

## Bakteriyosinler ve Gıdalarda Kullanım Olanakları

Şükrü KURT Ömer ZORBA

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 65080-VAN

### ÖZET

Bakteriyosinler bakteriler tarafından sentezlenen doğal antimikrobiyal maddelerdir. Protein yapısında olup, genellikle kısa zincirli, küçük molekül ağırlığına sahiptirler. Bir çoğu ısı stabilitesine sahip olup, asidik gıdalarda aktivite gösterebilmekte ve sindirim sistemi orijinli proteolitik enzimlerle parçalanabilmektedir. Etki spektrumları bazı türlerle sınırlı olup, daha çok Gram (+) mikroorganizmalar üzerinde etkilidirler. Biyokimyasal özellikleri ve etki spektrumları sentezleyen mikroorganizmalara bağlı olarak farklılık göstermektedir. *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leconostoc* ve *Staphylococcus* gibi bir çok mikroorganizma tarafından sentezlenmeleriyle birlikte, gıdalarda daha çok laktik asit bakterileri tarafından sentezlenen bakteriyosinler kullanılmaktadır. *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* ve *Salmonella spp.* gibi birçok patojen mikroorganizma üzerinde etkili olmaları nedeniyle, gıdalarda kullanım potansiyelleri oldukça artmıştır. Bununla birlikte, gıdaların korunmasında diğer koruyucu maddeler veya koruyucu proseslerle birlikte kullanılmaları daha etkili olmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Bakteriyosin, laktik asit bakterileri, nisin

### *Bacteriocins and Their Potential Usage in Foods*

### SUMMARY

Bacteriocins are natural and antimicrobial substances produced by bacteria. They are proteinaceous in nature and generally have short chain and low molecular weight. Most of them show high heat stability, maintain their activity in acidic pH, and are biodegradable with proteolytic enzymes of digestive system. They are usually active against only a limited range of species, particularly Gram (+) bacteria. Their biochemical characteristics and antimicrobial spectrums are exhibited differences depend on producer microorganisms. Bacteriocins are generally produced by *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leconostoc* and *Staphylococcus*, however bacteriocins from lactic acid bacteria are used as biopreservative in food applications. Because of their inhibitory activities against pathogenic bacteria such as *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* and *Salmonella spp.*, their potential usage is increased in foods. However the effects of bacteriocins are increased with some antimicrobial substances and processes in foods.

**Keywords:** Bacteriocin, lactic acid bacteria, nisin

### GİRİŞ

İnsanların sağlıklı büyüme ve gelişmelerinde tükettikleri gıdaların güvenilir olması oldukça önemlidir. Her geçen gün, tüketici talebine bağlı olarak yeni gıdalar geliştirilmektedir. Bu gıdaların birçoğu bildiğimiz temel gıda kaynaklarından üretilmekte ve fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin geliştirilmesi ve muhafaza sürelerinin uzatılması için çeşitli katkı maddeleri kullanılmaktadır. Ancak bu katkıların bazılarının sağlıksız oluşu ve kullanım oranına bağlı olarak kanserojenik ve toksik etki yapabilmeleri, doğal ve güvenilir katkıların elde edilmesi ve kullanımını oldukça önemli hale getirmiştir.

Gıdaların korunması ve muhafaza sürelerinin uzatılmasında, düşük sıcaklık veya ısı işlem uygulaması, paketleme yöntemleri gibi prosesler ve tuz, şeker ve antimikrobiyal katkı maddeleri gibi katkıları kullanılmaktadır. Ancak yine de gıda kaynaklı sağlık sorunlarıyla karşılaşabilmektedir. Gıdaların güvenliğinin sağlanmasında mümkün olduğunca proses uygulamalarından kaçınılması ve doğal katkı maddelerinin kullanımı gerekmektedir. Bu amaçla biyokontrol yöntemi önerilmektedir. Bu yöntemde, antagonistik mikroorganizmaların ve metabolitlerinin kullanımıyla patojen ve bozulma etmeni

