


Bazı Gıda ve Besiyeri Bileşenlerinin Enterosin KP'nin İnhibitör Aktivitesi Üzerine Etkisi

Zeliha Yıldırım , Yaselin İlk, Metin Yıldırım

Niğde Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Niğde

Geliş Tarihi (Received): 15.11.2013, Kabul Tarihi (Accepted): 15.12.2013

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): zeliha.yildirim@nigde.edu.tr (Z. Yıldırım)

☎ 0 388 225 40 01 📠 0 388 225 01 12

ÖZET

Bu çalışmada, *Enterococcus faecalis* KP tarafından üretilen enterosin KP'nin inhibitör aktivitesi ve spektrumu üzerine bazı gıda ve besiyeri bileşenlerin etkisi belirlenmiştir. İndikatör mikroorganizma olarak *Lactobacillus plantarum*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella typhimurium* kullanılmıştır. Lesitin, kazein ve divalent katyonlar sırasıyla %1, %10 ve 100 mM düzeyinde kullanıldıklarında enterosin KP'nin aktivitesi üzerinde antagonistik bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. EDTA 0,5-1,5 mM konsantrasyonlarda enterosin KP ile birlikte kullanıldığında aktivitesini artırdığı, ancak gliserin monoleat (%0-1) varlığında, asidik ve nötral pH değerlerinde ise enterosin KP'nin aktivitesinin değişmediği saptanmıştır. Ayrıca, EDTA varlığında Gram-negatif bakterilerin enterosin KP'ye karşı duyarlı hale geçtikleri de belirlenmiştir. Sonuç olarak, gıda bileşenleri ancak anormal düzeyde kullanıldıkları zaman enterosin KP aktivitesini belirli düzeyde olumsuz yönde etkiledikleri, ancak enterosin KP, EDTA ile birlikte kullanıldığı zaman *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella typhimurium* gibi Gram-negatif bakterilere karşı etkili bir şekilde kullanılabileceği gözlenmiştir.

Anahtar Kelime: Bakteriyoisin, Enterosin KP, Gıda bileşenleri, İnhibitör aktivite

Effects of Some Food and Medium Components on Inhibitory Activity of Enterocin KP

ABSTRACT

In this study, the effect of food and medium components on the inhibitory activity and spectrum of enterocin KP produced by *Enterococcus faecalis* KP was determined. *Lactobacillus plantarum*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* were used as target organisms. Lecithin, casein, and divalent cations were antagonists on activity of enterocin KP at 1%, 10% and 100 mM, respectively. The activity of enterocin KP was increased in the presence of EDTA at concentrations of 0.5-1.5 mM. However, glycerin-monoleate (%0-1), acidic and neutral pH did not affect its activity. Also, in the presence of EDTA, Gram-negative target organisms became sensitive to enterocin KP. In conclusion, food components when used high levels caused a decrease in enterocin KP activity, but Gram-negative bacteria such as *E. coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* became sensitive to enterocin KP when used in combination with EDTA.

Key Words: Bacteriocin, Enterocin KP, Food components, Inhibitory activity

GİRİŞ

Günümüzde tüketicilerin minimum miktarda işlenmiş gıdalara yönelik tercihlerinin artması kimyasal

koruyucuların gıdalarda kullanımlarını kısıtlamaya başlamıştır. Bu nedenle gıdalarda biyokoruyucuların kullanımları gün geçtikçe artmaktadır. Gıdaların güvenliğini arttırmak ve depolama süresini uzatmak

amacıyla koruyucu kültürlerin ve/veya bunlar tarafından üretilen antimikrobiyal bileşiklerin kullanılmasına biyokoruma yöntemiyle muhafaza denilmektedir. Biyokoruma yöntemlerinden birisi de laktik asit bakterileri (LAB) veya bunların üretmiş oldukları antimikrobiyal bileşiklerin kullanılmasıdır. LAB'leri organik asitler, hidrojen peroksit, antimikrobiyal enzimler, reuterin, karbondioksit ve bakteriyosinler gibi antimikrobiyal aktiviteye sahip metabolitlerden bir veya birkaçını üreterek diğer mikroorganizmaların gelişimini önlemektedirler [1-6].

Bakteriler tarafından üretilen protein yapısında antimikrobiyal bileşikler olan bakteriyosinler, duyarlı bakterilere karşı bakterisidal veya bakteriyostatik etki göstermektedirler. Doğal kaynaklı olmaları, insan ve hayvan bağırsak sisteminde kolayca parçalanmaları ve korunacak gıdaların fizikokimyasal yapılarında herhangi bir değişime neden olmaksızın gıda kaynaklı bozulma ve hastalık etmeni bakterileri inhibe etme özellikleri ile bakteriyosinler önemli biyokoruyucular arasında yer almaktadırlar. LAB bakteriyosinleri mikrobiyal gıda bozulmalarını önleme ve gıda kaynaklı patojen mikroorganizmaları inhibe etme potansiyeline sahiptirler.

