter kültürlerin pahalı olması, belirli raf ömürlerinin olması ve her zaman istenilen aktiviteyi göstermemeleri sayılabilir. Günümüzde dünyanın pek çok ülkesinde geleneksel yöntemlerle üretilen ürünlerin standardizasyonuna yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Bu derlemede, fermente et ürünlerinde standardizasyonu sağlamak ve ürüne fonksiyonel özellikler kazandırmak amacıyla kullanılan laktik starter kültürlerin ve probiyotiklerin özellikleri üzerinde durulmuş, ürün güvenliği ve kalitesine olan etkilerinden bahsedilmiştir.

FERMENTE ET ÜRÜNLERİ ÜRETİMİNDE KULLANILAN MİKROORGANİZMLAR

Sucuk; sığır eti, manda eti, sığır et yağı, kuyruk yağı, tuz, şeker, baharat, nitrit veya nitrat

kullanılarak üretilen bir üründür (2, 4). Endüstriyel boyutta üretimde laktik asit bakterilerinin et fermantasyonunda starter kültür olarak kullanılmaları büyük önem taşımaktadır. Bu bakterilerin kullanılmaları ile sağlık üzerinde yararlı etkiler sağlanarak ürüne yeni duyuşsal özellikler kazandırılır, etin mikrobiyolojik güvenliği ve raf ömrü geliştirilir (5). Yurt dışında üretilen fermente et ürünlerinin hamuruna homofermantatif laktobasiller ve/veya pediyokoklar, Gram pozitif, katalaz pozitif, patojenik olmayan koagulaz negatif stafilkoklar (GKK), küfler ve mayalar gibi starter kültürler katılmaktadır (3). Starter kültürlerin oluşturulmasında, ürün-de doğal olarak bulunan ve fermantasyonu gerçekleştiren mikroorganizmaların belirlenmesi esas alınmaktadır. Üretilen kuru fermente et ürünlerinden en fazla izole edilen laktik asit bakterileri *Lactobacillus sakei*, *L. curvatus* ve *L. plantarum*'dur (6, 7). Türk sucuklarında ise baskın laktik asit bakterilerinin *L. sakei*, *L. plantarum*, *L. curvatus* ve *L. brevis* olduğu belirlenmiştir (8). *L. sakei*'nin doğal fermente sucukların yaklaşık yarısı ile üçte ikisinden izole edildiği, *L. curvatus*'un ise sucuktan izole edilen tüm LAB izolatlarının yaklaşık dörtte birini oluşturduğu belirtilmiştir. Sucukta daha az rastlanan diğer laktobasiller *L. bavaricus*, *L. brevis*, *L. buchneri* ve *L. paracasei*'dir (9). Son yıllarda, yeni bir tür olan *L. versmoldensis* hızlı olgunlaştırılmış sosislerden 10^8 kob/g civarında izole edilmiştir (10). Ayrıca Avrupa'da üretilen fermente et ürünlerinde *Pediococcus acidilactici* ve *P. pentosaceus* az miktarda bulunmasına rağmen, bu bakteriler ABD'nde üretilen fermente et ürünlerinde pH düşüşünü sağlamak amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (9).

1. Koruyucu kültür olarak laktik asit bakterilerinin kullanılması

Biyokoruyucu kültürler, sucuk gibi fermente gıdalarda starter kültür olarak aktivite gösterilmekte ve gıdaları duyuşsal bozulmalara karşı koruyabilmektedir (11). Günümüzde biyokoruyucu kültür olarak adlandırılan laktik asit bakterileri tarafından üretilerek, gıdalarda yer alan doğal antimikrobiyal maddelerle ilgili

çalışmalar oldukça fazladır. Antmikrobiyal maddelerden özellikle bakteriyosinler çalışmaların önemli bölümünü oluşturmaktadır. Bakteriyosinlerin etki mekanizmaları bakterilerin Gram özelliklerine göre değişmektedir. Gram pozitif bakterilerin bakteriyosinleri hücre duvarından geçme özelliğine sahipken, *Escherichia coli* 0157:H7 gibi Gram negatif bakterilerde bakteriyosinler hücre duvarından geçememektedirler (12). Bu nedenle bakteriyosinlerin laktik asit veya sitrik asit gibi geçişi sağlayan etkenlerle birlikte kullanılması, gıdalarda Gram negatif bakterilerin inhibe edilmesi için tavsiye edilmektedir (12). Bakteriyosinler, asit koşullara dayanımı zayıf olan *Listeria monocytogenes* gibi patojenlerin yok edilmesini de sağlamaktadır. Bakteriyosinlerin yakın türlerdeki bakterileri inhibe etme özelliği de bilinmektedir. Bu nedenle starter kültür oluşturma aşamasında, bakterinin ürettiği bakteriyosinin ortamda bulunan yararlı diğer laktik asit bakterilerine karşı etki göstermesi istenmektedir.

Bakteriyosinler peptit veya protein yapıda olup, en fazla bilineni I. grup bakteriyosin olan nisindir. Et endüstrisi açısından önem taşıyan bakteriyosinler ise II. grupta yer almaktadırlar (13). Örneğin; etten izole edilen *L. curvatus* tarafından üretilen curvasin A (14) ve *L. sakei* tarafından üretilen sakasin A, P ve K (14, 15) bu grup bakteriyosinlere örnek olarak verilebilir. Bu bakteriyosinler diğer laktik asit bakterilerine ve *L. monocytogenes*'e karşı da etkilidirler.