mikroorganizmaların inaktive edilmesi sağlanmaktadır (1). Gram (+) ve Gram (-) mikroorganizmaların önemli bir kısmı antimikrobiyal bileşenler üretmelerine rağmen, gıdaların biyokontrolünde laktik asit bakterilerinin ayrı bir önemi vardır. Bu bakteriler fermentasyon teknolojisinin tipik bakterileri olup, gıdalarda uzun yıllardan beri güvenli bir şekilde kullanılmaktadırlar (1).

Gıdaların korunmasında laktik asit bakterileri gibi koruyucu kültürlerin kullanımını yanında, bu kültürlerden elde edilen bakteriyosin gibi metabolitler de kullanılmaktadır. Bakteriyosinler bakteriler tarafından sentezlenerek salgılanan, protein yapısındaki antimikrobiyal bileşenlerdir (1,2). İnhibisyon etkileri daha çok yakın türler üzerinde bulunmaktadır. Farklı özelliklere sahip birçok çeşitlerinin olmasına rağmen, gıdalarda güvenli bir şekilde ve yaygın olarak daha çok laktik asit bakterilerinden elde edilen nisin kullanılmaktadır (3). Dolayısıyla, nisinle birlikte diğer bakteriyosinlerin özelliklerinin bilinmesi, bu antimikrobiyal maddelerin birçok gıda maddesinde etkin bir şekilde kullanımını sağlayabilecektir.

### Bakteriyosinlerin Tanımlanması ve Sınıflandırılması

Bakteriyosinlerin tanımlanmasına yönelik ilk çalışma 1925'te *E. coli* tarafından sentezlenen colicin'in

tespit edilmesiyle başlamıştır. Bakteriyosinlerin aynı ya da farklı bakteri grupları tarafından sentezlenen yüzden fazla çeşidi bulunmaktadır. *E coli* suşlarının yanı sıra *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Staphylococcus* ve *Enterococcus* gibi birçok mikroorganizma bakteriyosin üretmektedir (3). Ancak daha çok gıdalar da güvenli olduğu düşünülen laktik asit bakterileri tarafından sentezlenen bakteriyosinler üzerinde araştırma yapılmakta ve gıdalarda bu bakteriyosinler kullanılabilir. Bu nedenle laktik asit bakterileri, özellikle de *Lactobacillus* ve *Lactococcus* tarafından sentezlenen bakteriyosinler üzerinde önemle durulmaktadır.

Laktik asit bakterilerinin sentezlediği bakteriyosinler birbirinden farklı özellikte olup, etki spektrumları, biyokimyasal özellikleri ve genetik determinantları farklılık göstermektedir. Genellikle düşük molekül ağırlığına (3-10kDa) sahip olup, hidrofilik ve hidrofobik kısımları bulunmaktadır. pH aralıkları geniş, izoelektrik noktaları yüksektir (1). Nisin ve pediocin AcH asidik koşullarda yüksek sıcaklığa daha dayanıklı olup, nisin otoklavlandıktan sonra pH 5'te aktivitesinin %40'ını, pH 6.8'de ise %90'ını kaybetmektedir (4). Laktik asit bakterilerinin ürettiği bakteriyosinlerin çoğu katyonik, hidrofobik veya amfilik moleküller olup, 20-60 amino asit rezidüsü içermektedirler (3).

Bakteriyosinler için farklı sınıflandırmalar yapılmakla birlikte, daha çok Klaenhammer'in özellikle Gram (+) bakterileri dikkate alarak yaptığı sınıflandırma kullanılmaktadır. Biyokimyasal özellikleri dikkate alınarak yapılan sınıflandırmada, bakteriyosinler molekül büyüklüğü, kimyasal yapıları, etki mekanizmaları ve ısı stabilitelere göre genel olarak 4 sınıfa ayrılmışlardır (Tablo 1). Ancak, biyokimyasal tanımlanması bakımından daha çok ilk 3 sınıf dikkate alınmaktadır (3).