LAB tarafından üretilen bakteriyosinlerin inhibitör spektrumunun dar olması, duyarlı mikroorganizmalar içerisinde dayanıklı mutantların oluşması, gıda bileşiminin koruyucu etkisi, gıdada bulunan diğer antagonistik bileşikler veya gıda bileşenleri ile etkileşime girmeleri, gıda matrisinde düşük çözünürlükleri ve homojen dağılmamaları gibi faktörler bakteriyosinlerin gıda koruyucusu olarak uygulanabilirliklerini sınırlamaktadır [7-10].

Tokat yöresinde geleneksel olarak üretilen Beyaz peynirden izole edilen *Enterococcus faecalis* KP tarafından sentezlenen enterosin KP'nin test edilen bazı gıda kaynaklı patojen ve bozulma etmeni bakterilere, örneğin *Listeria monocytogenes*, *L. ivanovii*, *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc cremoris*, *Leu. mesenteroides*'e karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür [11]. Bu çalışmanın amacı enterosin KP'nin gıda endüstrisinde uygulanabilirliğini ortaya koyabilmek amacıyla inhibitör aktivitesi üzerine bazı gıda ve besiyeri bileşenlerin etkisini belirlemektir. Gıda ve besiyeri bileşeni olarak lesitin, gliserin-monooleat, kazein, EDTA, MgSO₄, MnSO₄ ve CaCl₂ kullanılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Mikroorganizmalar ve Besiyerleri

Bu çalışmada, *Lactobacillus plantarum*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella typhimurium* indikatör mikroorganizma, *Enterococcus faecalis* KP ise bakteriyosin olan enterosin KP'nin üreticisi olarak kullanılmıştır. Laktik asit bakterileri de Mann Rogosa Sharpe (MRS) (Fluka, Almanya), diğer bakteriler ise Brain Hearth Infusion (BHI) (Merck, Almanya) besiyerinde geliştirilmiştir. *E. faecalis* KP ve *Lb. plantarum* 32°C'de, diğer bakteriler ise 35-37°C'de

geliştirilmiştir. Çalışmada kullanılan bütün bakteriler -80°C'de %20 gliserol içeren uygun besiyerlerinde muhafaza edilmiştir.

Bakteriyosinin Hazırlanması

E. faecalis KP %0,1 oranında MRS besiyerine inoküle edilip 32°C'de inkübasyon işlemine tabi tutulmuştur. İnkübasyon işleminden sonra bakteri kültürü 6000 × g' de 20 dk süre ile santrifüj edilip filtrat kısmı toplanmış ve pH'sı 10 N NaOH kullanılarak 6,5'e ayarlanmıştır. Bunu takiben süpernatant 0,45 µm gözenek çaplı membran filtresi ile sterilize edilmiştir. Çalışma hacmini azaltmak ve daha az kimyasal madde kullanmak amacıyla süpernatant liyofilizasyon yöntemiyle yaklaşık %50 oranında konsantre edilmiştir. Hücre içermeyen konsantre süpernatanta yavaş yavaş % 40 oranında amonyum sülfat ilave edildikten sonra 4°C'de gece boyunca karıştırılmıştır. Karışım santrifüj (4°C'de 8000 × g/60 dk) edildikten sonra yüzeyde ve altta biriken pelet toplanarak 10 mL sodyum fosfat tamponunda (pH 6,5) çözündürülmüştür. Bunu takiben 15 mL metanol/kloroform karışımı (1:2, v/v) ilave edilerek 4°C'de 1 saat inkübasyon işlemine tabi tutulmuştur. Örnek santrifüj edildikten sonra pelet liyofilizasyon yöntemiyle kurutularak -80°C'de muhafaza edilmiştir [12].

Gıda ve Besiyeri Bileşenlerin Enterosin KP'nin Aktivitesi Üzerine Etkisi

Lesitin (%0,1, 0,5 ve 1), gliserin monooleat (%0,1, 0,5 ve 1), kazein (%0, 1, 5, 10), EDTA (0,5, 1 ve 1.5 mM/L), MgSO₄·x7H₂O (10 ve 100 mM), MnSO₄·xH₂O (10 ve 100 mM) ve CaCl₂·x2H₂O (10 ve 100 mM) farklı oranlarda BHI veya MRS besiyerine ilave edildikten sonra ortamın pH'sı 6,5'e 4 M HCl veya 4 M NaOH ile ayarlanmış ve membran filtrasyonu ile sterilize edilmiştir. Besiyeri bileşenlerinin enterosin KP aktivitesi üzerine etkisini belirlemek için test mikroorganizmaları ilave edildikten (600 nm'de OD değeri 0,1) sonra enterosin KP katılmış (1600 AU/mL) ve her bir bakteri optimum gelişebildiği sıcaklıkta 16 saat inkübasyon işlemine tabi tutulmuştur. İnkübasyon işleminin belirli aralıklarında örnekler alınıp 600 nm'de absorbans değeri okunmuştur.

İstatistiksel analizler

Araştırmadan elde edilen veriler p<0,05 seviyesinde varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuş ve ortalamalar arasındaki farklılık ise LSD testi kullanılarak (p<0,05) belirlenmiştir [13].