Schillinger vd. (16) yaptıkları araştırmada *L. sakei* LB 706'nın *L. monocytogenes*'in gelişimini inhibe eden bakteriyosin üretebildiğini, bu nedenle et ürünlerinde koruyucu kültür olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir. *Pediococcus acidilactici*, *P. parvulus* ve *L. plantarum* tarafından üretilen pediosin PA-1/AcH ise *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *Clostridium perfringens*'i inhibe etmektedir (13). Kuru sosislerde *P. acidilactici* JD1-23, *P. acidilactici* PAC 1.0 ve *L. plantarum* MSC'nin fermantasyon etkeni olarak kullanılmasıyla, *L. monocytogenes*'in 1-2 log/g azaldığı tespit edilmiştir (17).

Kuleaşan ve Çakmakçı (18) *L. reuteri* tarafından üretilen reuterinin Türk tipi sosislerin yüzeyine uygulanması sonucunda, sosis yüzeyinde bulunan *L. monocytogenes*'in gelişimini engellediğini fakat aynı bakteriyosinin *Salmonella*'ya karşı etki göstermediğini belirtmişlerdir.

Bakteriyosinlerin yanı sıra; mikro besin elementleri, vitaminler ve konjuge linoleik asit gibi (KLA) nutrasotikalleri üreten bakterilerin starter kültür olarak kullanılmaları ile sağlığa faydalı et ürünleri üretimi gerçekleştirilebilmektedir (19). Genellikle KLA geviş getiren hayvanların etlerinde bulunur. Rumende linoleik asidin bakteriyel hidrojenizasyonu sonucunda, rumen bakterilerinin yanı sıra laktobasilleri, bifidobakterileri ve propiyonibakterileri içeren diğer bakteri türlerinin de KLA'yi üretebildikleri belirlenmiştir (20). Bu tür bakterilerin starter kültürler olarak kullanılması, besin değeri arttırılmış fermente sosislerin üretilmesi konusunda yeni yaklaşımlar getirecektir (3).

Sucuk yapımı sırasında kullanılan starter kültürler katkı maddeleriyle beraber üründe biyojen amin oluşumunu azaltmaktadırlar (21). Bozkurt ve Erkmen (21) tarafından yapılan araştırmada, Türk sucuğunda starter kültür kullanımının putresin, spermin ve histamin oluşumunu azalttığı, triptamin, 1,7-diamino heptan, serotonin ve spermidin oluşumunu etkilemediği belirlenmiştir.

Sucuk üretiminde biyogüvenlikte dikkate alınması gereken unsurlardan bir diğeri de tuzdur. Pierson ve Smooth (22)'a göre tuz su aktivitesini azaltarak, stafilokoklar ve starter laktik asit bakterilerinin gelişip çoğalmasına yardımcı olurken, birçok bakterinin gelişimini inhibe etmekte veya geciktirmektedir. Fakat son yıllarda yapılan araştırmalarda fermente et ürünleri üretiminde tuzun fazla miktarda kullanılmasının, bakteriyosinlerin aktivitesini azalttığı gibi, bakterilerin gelişimini engellerek bakteriyosin üretimini de olumsuz yönde etkilediği belirtilmiştir (11, 23). Birkaç gün oda sıcaklığında bekletilen fermente et ürünü için hazırlanan hamurun güvenliği, nitritin eklenmesine (24) ve et sıcaklığının 10°C'nin üzerine

çıkmadan önce tuzun ete geçişine bağlıdır.

2. Starter kültürlerin ürünün tadı üzerindeki etkileri

Gıdaların fermantasyon ile korunmaları; karbohidratların fermente olmaları sonucunda asit, alkol, CO₂ gibi son ürünlerin oluşumu ile ilişkilidir (25). LAB fazla miktarlarda laktik asit ve az miktarda asetik asit üreterek üründe tat oluşumu üzerinde etkilidirler. Ette bulunan laktobasillerin ekzopeptidazları, kas amino-peptidazlarının aroma oluşumunu sağlayan serbest amino asitlerle birleşmelerine yardımcı olurlar (26). Yunanistan'da üretilen kuru fermente et ürünlerinden izole edilen LAB *in vitro* şartlarda yüksek miktarda lösin ve valin amino-peptidaz aktivitesi göstermişlerdir (9). Fakat laktobasiller ve pediyokoklar dallanmış zincir yapısındaki amino asitler üzerinde düşük katabolik aktivite gösterirler. Bu sebeple fermente et ürünlerinde 3-metil butanol gibi tipik aroma bileşenlerinin oluşmasında önemli bir role sahip değillerdir. Fermente et ürünü hamuruna laktobasillerin dışındaki diğer laktik asit bakterileri aroma oluşumunu sağlamak amacıyla ilave edilebilirler. Bu amaçla kullanılan enterokokların proteolitik, lipolitik ve esterolitik aktiviteler gibi bazı metabolik aktiviteleri vardır (27). Enterokok türlerinin starter kültür veya probiyotik olarak kullanılabilmesi için bilinen bütün virülens faktörlerin varlığı dikkatli bir şekilde kontrol edilmelidir. Ayrıca, son zamanlarda *Carnobacterium piscicola*, stafilokoklara benzer şekilde lösin metabolizması sonucunda yüksek miktarda aroma maddesi üretimi sebebiyle yeni bir starter kültür olarak önerilmektedir (28).