### GRUP I bakteriyosinler

Bu gruptaki bakteriyosinler daha çok "lanthionine" içermeleri nedeniyle lantibiyotikler olarak adlandırılmakta ve yapılarında bilinen amino asitlerden farklı olarak lanthionine (Lan) ve methyllanthionine (MeLan) amino asit türevlerini içermektedirler. Bununla birlikte yapılarında biyokimyasal özelliklerini etkileyen dehydroalanine ve dehydrobutyrine de bulunmaktadır (5). Molekül ağırlıkları 5kDa'dan daha düşüktür. Bu grupta yer alan nisin, lacticin 3147A ve 3147B ile plantaricin C'nin ısı stabilitelere yüksek olup, asidik pH'da 100°C'ye kadar stabilitelere koruyabilmektedirler (3). Bu gruptaki bakteriyosinler kimyasal yapılarına ve antimikrobiyal aktivitelerine göre I A ve I B lantibiyotikleri olmak üzere iki gruba ayrılırlar.

**Grup IA:** Bu gruptaki bakteriyosinler net pozitif yüke sahip ve hidrofobik polipeptid yapılarındadır. Membran aktif peptidler olup, bakteri zarında gözenek oluşturarak antimikrobiyal aktivite göstermektedirler.

Grup I B'deki bakteriyosinlere kıyasla daha esnek bir yapıya sahiptirler (3,5).

**Grup IB :** Bu gruptaki bakteriyosinler yüksüz veya negatif yüklü olup, globüler peptid yapılarındadır. Spesifik enzimleri inhibe ederek antimikrobiyal aktivite göstermektedirler (5).

### GRUP II bakteriyosinler

Bu gruptaki bakteriyosinler Grup I'den farklı olarak lanthionine içermezler. Ayrıca, molekül ağırlıkları 10kDa'dan daha düşük olup, ısı stabilitesine sahiptirler. Amfilik helikse, değişik oranlarda hidrofobiteye ve  $\beta$ -tabakalı yapıya sahiptirler. Ayrıca, bu gruptaki bazı bakteriyosinler 100°C'den 121°C'ye kadar olan sıcaklıklara karşı stabildirler. Antimikrobiyal aktiviteleri, membran aktif olmalarından kaynaklanmaktadır. Çok sayıda bakteriyosin içeren bu grup 3 alt gruba ayrılmaktadır (1).

**Grup IIA :** Bu gruptakiler özellikle listeria'ya karşı aktif olup, yapılarında bulunan peptid'in N-terminalinin sonunda Try-Gly-Asn-Gly-Val-Xaa-Cys amino asit dizisine sahiptirler (3).

**Grup IIB :** Bu gruptaki bakteriyosinler primer yapıları birbirinden farklı iki polipeptid içerirler. Aynı aktivite gösterebildikleri gibi, etkin bir şekilde aktif hale gelebilmeleri için her ikisinin de aktif olması gerekmektedir. İki polipeptidin aktif hale gelmesiyle, hücre membranında gözenek oluşturarak antimikrobiyal aktivite göstermektedir (6).

**Grup IIC :** Bu gruptaki bakteriyosinler, Grup II deki bakteriyosinlerin özelliklerini gösteren, Grup IIA ve IIB dışındaki diğer bakteriyosinlerdir. Bu gruptakilerin birçoğu sistein amino asit rezidüsü içermekte ve bu bakteriyosinlere thiolbiotic'ler veya cystibiotic'ler denilmektedir. Tiyo-aktif bakteriyosinler olup, aktiviteleri için indirgenmiş cystine rezidüsüne gereksinim duyarlar (1).