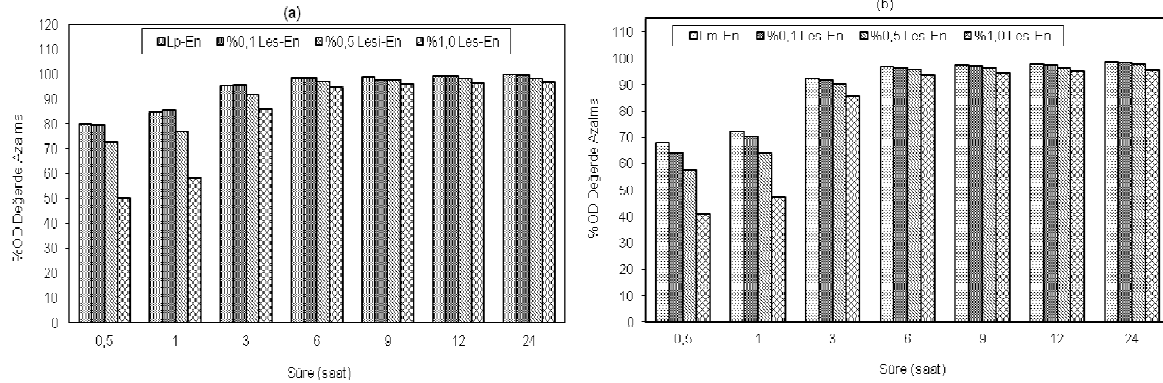
BULGULAR ve TARTIŞMA

Lesitin, Gliserin Monooleat ve Kazeinin Etkisi

Gıda bileşenleri bakteriyosinlerle veya bakteriyosinlerin hedef yeri olan bakteriyal sitoplazmik membranla intereaksiyona girebilirler. Bakteriyosinlerin aktivitesi amfifilik özelliklerinden dolayı membranla olan hidrofobik ve elektrostatik intereaksiyonun sonucu oluşmaktadır. Bundan dolayı enterosin KP'nin *Lb. plantarum* ve *L. monocytogenes*'e karşı aktivitesi üzerine lesitin, kazein

ve divalent katyonların etkisi incelenmiştir. Şekil 1'de görüldüğü üzere enterosin KP'nin her iki indikatör bakteriye karşı antimikrobiyal aktivitesi üzerine lesitin % 0.1 ve 0.5 düzeylerinde kullanıldığında hiç etkisinin olmadığı ($P>0.05$), %1 düzeyinde katıldığında ise *Lb. plantarum* ve *L. monocytogenes*'e karşı olan aktivitesinde sırasıyla yaklaşık %30 ve %27'lik oranında bir azalmaya neden olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$). İnkübasyon süresi boyunca da, hem enterosinin tek başına hem de lesitin ile enterosinin birlikte kullanıldığı

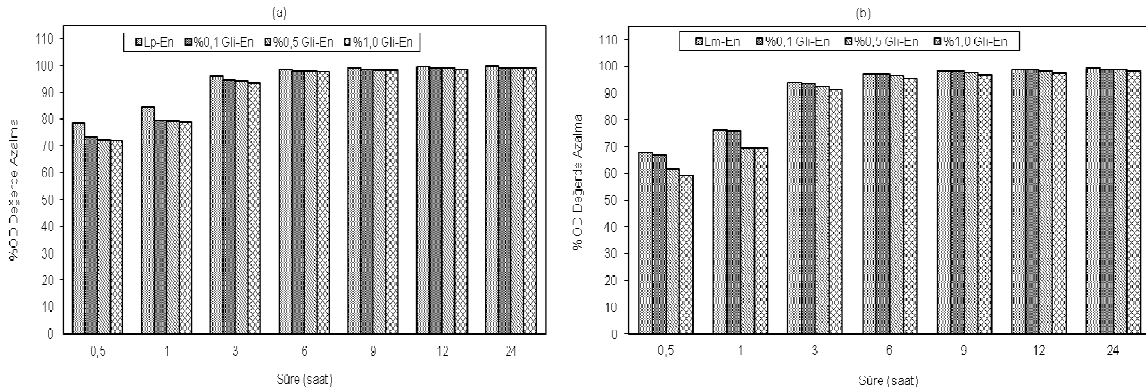
örneklerde absorpsan değerinde istatistiksel olarak önemli olmasa da ($P>0.05$) bir azalmanın olduğu belirlenmiştir. Bunlara ilaveten, kontrol örneği ile lesitin içeren örnekler karşılaştırıldığında kullanılan lesitin oranlarının bakterilerin gelişimini engellemediği tespit edilmiştir ($P>0.05$). Analizde kullanılan lesitin oranları lesitin açısından zengin gıdaların içerikleri baz alınarak seçilmiştir. Örneğin yumurta sarısında yaklaşık %6, sütte ise %0.05 oranında bulunmaktadır.



Şekil 1. Enterosin KP'nin *Lactobacillus plantarum* (a) ve *Listeria monocytogenes*'e (b) karşı inhibitör aktivitesi üzerine lesitin etkisi. Lp, *Lb. plantarum*; Lm, *L. monocytogenes*; En, enterosin; Les, lesitin.