3. Laktik asit bakterilerinin nitrik oksit (NO) üretimi ve et kalitesine etkileri

Et ürünleri üretiminde nitrat ve nitrit, istenilen et renginin oluşturabilmesi ve et kalitesinin korunmasına katkıları nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır (29). Ancak nitrit ve nitrat doğal bileşikler değildir (30). Vücuda alınan nitritin bir kısmı kandaki hemoglobine etki ederek, hemiglobuline dönüştürür. Demir, hemoglobinde Fe⁺², hemiglobulinde ise Fe⁺³

değerdendir. Fe⁺³ içeren hemiglobülin dokulara oksijen taşıyamaz ve methaemoglobinemia (cyanose) olarak adlandırılan zehirlenme meydana gelir. Bunun yanı sıra bu katkıların, gıdalarda karsinogenik etkili nitrozaminlere dönüştüğü belirlenmiştir. Tüketici tepkisine yol açan bu durum farklı alternatiflerin aranmasını zorunlu kılmıştır.

NO'nun insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilerinin yanı sıra et ürünleri üretiminde nitrit ve nitrat kullanımına alternatif olabileceği belirlenmiştir. Nitrik oksit üreten bakterilerin kahverengi metmyoglobini parlak kırmızı renk maddelerine dönüştürdükleri, böylece istenilen et renginin oluşturulabildiğine dair çalışmalar bulunmaktadır. Laktobasillerin L-arjininden NO oluşturma yeteneklerinin belirlenmesi ile fermente et ürünlerinde starter kültür olarak kullanılmasıyla nitrit ya da nitrat kullanımından kaynaklanan sakıncaların giderilebileceği düşünülmüştür. Meydana gelen NO, antimikrobiyal etki yoluyla da gıda kalitesine etkide bulunabilir. Bu şekilde laktobasillerin ve NO üretim yeteneğine sahip diğer laktik asit bakterilerinin gıdalarda starter kültür olarak kullanılması ile mikrobiyel kaynaklı NO' ten faydalanılması mümkün olacaktır (31).

Bu amaçla yapılan çalışmalarda, laktik asit bakterileri ve çeşitli bakteriler izole edilmiş ve bu bakterilerin kahverengi metmyoglobini parlak kırmızı renk maddelerine dönüştürme yeteneği incelenmiştir. 1550 izolattan iki adedinin (*Kurthia* sp. K-22 ve *Chromobacterium violaceum* K-28) bu özelliği taşıdığı saptanmıştır. İncelenen 347 laktik asit bakterisinden ise sadece bir adedinin (*L. fermentum* JCM1173) nitrik oksit miyoglobin oluşturduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda, vakumla paketlenmiş et ürünlerinde kullanılan laktobasillerin renk üzerinde az da olsa olumlu bir etkiye sahip oldukları belirlenmiştir. *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *L. sakei*, *L. farciminis*, *L. brevis*, *L. buchneri* ve *L. suebicus* gibi bazı laktobasillerin nitriti nitrik okside indirgedikleri bildirilmiştir (30). Morita ve ark.'nın (32) yaptığı çalışmada ise farklı

kaynaklardan metmiyoglobini nitrozomiyoglobine çeviren 10 adet *L. fermentum* suşu izole edilmiştir. Bu 10 suş içinde *L. fermentum* IFO 3956'nın en yüksek üretim kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. *L. fermentum* IFO 3956'nın yanı sıra JCM 1173'ün sıvı besiyerinde ve fermente sosiste miyoglobinin nitrozillenmiş türevlerinin oluşumu değerlendirilmiştir. Kıyaslama amacıyla aynı deneme ticari bir starter kültürle de gerçekleştirilmiştir. Tüm bakteriler sıvı besiyerinde ayrı olarak inkübe edildiğinde, kahverengi metmiyoglobini kırmızı miyoglobin türevlerine dönüştürmüştür, fakat sadece iki laktobasil suşu elektron spin rezonans spektroskopisi ile yapılan ölçümlerde nitrozilmiyoglobine ait sinyali vermiştir. *L. fermentum*'un starter kültür olarak kullanıldığı fermente et ürünlerinde de nitrozilmiyoglobin belirlenmiş, nitrit katkısıyla üretilen ürünlerde kıyaslanabilir bir renk oluşmuştur. Böylece NO üretim kabiliyetine sahip bakteriler kürlenmiş et ürünlerinin üretiminde nitrit/nitrat kullanımına alternatif olarak önerilmiştir (33). Kart-Gündoğdu ve ark. (34) tarafından yapılan çalışmada ise NO oluşturan farklı laktik asit bakterilerinin belirlenmesi amacıyla, çiğ süt, tuzsuz mutfak tereyağı, beyaz peynir, yoğurt, turşu ve silaj örneklerinden LAB izole edilmiştir. İzole edilen 1534 adet bakterinin NO oluşturma yeteneği MRS-Mb agarda incelenmiştir. Bu besiyerinde metmiyoglobini nitrosomiyoglobine dönüştürerek renk değişimi ve zon oluşturan 10 adet bakterinin tanısı yapılmıştır. Tanı testleri sonucunda 10 adet bakteriden beş adedinin *Lactobacillus plantarum* (S1b, T119, Z1, Z2, Z3), üç adedinin *Pediococcus acidilactici* (S2, S3, S1a), iki adedinin *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* (P2, P10) olduğu tespit edilmiştir. Laktobasillerin nitrosomiyoglobin oluşturma yeteneklerinin ispatlandığı farklı çalışmalar bulunmakla birlikte, leuconostoc ve pediyokokların NO oluşturma yeteneklerinin belirlenmesi açısından elde edilen bulgular orijinal nitelik taşımaktadır.

Sağlıklı gıdalara olan talebin artması gıda sanayisinde yeni keşifleri ve yeni ürün geliştiril-

mesini teşvik etmektedir. Bu nedenle, bakteriyel NO sentezi yoluyla gıda kalitesinin artırılabilme olanakları önem kazanmaktadır.