Gliserin monooleat'ın enterosin aktivitesine etkisini belirlemek için %0.1, 0.5 ve 1.0 oranında kullanılmıştır (Şekil 2). Analiz sonucunda, farklı konsantrasyonlarda gliserinin enterosin KP ile birlikte kullanıldığı örnekler, sadece enterosin KP kullanılan örneklerle karşılaştırıldığı zaman *Lb. plantarum* ve *L. monocytogenes*'e karşı gliserinin bakteriyosin aktivitesini etkilemediği gözlenmiştir ($P>0.05$). İnkübasyon işlemi

süresince (24 saat) de enterosin KP içeren bütün örneklerde *Lb. plantarum* ve *L. monocytogenes* absorpsan değerlerinin az da olsa azaldığı saptanmıştır ($P>0.05$). Gliserin monooleat %1 oranında kullanıldığında nisin ve sakasin bakteriyosinlerin aktivitesini 2.4 ve 1.2 oranında artırdığı, ancak kurvasin bakteriyosinin aktivitesi üzerine sinerjit veya antagonistik aktiviteye sahip olmadığı belirlenmiştir [14].



Şekil 2. Enterosin KP'nin *Lactobacillus plantarum* (a) ve *Listeria monocytogenes*'e (b) karşı inhibitör aktivitesi üzerine gliserinin etkisi. Lp, *Lb. plantarum*; Lm, *L. monocytogenes*; En, enterosin; Gli, gliserin monooleat.

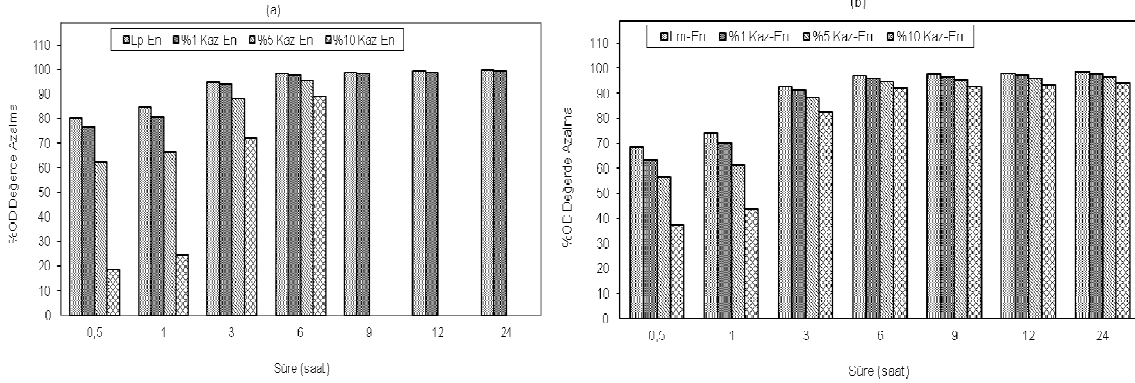
Kazein sütte bulunan başlıca proteinlerden biri olup birçok üründe gıda ingrediенти olarak kullanılmaktadır. Kazein %1 ve %5 oranında kullanıldığında *Lb. plantarum* ve *L. monocytogenes*'e karşı enterosin KP'nin antimikrobiyal aktivitesini etkilemediği ($P>0.05$) saptanmıştır (Şekil 3). Ancak %10 düzeyinde katıldığında *Lb. plantarum*'un absorpsan değerinde %62'lik, *L. monocytogenes*'in absorpsan değerinde ise %31'lik bir artışa, dolayısıyla enterosin KP aktivitesinde

önemli düzeyde bir azalmaya ($P<0.01$) neden olduğu belirlenmiştir (Şekil 5 ve 6). İndikatör mikroorganizma olarak *Lb. plantarum* kullanıldığında kazeinin antagonistik aktivitesinin daha fazla olduğu gözlenmiştir. Yüksek oranda kazein (%5-10) ve *Lb. plantarum* içeren enterosinsiz örneklerde, inkübasyon işleminin 6. saatinden sonra pıhtılaşmadan dolayı okuma yapılamamıştır. *Lb. plantarum*'un gelişmesine paralel olarak artan asitlik kazeinin pıhtılaşmasına neden

olmuştur. Kazeinin izoelektrik noktası 4,6 pH'dır. Enterosin KP içeren örneklerde *Lb. plantarum*'un gelişimi önlediğinden asitlikte bir artış gözlenmemiş ve bunun sonucunda da pıhtılaşma görülmemiştir. Ayrıca *L. monocytogenes* zayıf asit oluşturma yeteneğine sahip olduğundan ortam pH'sını kazeinin izoelektrik noktasına düşürmemiş ve dolayısıyla %5-10 oranında kazein içeren örneklerde pıhtılaşma olayı meydana gelmemiştir. Enterosin KP içeren örneklerde inkübasyon işlemi süresince absorbans değerinin azaldığı, enterosin

KP içermeyen örneklerde ise absorbans değerinin arttığı gözlenmiştir.

Kazein %5 oranında kullanıldığında nisin, sakasin P ve kurvasin A'nın *L. innocua*'ya karşı aktivitelerinde sırasıyla %27, %53 ve %42 düzeyinde bir azalmaya neden olduğu Ganzle ve ark. [14] tarafından bulunmuştur. Bu bilgiler doğrultusunda kazeinin aynı konsantrasyonlarda nisin, sakasin ve kurvasin bakteriyosinlerine göre enterosin KP üzerinde daha düşük antagonistik etkiye sahip olduğu söylenebilir.