PROBİYOTİKLER

1. Probiyotik mikroorganizmaların özellikleri

Probiyotikler yeterli düzeyde alındıklarında konakçı sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan ve bağırsak sisteminin mikrobiyel dengesini geliştirerek, faydalı etki sağlayan canlı mikroorganizmalardır (35). Probiyotik ürünler ise, probiyotik mikroorganizmaları içeren, çeşitli enzim, vitamin ve aroma bileşenleri ile desteklenerek kapsül, tablet veya toz haline getirilmiş diyet destekleyiciler veya probiyotik mikroorganizma içeren taşıyıcı gıdalardır (36). Probiyotik gıdaların fonksiyonel gıdaların bir parçası olması; gıda endüstrisi, klinik beslenme ve gıda bilimi ve teknolojisi üzerine yapılan ortak çalışmaların başarıyla sonuçlanması neticesinde olmuştur. Günümüzde probiyotikler daha çok yoğurt gibi süt ürünlerinde kullanım alanı bulmaktadır. Örneğin *L. rhamnosus* GG yoğurt, pastörize süt ve fermente peynir altı suyu ürünlerinde kullanılmaktadır. Son zamanlarda et ürünleri gibi farklı gıdalarda da probiyotik suşların kullanımını yaygınlaştırmaktadır (37).

Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmaların yüksek asitliğe ve safra tuzlarına dirençli olmaları gerekmektedir (38). Bu sayede mikroorganizmaların gastrointestinal sisteme geçişleri ve sistemde kalmaları sağlanmaktadır. Böylece mikroorganizmalar midedeki asit ortama karşı direnç gösterebilmekte ve ince bağırsakların başlangıcında safra tuzlarına dayanabilmektedirler (39). Bakterinin mide sıvısında canlı kalabilmesi için düşük pH'yı tolere etme yeteneğine sahip olması gerekmektedir (40) Midedeki HCl'in pH'sı 0.9'dur. Ancak mide içerisinde bulunan gıda, mide pH'sını 3.0 civarına yükseltir (41) ve yaklaşık 24 saat sonra mideyi terk eder. Probiyotik bakterilerin bu sürede canlılığını koruması hayati önem taşır. Mide şartlarında canlı kalabilen bakteriler, daha sonra

duodenum içinde bulunan safra tuzlarından etkilenmektedirler. Safra tuzları yağlı gıdalar alındıktan sonra ince bağırsağın üst kısmına salınırlar ve deterjan benzeri etkiye sahiptirler. Mikroorganizmaların hücre membranları yağlardan ve yağ asitlerinden oluştuğundan, safra tuzları mikroorganizma canlılığı açısından kritik öneme sahiptir. Ancak bazı mikroorganizmalar safra tuzu hidroliz enzimi (BSH) ile safra tuzlarını hidroliz ederek, bu deterjan etkisini azaltabilmektedirler (41). BSH aktivitesi *Lactobacillus* vb. birçok bakteride bulunmuştur (42). Safra tuzlarına karşı direnç *Lactobacillus* türleri ve suşlar arasında büyük farklılıklar gösterir, fakat bu farklılığa sebep olan mekanizma tam olarak bilinmemektedir (41).

Probiyotiklerin bakteriyosinler veya düşük moleküler ağırlıktaki antimikrobiyal bileşikler üreterek patojenlerle mücadele edebilmeleri ve bağırsak florasında tutunabilmeleri de diğer önemli özelliklerinden biridir (43). Midedeki asidik yapı bu antimikrobiyal maddelerin etkisini arttırabilmektedir (44).

Probiyotik bakterinin günlük alınması gereken minimum dozu tam olarak bilinmemesine rağmen, sağlık üzerine yararlı etki gösterebilmesi ve geçici kolonizasyon oluşturabilmesi için yaklaşık 10^9 - 10^{10} kob/g canlı mikroorganizma taşıması ve dışkıda 10^6 - 10^8 kob/g düzeyinde olması gerektiği tahmin edilmektedir (45). Minimum doz belirlenirken, probiyotik bakterinin bağırsak sisteminde canlı kalabilme yeteneği üzerinde durulması gereken önemli bir konudur. Sindirim sistemine daha kolay uyum sağlayan probiyotikler, daha zor uyum sağlayanlara göre daha düşük dozlarda kullanılabilir (46).

2.Et ürünlerinde probiyotiklerin kullanılması

Probiyotik özellikte olan laktik asit bakterilerinin fermente et ürünleri mikrofloorasında ortama adapte olup, baskın florayı oluşturmaları için geleneksel yollarla üretilmiş ürünlerden izole edilmeleri gerekmektedir. Fermente et ürünlerinde kullanılacak yeni probiyotik kültür geliştirmek için seçilen laktik asit bakterilerinin; nitrite ve sofra tuzuna daya-

nabilmesi, fermentasyon ve olgunlaşma sırasında aktivite gösterebilmesi ve hızlı çoğalabilmesi, asit şartlara, safra tuzlarına dayanabilmesi, insan bağırsak sisteminde kolonize olabileme yeteneğine sahip olması gerekmektedir (47).

Süt ve süt ürünlerinin, insan sindirim sistemine iyi bir probiyotik bakteri taşıyıcı olduğu ve bunun da yüksek tamponlama özelliğinden kaynaklandığı bilinmektedir (48). Etin de asidik şartlara karşı iyi tamponlama özelliği bilindiği için probiyotik bakterileri zor şartlara karşı koruyabileceği söylenebilir. Ayrıca etin laktik asit bakterilerini, safra tuzlarının inhibe edici etkisinden koruduğu tespit edilmiştir (44). Fermente et ürünlerinde ise probiyotik bakteriler yağ ve et tarafından çevrelenerek, ortam şartlarından korunabilmektedirler. Ayrıca sindirim sisteminden tam olarak sindirilmeden geçen bazı et ve yağ parçacıklarının bağırsak sisteminde bakteriler için enerji kaynağı olabilecekleri de düşünülmektedir (49).

Probiyotiklerin fermente et ürünlerinde üretiminde starter kültür olarak kullanımı üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda, probiyotiklerin ürünün teknolojik ve duyuşal özelliklerine etkilerinin yanı sıra üründe patojen inhibisyonu üzerinde de durulmuştur. Ayrıca probiyotik içeren fermente et ürünlerinin insan sağlığı üzerindeki etkileri de irdelenmiştir.

Teknolojik ve duyuşal özellikler açısından kuru fermente et ürünlerinde üretiminde probiyotik starter kültür kullanımı tavsiye edilmektedir. Bu ürünlerde probiyotik olan veya olmayan bakteriler kullanıldığında, teknolojik ve duyuşal bir farklılığın görülmemesinden ve sağlık üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı, probiyotik özellikteki bakterilerin starter kültür olarak başarıyla kullanılabilmesi belirtilmiştir. Erkkilä ve ark. (50), yaptıkları araştırmada, probiyotik bakteriler olan *L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* LC-705, *L. rhamnosus* E-97800 ve *L. plantarum* E-98098'i fonksiyonel starter kültür olarak Kuzey Avrupa

tipi fermente et ürünlerinde test etmişler, sonuçta *L. rhamnosus* LC-705' in çok az farklılık gösterdiğini, onun dışındaki türlerin teknolojik ve duyuşal özellikleri olumsuz yönde etkilemediğini ve bu bakterilerin fermente et ürünleri üretiminde kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Benzer şekilde bağırsak izolatları olan *L. paracasei* L26 ve *B. lactis* B94' ün klasik et starter kültürleri ile birlikte kullanıldığında ürünün duyuşal özelliklerinde değişme olmadığı gözlemlenmiştir (51). Ayrıca klasik starter kültür olan *L. casei* LC-01 veya probiyotik özellikteki *Bifidobacterium lactis* BB-12'nin kombinasyonunun da fermente kuru sosislerde başarımlı olduğu görülmüştür (52).

Yapılan bazı çalışmalarda, fermente sosis üretiminde çeşitli probiyotik türlerinin veya ticari et starter kültürlerinin patojen inhibisyonu açısından etkileri kıyaslanmıştır. Sameshima vd. (47) yaptıkları çalışmada, *L. gasseri* JCM1131, *L. rhamnosus* FERM P-15120 ve *L. paracasei* subsp. *paracasei* FERM P-15121'in *S. aureus*'un gelişimini ve enterotoksin üretimini inhibe ettiğini belirlemişlerdir. Bu nedenle bu bakterilerin et fermantasyonunda probiyotik olarak kullanılmaya uygun oldukları ifade edilmiştir. Kaya ve Aksu (53) tarafından yapılan bir çalışmada *B. lactis* ve *L. acidophilus*'un, probiyotik özelliklerinin yanı sıra starter kültür olarak da sucuk üretiminde kullanılmaları tavsiye edilmektedir. Bu bakterilerin sucuk üretiminde kullanılmasının toplam aerobik bakteri, laktik asit bakterileri, mikrokok ve stafilkok sayılarını etkilediği, lipid oksidasyonunu azalttığı belirtilmiştir.

Ancak probiyotik özellik taşıyan tüm bakteriler patojen inhibisyonu açısından beklenen etkiye sahip değildir. Bağırsak kökenli *L. acidophilus* FERM P-15119'un *S. aureus* sayısını yeterince düşüremediği belirtilmiştir (47).

Son yıllarda probiyotik et ürünlerinin insan sağlığı üzerindeki etkilerini belirlemeye yönelik çalışmalar da artmıştır. Probiyotik yoğurdun serum kolesterol düzeylerini düşürdüğüne dair bulgular bulunmaktadır (54). Bu düşünceden hareketle probiyotik içeren fermente et ürün-

lerinin serum kolesterol düzeyine etkisi de incelenmiştir. Sağlıklı bireylerin *L. paracasei* LTH 2579' u içeren 50 g/gün probiyotik içeren fermente et ürünleri tüketmeleri sonucunda, birkaç haftalık dönemde konakçı bağırsıklık sistemi üzerinde çeşitli değişiklikler meydana gelmiş, fakat farklı kolesterol fraksiyonları ve trigliseritlerin serum konsantrasyonlarında önemli bir etki görülmemiştir (55). Ancak bu sonuç denemede kullanılan probiyotik bakterinin özelliklerinden kaynaklanabilir. Bu nedenle probiyotik içeren et ürünlerinin serum kolesterol düzeylerine etkileri üzerinde daha fazla çalışma yapılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

Laktik asit bakterilerinin sağlık üzerindeki etkilerini ortaya koymak amacıyla yapılan epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar, laktobasiller ve bifidobakteriler gibi laktik kültürlerin veya bunların fermente ürünlerinin belirli tipteki kanser riskini azalttığını ve tümör gelişimini engellediğini ortaya koymuştur. Laktik asit bakterileri veya bu bakteriler tarafından üretilen çözülebilen bileşikler doğrudan kültürde bulunan tümör hücreleri ile etkileşime girip, hücrelerin gelişimini inhibe ederler (56). Haza ve ark., (2005) yaptıkları *in vitro* çalışmada, kanser hücrelerinin canlılıklarının inhibisyonunda etten izole edilen *L. sakei* CBL/H'nin güçlü, CBL/K'nın ise orta düzeyde rol oynadığını ve gıda kaynaklı laktobasillerin sindirim ve bağırsıklık sistemi üzerinde etkili olduklarını belirtmişlerdir(57).