Şekil 3. Enterosin KP'nin *Lactobacillus plantarum* (a) ve *Listeria monocytogenes*'e (b) karşı inhibitör aktivitesi üzerine kazeinin etkisi. Lp, *Lb. plantarum*; Lm, *L. monocytogenes*; En, enterosin; Kaz, kazein.

Divalent Katyonların Etkisi

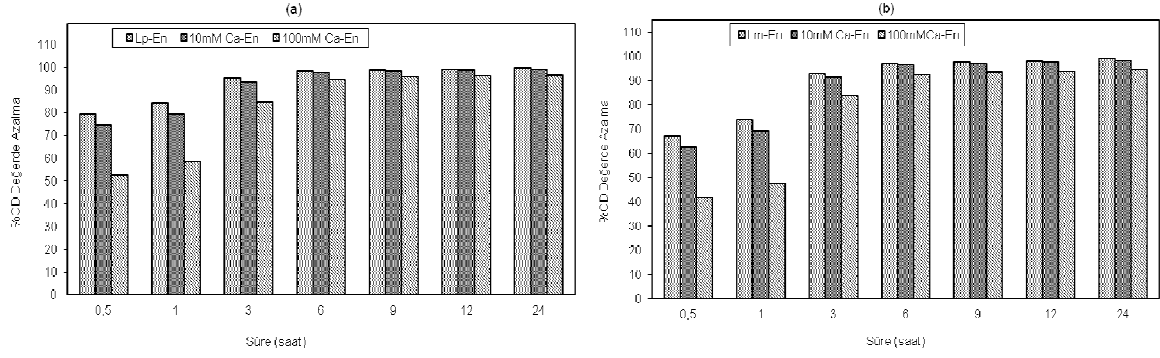
Gelişme ortamına yüksek oranda divalent katyonların ilavesinin bakteriyosin aktivitesini etkilediği belirlenmiştir. CaCl_2 , MgSO_4 ve MnSO_4 10 mM düzeyinde kullandıklarında enterosin KP'nin *Lb. plantarum* ve *L. monocytogenes*'e olan aktivitesini etkilemediği ($P>0,05$), ancak 100 mM katıldığında test edilen indikatör bakterilerin absorbans değerinde sırasıyla Ca^{+2} 'nin %26.7 ile 26.1, Mg^{+2} 'nin %41.7 ile %25,0, Mn^{+2} 'nin ise %55.0 ile %43.5 artışa, dolayısıyla bakteriyosin aktivitesinin azalmasına ($P<0.01$) neden olduğu bulunmuştur (Şekil 4, 5 ve 6). Verilerden de anlaşılacağı üzere aktivitedeki azalmanın kullanılan bakterilere bağlı olmadığı ve Mn^{+2} 'nin antagonistik aktivitesinin Ca^{+2} ve Mg^{+2} katyonlarına göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Ca^{+2} , Mg^{+2} ve Mn^{+2} katyonlarının antagonistik etkisi artan iyonik güçten kaynaklanabileceği gibi hücre yüzeyi ile bakteriyosin molekülü arasındaki interaksiyon üzerinde inhibitör olarak rol oynamasından ileri gelebileceği düşünülmektedir [15]. Ayrıca divalent katyonlar aniyonik fosfolipitlerle interaksiyona girerek sitoplazmik membranın dayanıklılığının artmasına ve böylece bakteriyosinlerin sitoplazmik membrana olan etkilerinin azalması da neden olabilirler [16, 17]. Divalent katyonların bakteriyosin aktivitesinde azalmaya neden olan konsantrasyonu gıdalarda bulunan değerlerinin üstündedir. Örneğin sert peynirde Ca^{+2} 30 mM, Mg^{+2} 2 mM; inek etinde Ca^{+2} 0.25 mM, Mg^{+2} 1 mM; çavdarda ise Ca^{+2} 1.6 mM, Mg^{+2} 5 mM düzeyinde bulunmaktadır. Ca^{+2} , Mg^{+2} ve Mn^{+2} katyonları 10 mM konsantrasyonda kullandıklarında enterosin KP aktivitesini etkilemediği belirlendiği için söz konusu ürünlerde kullanıldığında da

aktivitede önemli bir azalmanın olmayacağı sonucuna varılabilir. İnkübasyon işlemi süresince de enterosin KP içeren örneklerin absorbans değerlerinin istatistiksel olarak önemli olmasa da azaldığı saptanmıştır ($P>0.05$). Ca^{+2} , Mg^{+2} ve Mn^{+2} katyonlarının inhibitör etkisi ilave edilen bakteriyosin miktarı artırılarak veya şelatlaştırıcı maddelerle birlikte kullanılma suretiyle giderilebilir.

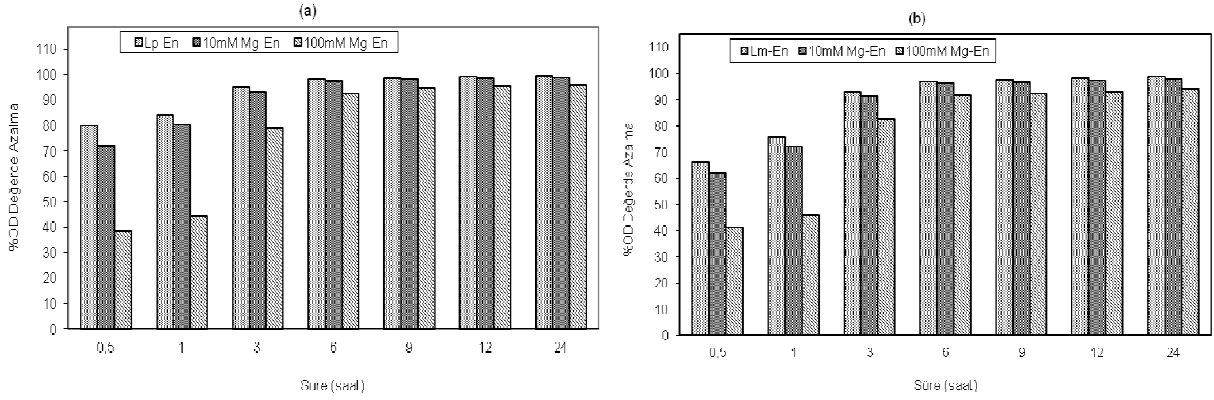
Mn^{+2} , Mg^{+2} ve Ca^{+2} (10 mM) varlığında sakasin P, kurvasin A ve özellikle nisin'in inhibitör aktivitesinin azaldığı rapor edilmiştir [14]. Ayrıca divalent katyonlardan Mn^{+2} 'nin bakteriyosinlerin aktivitelerinin azalmasında daha az etkili olduğu bulunmuştur. Castellano ve ark. [18] yaptıkları bir çalışmada, Ca^{+2} 'nin laktosin 705 bakteriyosinine karşı antagonistik bir etkiye sahip olduğunu, Mg^{+2} 'nin ise bakteriyosin aktivitesini etkilemediğini gözlemişlerdir. Minahk ve Morero [15]'da mono (Na^+ , K^+ , Li^+) ve divalent katyonların (Ca^{+2} , Mg^{+2}) enterosin CRL5'in antilisterya aktivitesi üzerinde inhibitör olarak rol oynadıklarını belirlemişlerdir.

Şelatlaştırıcı Maddelerden EDTA'nın Etkisi

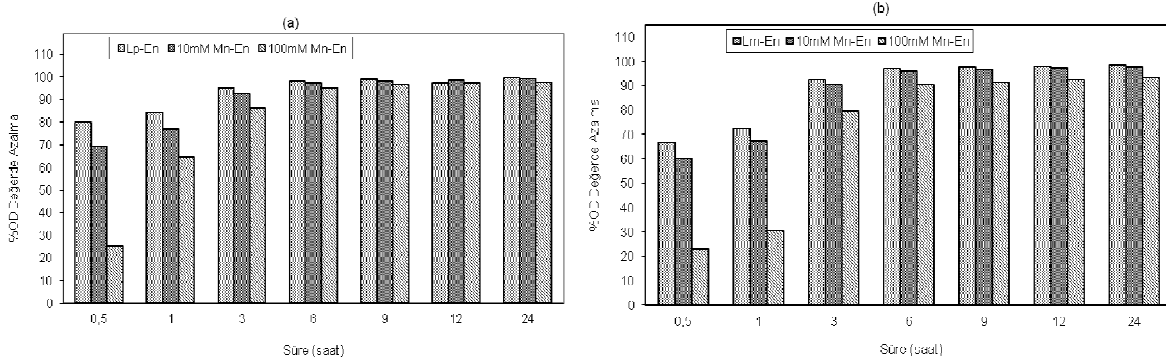
EDTA divalent katyonlarla kompleks oluşturarak divalent moleküllerin bakteriyosin aktivitesi üzerindeki antagonistik etkinin giderilmesinde rol oynayacağı gibi dış membran stabilitesini bozarak hidrofobik ve toksik moleküllerin sitoplazmik membrana ulaşmasında da önemli rol oynayabilmektedir. Bu çalışmada *L. monocytogenes*, *E. coli* ve *Salmonella typhimurium* üzerine enterosin KP'nin inhibitör aktivitesi üzerine ortama ilave edilen EDTA'nın etkisi incelenmiştir.



Şekil 4. Enterosin KP'nin *Lactobacillus plantarum* (a) ve *Listeria monocytogenes*'e (b) karşı inhibitör aktivitesi üzerine $CaCl_2$ 'ün etkisi. Lp, *Lb. plantarum*; En, enterosin KP; 10 ve 100Ca, 10 ve 100 mM $CaCl_2$.



Şekil 5. Enterosin KP'nin *Lactobacillus plantarum* (a) ve *Listeria monocytogenes*'e (b) karşı inhibitör aktivitesi üzerine $MgSO_4$ etkisi. Lp, *Lb. plantarum*; En, enterosin KP; 10 ve 100 mM $MgSO_4$.