Mahoney ve Henriksson (58) ise yaptıkları çalışmada, salam hamuruna starter kültür ilave etmeden, çok etkili patojen olduğu kanıtlanmış *Listeria* LM3'ü kontrol grubu olarak farelere yedirmişlerdir. Araştırmacılar, *Lactobacillus* ve bifidobakteri içeren klasik olmayan et starter kültürü, klasik et starter kültürü ve bu kültürlerin karışımı ile hazırlanmış salamlar ile beslenen farelerde *Listeria* LM3'ün etkisini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda; sadece *Listeria* LM3 içeren salam ile beslenen farelerde önemli düzeyde ($p < 0.05$) kilo kaybı ve dışkıda 10^6 kob/g patojen mikro-

organizma sayılmıştır. Karışık kültür ile beslenen farelerin gaytasında kontrol grubuna göre patojen sayısının 2.5 log/g azaldığı gözlemlenirken, bu grup farelerde kilo kaybı olmamıştır. Yapılan bu çalışmalar, probiyotik içeren starter kültürler ile hazırlanmış fermente et ürünlerinin sağlık üzerine etkilerini ortaya koysa da, bu şekilde üretilen ürünlerin insan sağlığı üzerine olan olumlu etkilerini gösteren daha fazla çalışmaya gereksinim bulunmaktadır.

SONUÇ

Laktik asit bakterileri gıda güvenliği ve kalitesi açısından starter kültür olarak fermente et ürünleri yapımında kullanılmaktadır. Bakteriyosin ve diğer antibakteriyel bileşikler üreten, fonksiyonel özelliklere sahip laktik asit bakterilerinin et fermentasyonlarında kullanılmaları ile özellikle *L. monocytogenes* gibi patojenlerin üründe gelişme riski azaltılmakta ve ürünün raf ömrü uzatılabilmektedir. Burada üzerinde durulması gereken nokta; kullanılan bu kültürlerin mikrobiyolojik açıdan ürünü korumasının yanı sıra ürünün kalite, tat, yapı ve aroma gibi özelliklerini de standardize edebilecek özelliklere sahip olmasıdır. Yapılacak araştırmalarda küçük işletmelerde üretilen ürünlerdeki floranın çeşitliliğini belirlemek ve bu mikroorganizmaları endüstriyel üretim için uygun hale getirmek hedeflenmelidir.

Tüketici bilincinin gelişmesi ve gıda-sağlık ilişkisini ispatlayan çalışmalarda artış gıdaların sağlık geliştirici etkilerini önemli hale getirmiştir. Bu nedenle gıdaların tüketiminde teknolojik ve duyuşal özellikler açısından yeterli olmasının yanı sıra insan sağlığına etkileri üzerinde de durulmaktadır. Bu açıdan probiyotik özellik taşıyan laktik asit bakterileri önem kazanmıştır. Probiyotiklerin gıdalarla tüketilmesinde, gıda maddesi taşıyıcı rol oynayabileceği gibi probiyotikler fermente gıdaların üretilmesinde de kullanılmaktadır. Probiyotiklerin sindirim sisteminden geçebilmesi açısından fermente et ürünleri uygun

taşıyıcı gıdalardır. Aynı zamanda probiyotiklerin bu ürünlerde starter kültür olarak kullanılması üzerinde de çalışmalar sürdürülmektedir. Bu ürünler ısıtma işlemi tabii tutulmadıklarından bağırsak sistemine probiyotikleri taşımada en uygun ürünler olarak kabul edilmektedir. Fakat günümüzde, probiyotik içeren fermente et ürünlerinin insan sağlığı üzerine olan olumlu etkilerini ortaya koyacak daha fazla sayıda ve kapsamlı konudaki araştırmaların yapılmasına gereksinim vardır. Türk tüketicilerin suluğu çoğunlukla pişirerek tüketmesinden dolayı, canlı hücrelerin vücuda alınması mümkün olmamakla birlikte, üründe varlığını koruyan probiyotik metabolitleri sağlık açısından faydalı etki yaratabilir. Tüm bu konular araştırmaya açıktır.

Ancak araştırma bulgularının işlevselliği ve uygulanabilirliği açısından yasal düzenlemeler önem taşımaktadır. Türk Gıda Mevzuatı'nın, Avrupa Birliği Gıda Mevzuatı'na uyum çalışmalarının devam ettiği ülkemizde, yapılacak çalışmalarla ülke gereksinimlerini karşılayabilecek nitelikte, tüketicinin daha sağlıklı ve kaliteli ürün tüketmesine yönelik düzenlemeler yapılmalıdır.