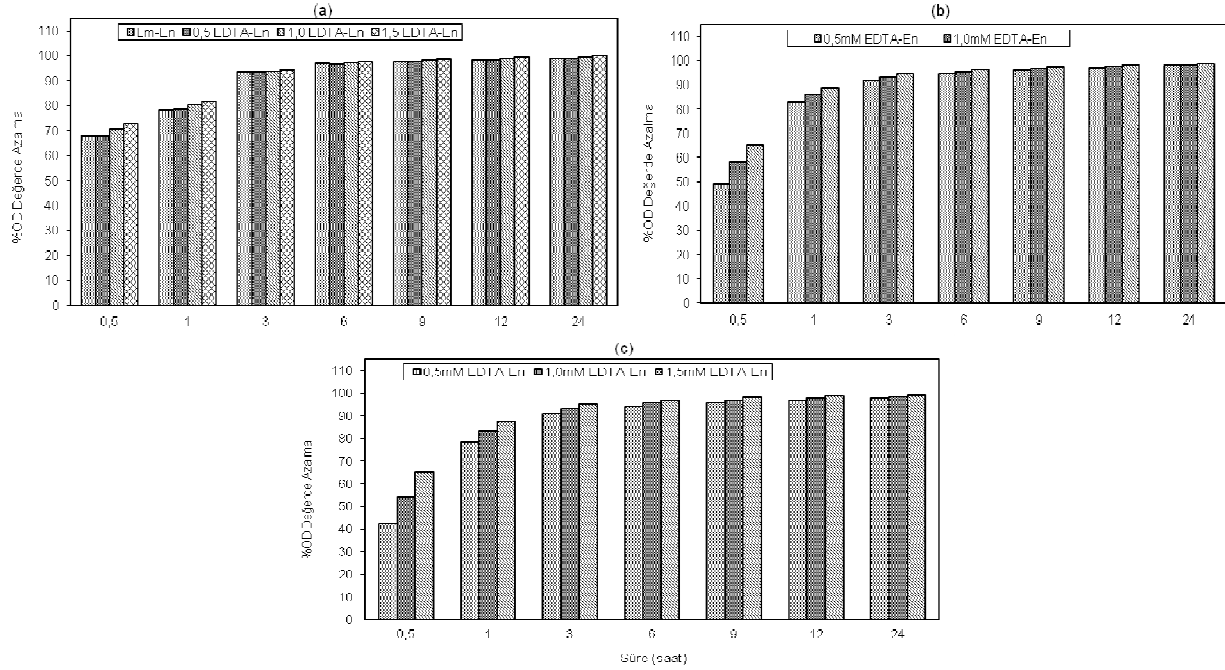
Şekil 6. Enterosin KP'nin *Lactobacillus plantarum* (a) ve *Listeria monocytogenes*'e (b) karşı inhibitör aktivitesi üzerine $MnSO_4$ Etkisi. Lp, *Lb. plantarum*; En, enterosin KP; 10 ve 100 mM $MnSO_4$.

Şekil 7'de görüldüğü üzere, besiyerine katılan tüm EDTA (0.5, 1.0 ve 1.5 mM) konsantrasyonlarının *L. monocytogenes* gelişimini olumsuz yönde etkilemediği gibi enterosin KP'nin söz konusu bakteriyeye karşı aktivitesini de etkilemediği belirlenmiştir ($P>0,05$). Ancak, ortamda bulunan EDTA'nın Gram-negatif bakteriler üzerine etkili olmayan enterosin KP'nin *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella typhimurium*'a karşı inhibitör aktivite kazanmasına ve hatta bu bakterilerin gelişimini çok etkili bir şekilde önlediği gözlenmiştir ($P<0,01$) (Şekil 7b ve c). EDTA 0.5, 1.0 ve 1.5 mM düzeyinde enterosinle birlikte kullanıldığında *E. coli*'nin absorpsiyon

değerinde %47.8, 57.2 ve 64.4; *Salmonella typhimurium*'da ise %38.1, 50.9 ve 62.6 düzeyinde istatistiksel olarak önemli bir azalmaya neden olduğu gözlenmiştir ($P<0.01$). EDTA konsantrasyonunun artmasıyla enterosin KP'nin bu iki Gram-negatif bakteriyeye karşı inhibitör aktivitesinin arttığı görülmüştür. Enterosin KP ve EDTA birlikte kullanıldığında gıda kaynaklı patojen Gram-negatif bakterilerin imhasının mümkün olabileceği sonucuna varılabilir. İnkübasyon işlemi süresince de EDTA ve enterosin KP içeren örneklerin absorpsiyon değerlerinin düşmeye devam ettiği gözlenmiştir. Sadece EDTA içeren örneklerde

konsantrasyona bağlı olarak her iki bakterinin absorpsan değerinde düşük düzeyde de olsa bir azalmanın olduğu gözlenmiştir ($P>0.05$) (Şekil 7b ve c).

Nisin, sakasin P ve kurvasin A'nın; laktosin 705 ve AL705 bakteriyosinlerin aktivitesinin ortamda bulunan EDTA'nın stümlatör etkisiyle arttığını tespit etmişlerdir [14, 19].



Şekil 7. Enterosin KP'nin *L. monocytogenes* (a), *E. coli* O157:H7 (b) ve *Salmonella typhimurium* (c)'a karşı inhibitör aktivitesi üzerine EDTA'nın etkisi. *L. monocytogenes*; En, enterosin KP.