KAYNAKLAR:

1. www.aeri.org.tr/YayınOzetleri/YayınNo131Hepsi.pdf (05.06.2006).
2. Gökalp HY, Kaya M, Zorba Ö. Et ürünleri işleme tekniği. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi Erzurum, 1997:253.
3. Leroy F, Verluoyten J, De Vuyst L. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. International Journal of Food Microbiology 2006;106:270-285.
4. Kaya M, Aksu M. Effect of modified atmosphere and vacuum packaging on some quality characteristics of sliced 'sucuk' produced using probiotics culture. Journal of the Science of Food and Agriculture 2005;85:2281-2288.
5. Lücke FK. Utilization of microbes to process and preserve meat. Meat Science 2000;56:105-115.
6. Schillinger U, Lücke FK. Identification of lactobacilli from meat and meat products. Food Microbiology 1987;4:199-208.
7. Ünlütürk A, Turantaş, F. Gıda Mikrobiyolojisi. 1. Baskı, Mengi Tan Basımevi, İzmir, 1998;469.
8. Gürakan GC, Bozoğlu TF, Wiess N. Identification of

- Lactobacillus* strains from Turkish-style dry fermented sausage. *Lebensmittel-wissenschaft Unter-Technology*, 1995;28:139.
9. Papamanoli E, Kotzekidou P, Tzanetakis N, Litopoulou-Tzanetaki E. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Food Microbiology* 2003;65:859-867.
 10. Kröckel L, Schillinger U, Franz CMAP, Bantleon A, Ludwig W. *Lactobacillus versmoldensis* sp. nov., isolated from raw fermented sausage. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2003;53:513-517.
 11. Työppönen S, Petäjä E, Mattila-Sandholm T. Bioprotectives and probiotics for dry sausages. *International Journal of Food Microbiology* 2003;83:233-244.
 12. Helander, I., von Wright, A, Mattila-Sandholm, T. Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against Gram-negative bacteria. *Trends Food Sci. Technol.* 1997;8:146150.
 13. Klaenhammer T. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 1993;12:3987.
 14. Tichaczek P, Nissen-Meyer J, Nes I, Vogel R, Hammes W. Characterization of the bacteriocins curvacin A from *Lactobacillus curvatus* LTH1174 and sakacin P from *Lactobacillus sake* LTH673. *Syst. Appl. Microbiol.* 1992;15:460468.
 15. Hugas M, Garriga M, Aymerich M, Monfort J. Inhibition of *Listeria* in dry fermented sausages by the bacteriocinogenic *Lactobacillus sakei* CTC 494. *J. Appl. Bacteriol.* 1995;79: 322330.
 16. Schillinger U, Kaya M, Lucke F.K. Behaviour of *Listeria monocytogenes* in meat and its control by a bacteriocin-producing strain of *Lactobacillus sake*. *J Appl. Bacteriol.* 1991;70,6: 473-47.
 17. Campanini M, Pedrazzoni I, Barbuti S, Baldini P. Behaviour of *Listeria monocytogenes* during the maturation of naturally and artificially contaminated salami: effect of lactic-acid bacteria starter cultures. *Int. J. Food Microbiol.* 1993;20:169175.
 18. Kuleaşan H, Çakmakçı ML. Effect of reuterin produced by *Lactobacillus reuteri* on the surface of sausage to inhibit the growth of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. *Nahrung/Food* 2002;46:408-410.
 19. Andlauer W, Fürst P. Nutraceuticals: a piece of history, present status and outlook. *Food Research International* 2002;35:171-176.
 20. Jiang J, Bjorck L, Fondén R. Production of conjugated linoleic acid by dairy starter cultures. *Journal of Applied Microbiology* 1998;85:95-102.
 21. Bozkurt H, Erkmen O. Effects of starter cultures and additives on the quality of Turkish style sausage (sucuk). *Meat Science* 2002;61:149-156.
 22. Pierson M, Smooth L. Nitrite, nitrite alternatives and the control of *Clostridium botulinum* in cured meats. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1987;17:141187.
 23. Leroy F, De Vuyst L. The presence of salt and a curing agent reduces bacteriocin production of *Lactobacillus sakei* CTC 494, a potential starter culture for sausage fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999;65:53505356.
 24. Kılıç B, Cassens RG, Borchert LL. Effect of poultry meat, phosphate, sodium lactate, carageenan, and konjac on residual nitrite in cured meats. *J. Food Science* 2002;67:29-31.
 25. Caplice E, Fitzgerald GF. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology* 1999;50:131-149.
 26. Demeyer D, Raecmackers M, Rizzo A, Holck A, De Smedt A, ten Brink B, Hagen B, Montel C, Zanardi E, Murbrek E, Leroy F, Vandendriessche F, Lorewtsen K, Venema K, Sunesen L, Stahnke L, De Vuyst L, Talon R, chizzolini R, Eerola S. Control of bioflavour and safety in fermented sausages: first results of a European Project. *Food Research International* 2000;33:171-180.
 27. Sarantinopoulos P, Andrighetto C, Georgalaki MD, Rea MC, Lombardi A, Cogan TM, Kalantzopoulos G, Tsakalidou E. Biochemical properties of enterococci relevant to their technological performance. *International Dairy Journal* 2001;11:621-647.
 28. Larrouture-Thiveyrat C, Montel MC. Effects of environmental factors on leucine catabolism by *Carnobacterium piscicola*. *International Journal of Food Microbiology* 2003;25:177-184.
 29. Kılıç B, Cassens RG, Borchert LL. Effect of poultry meat on residual nitrite level on cured meat products. *J. Food Protection* 2001;64: 235-239.
 30. Arihara K, Kusida H, Konda Y, Itoh M, Luchansky JB, Cassens RG. Conversion of metmyoglobin to bright red myoglobin derivatives by *Chromobacterium violaceum*, *Kurthia* sp., and *Lactobacillus fermentum* JCM1173. *J. Food Sci.* 1993;58:38-42.
 31. Karahan AG, Çakmakçı ML, Cicioğlu-Ardoğan B, Kart-Gündoğdu A. Nitric oxide (NO) and lactic acid bacteria-contributions to health, food quality and safety. *Food Reviews International* 2005;21(3):313-329.
 32. Morita H, Yoshikawa H, Sakata R, Nagata Y, Tanaka H. Synthesis of nitric oxide from the two equivalent guanidino nitrogens of L-arginine by *Lactobacillus fermentum*. *J. Bacteriol.* 1997;79:7812-7815.
 33. Møller JKS, Jensen JS, Skibsted LH. Microbial formation of nitrite-cured pigment, nitrosylmyoglobin, from metmyoglobin in model systems and smoked fermented sausages by *Lactobacillus fermentum* strains and a commercial starter culture. *Eur. Food Res. Technol.* 2003;216: 463-469.
 34. Kart-Gündoğdu A, Karahan AG, Çakmakçı ML. Production of nitric oxide (NO) by lactic acid bacteria