SONUÇ

Gıdaların üretimi ve depolanması sırasında bakteriyosinlerle patojenik mikroorganizmaların gelişmelerinin durdurulması ve önlenmesi bakteriyosin, gıda matrisi ve hedef mikroorganizma arasındaki spesifik etkileşimlerden kaynaklanmaktadır. Enterosin KP'nin gıda bileşenlerinden lesitin, gliserin monooleat, kazein ve divalent katyonların gıdalarda bulunan normal konsantrasyonlarında aktivitesini kaybetmemesi önemli bir özelliktir. Çünkü bu sonuç enterosin KP'nin birçok gıdada kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. Lesitin, kazein ve divalent katyonlar çok yüksek konsantrasyonlarda (sırasıyla %1, %10 ve 100 mM) bulduklarında bakteriyosin aktivitesinde azalmaya neden olmaktadır. Bu antagonistik etki kullanılan enterosin KP miktarı ile giderilebilir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma TÜBİTAK (Proje No 102O282 TOVAG) tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

[1] Holtzel, A., Ganzle, M.G., Nicholson, G.J., Hammes, W.P., Jung, G., 2000. The first low-molecular-weight antibiotic from lactic acid bacteria: reutericyclin, a new tetramic acid. *Angewandte Chemie (International Edition)* 39: 2766-2768.

[2] Cleaveland, J., Mantville, T.J., Ness, I.F., Chiknids, M.L. 2001. Bacteriocins: safe antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology* 71: 1-20.

[3] Magnusson, J., Schnürer, J. 2001. *Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* strain SI3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 1-5.

[4] Drider, D., Fimland, G., Hechard, Y., McMullen, M.L., Prevost, H. 2006. The continuing story of class IIa bacteriocins. *Microbiology and Molecular Biology Review* 70: 564-582.

[5] Gwen, M. 2006. Maintaining freshness in cultured dairy products. Cultured Dairy Products Conference Minneapolis-May 2006, On: <http://www.idfa.org/meetings>

[6] De Vuyst, L. Leroy, F., 2007. Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *Journal Molecular Microbiology Biotechnology* 13: 194-199.

[7] Mazzotta, A.S., Montville, T.J., 1997. Nisin induces changes in membrane fatty acid composition of *Listeria monocytogenes* nisin-resistant strains at 108°C and 30°C. *Journal of Applied Microbiology* 82: 32-38.

[8] Aasen, I.M., Markussen, S., Møretrø, T., Katla, T., Axelsson, L., Naterstad, K., 2003. Interactions of the bacteriocins sakacin P and nisin with food

- constituents. *International Journal of Food Microbiology* 87: 35–43.
- [9] Ross, R.P., Sporns, P., Dodd, H.M., Gasson, M.J., Mellon, F.A., McMullen, L.M., 2003. Involvement of dehydroalanine and dehydrobutyrine in the addition of glutathione to nisin. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51: 3174–3178.
- [10] Galvez, A., Abriouel, H., Lopez, R.L., Omar, N.B., 2007. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology* 120: 51–70.
- [11] Isleroglu, H., Yildirim, Z., Tokatli, M., Nilgun, O., Yildirim, M., 2012. Partial characterisation of enterocin KP produced by *Enterococcus faecalis* KP, a cheese isolate. *International Journal of Dairy Technology* 65: 90-97.
- [12] Moreno, M.R., Leisner, J.J., Tee, L.K, Ley, C., Radu, S., Rusul, G., Vancanneyt, M., De Vuyst, L., 2002. Microbial analysis of Malaysian Tempeh, and characterization of two bacteriocins produced by isolates of *Enterococcus faecium*. *Journal of Applied Microbiology* 92(1): 147-57.
- [13] Anonim, 1995. "User's Guide: Statistics", Version 6.12 Ed. SAS Institute, Cary, NC.
- [14] Ganzle, M.G., Weber, S., Hammes, W. P., 1999. Effect of ecological factors on the inhibitory spectrum and activity of bacteriocins. *International Journal of Food Microbiology* 46: 207–217.
- [15] Minahk C.J., Morero R.D., 2003. Inhibition of enterocin CRL35 antibiotic activity by mono- and divalent ions. *Letters in Applied Microbiology* 37: 374–379.
- [16] Demel, R.A., Peelen, T., Siezen, R.J., de Kruijff, B., Kuipers, O.P. 1996. Nisin Z, mutant nisin Z and lacticin 481 interactions with anionic lipids correlate with antimicrobial activity. A monolayer study. *European Journal of Biochemistry* 235: 267–274.
- [17] Crandall, A.D., Montville, T.J., 1998. Nisin resistance in *Listeria monocytogenes* ATCC 700302 is a complex phenotype. *Applied and Environmental Microbiology* 64: 231–237.
- [18] Castellano, P., Raya, R., Vignolo, G., 2003. Mode of action of lactocin 705, a two-component bacteriocin from *Lactobacillus casei* CRL705. *International Journal of Food Microbiology* 85: 35-43.
- [19] Belfiore, C., Castellano, P., Vignolo, G., 2007. Reduction of *Escherichia coli* population following treatment with bacteriocins from lactic acid bacteria and chelators. *Food Microbiology* 24: 223-229.
-