- isolated from fermented products. *European Food Research and Technology* 2006;223:35-38.
35. Çakır, İ., 2005. Fonksiyonel gıdalar ve probiyotikler. 4. Gıda Mühendisliği Kongresi, Ankara,, 29 Eylül- 1 Ekim 2005;57-69.
36. Knorr, D. Technology aspects related to microorganisms in functional foods. *Trends in Food Science & Technology* 1998;9:295-306.
37. Ouwehand AC, Salminen S, Isolauri E. Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie van Leeuwenhoek* 2002;82:279289.
38. Çakır İ, Karahan AG, Çakmakçı ML. Probiyotikler ve etki mekanizmaları. *Gıda Mühendisliği Dergisi* 2002;6,12:15-19.
39. Başyigit G. Bazı laktik asit bakterilerinin probiyotik olarak kullanıma özellikleri. Yüksek Lisans Tezi, (basılmamış), Isparta, 2004;16.
40. Fernandez MF, Boris S, Barbes C. Probiotic properties of human lactobacilli strains to be used in the gastrointestinal tract. *Journal of Applied Microbiology* 2003;94:449455.
41. Erkkilä S, Petäjä E. Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use. *Meat Sci.* 2000;55:297300.
42. Gilliland SE, Speck M. Deconjugation of bile acids by intestinal lactobacilli. *Applied and Environmental Microbiology* 1977;33:15-18.
43. Salminen S, Deighton M, Benno Y, Gorbach S. Lactic acid bacteria in health and disease. In: Salminen, S. and von Wright, A., Editors, *Lactic Acid Bacteria*, Marcel Dekker, New York; 1998;211253.
44. Gänzle M, Hertel C, van der Vossen J, Hammes W. Effect of bacteriocin-producing lactobacilli on the survival of *Escherichia coli* and *Listeria* in a dynamic model of the stomach and the small intestine. *Int. J. Food Microbiol.* 1999;48:2135.
45. Berg, R. Probiotics, prebiotics or 'conbiotics?'. *Trends Microbiol.* 1998;6:89-92.
46. Berrada N, Lemeland J, Laroche G, Thouvenot P, Piaia M. *Bifidobacterium* from fermented milks: survival during gastric transit. *J. Dairy Sci.* 1990;74:409413.
47. Sameshima T, Magome C, Takeshita K, Arihara K, Itoh M, Kondo Y. Effect of intestinal *Lactobacillus* starter cultures on the behaviour of *Staphylococcus aureus* in fermented sausage. *Int. J. Food Microbiol.* 1998;41:17.
48. Saxelin M. Colonization of the human gastrointestinal tract by probiotic bacteria. *Nutr. Today* 1996;31:58.
49. Tannock GA. Fresh look at the intestinal microflora. In: Tannock, G., Editor, *Probiotics: A Critical Review*, Horizon Scientific Press, Norfolk, UK, 1999;514.
50. Erkkilä S, Suihko M-L, Eerola S, Petäjä E, Mattila-Sandholm T. Dry sausages fermented by *Lactobacillus rhamnosus* strains. *Int. J. Food Microbiol.* 2001;64:205210.
51. Pidcock K, Heard GM, Henriksson A. Application of nontraditional meat starter cultures in production of Hungarian salami. *International Journal of Food Microbiology* 2002;76:7581.
52. Andersen L. Fermented dry sausages produced with the admixture of probiotic cultures. In: *44th ICoMST*, 1998;826827.
53. Kaya M, Aksu Mİ. Effect of modified atmosphere and vacuum packaging on some quality characteristics of sliced 'sucuk' produced using probiotics culture. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2005;85:2281-2288.
54. Agerholm-Larsen L, Bell ML, Grunwald GK, Astrup A. The effect of a probiotic milk product on plasma cholesterol: a meta-analysis of short-term intervention studies. *Eur J Clin Nutr.* 2000;54(11):856-60.
55. Jahreis G, Vogelsang H, Kiessling G, Shubert R, Bunte C, Hammes WF. Influence of probiotic sausage (*Lactobacillus paracasei*) on blood lipids and immunological parameters of healthy volunteers. *Food Research International* 2002;35;133138.
56. Hirayama K, Rafter J. The role of probiotic bacteria in cancer prevention. *Microbes and Infection* 2000;2:681686.
57. Haza AI, Zabala A, Arranz N, Garcı´a A, Morales P. The inhibition of the viability of myeloma cells and the production of cytokine by two strains of *Lactobacillus sakei* from meat. *International Journal of Food Science and Technology* 2005;40:437449.
58. Mahoney M, Henriksson A. The effect of processed meat and meat starter cultures on gastrointestinal colonization and virulence of *Listeria monocytogenes*