### GRUP III bakteriyosinler

Bu gruptaki bakteriyosinler daha büyük molekül ağırlığına (>30kDa) sahip olup, ısıya karşı duyarlı peptid zincirlerinden oluşmaktadır (1). Ancak bu gruptaki bakteriyosinler henüz yeterince karakterize edilememişlerdir.

### GRUP IV bakteriyosinler

Bu gruptaki bakteriyosinler ise büyük ve kompleks moleküller olup, aktiviteleri için karbonhidrat veya lipid bileşenlerine gereksinim duymaktadırlar. Bu bakteriyosinler hakkındaki bilgiler yetersiz olup, biyokimyasal olarak henüz yeterince karakterize edilememişlerdir. Dolayısıyla bu konuda daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır (3).

Tablo 1. Bazı bakteriyosinlerin sınıflandırılması ve etki spektrumları (4,12).

| Bakteriyosin       | Sentezleyen                       | Etki Spektrumları  |
|--------------------|-----------------------------------|--|
| <b>Grup I A</b>    |                                   |  |
| Nisin              | <i>Lactococcus lactis</i>         | <i>Lactococcus ssp.</i> , <i>Lactobacillus ssp.</i> , <i>Streptococcus ssp.</i> , <i>Micrococcus ssp.</i> , <i>Mycobacterium ssp.</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Corynebacterium ssp.</i> , <i>Clostridium ssp.</i> , <i>Bacillus ssp.</i> , <i>Listeria ssp.</i> |
| Lactocin S         | <i>Lactobacillus sake</i>         | <i>Lactobacillus ssp.</i> , <i>Lc.mesenteroides</i> , <i>P. acidilactici</i> , <i>P. pentosaceus</i>   |
| Epidermin          | <i>Staphylococcus epidermis</i>   |  |
| Gallidermin        | <i>Staphylococcus gallinarum</i>  |  |
| Lacticin 481       | <i>Lactobacillus lactis</i>       | <i>Lactococcus ssp.</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. bulgaricus</i> ,  |
| <b>Grup I B</b>    |                                   |  |
| Mersacidin         | <i>Bacillus subtilis</i>          |  |
| Cinnamycin         | <i>Streptomyces cinnamoneus</i>   |  |
| Ancovenin          | <i>Streptomyces ssp.</i>          |  |
| Duramycin          | <i>S. cinnamoneus</i>             |  |
| Actagardin         | <i>Actinoplanes ssp.</i>          |  |
| <b>Grup II A</b>   |                                   |  |
| Pediocin PA-1      | <i>Pediococcus acidilactici</i>   | <i>Lactobacillus ssp.</i> , <i>Pediococcus ssp.</i> , <i>PAC 1.0</i>   |
| Pediocin ACh       | <i>Pediococcus acidilactici H</i> | <i>L. monocytogenes</i> , <i>L. ivanovii</i> , <i>Linnocua</i>   |
| Sakacin A          | <i>L. sake</i>                    | <i>Lactobacillus ssp.</i> , <i>L.monocytogenes</i>   |
| Sakacin P          | <i>L. sake</i>                    | <i>Enterococcus ssp.</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>L. innocua</i> , <i>L. ivanovi</i>   |
| Leucocin A-UAL 87  | <i>Leuconostoc gelidum</i>        |  |
| Mesentericin Y105  | <i>Leuconostoc mesenteroides</i>  | <i>L. monocytogenes</i>  |
| Enterocin A        | <i>Enterococcus faecium</i>       |  |
| Divercin V41       | <i>Carnobacterium divergens</i>   | <i>Enterococcus ssp.</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>L. innocua</i> , <i>L. ivanovi</i>   |
| Lactococcin MMFII  | <i>L. lactis</i>                  | <i>Enterococcus ssp.</i> , <i>Lactobacillus ssp.</i> , <i>Lactococcus ssp.</i> , <i>L. ivanovi</i>   |
| <b>Grup II B</b>   |                                   |  |
| Lactococcin G      | <i>L. lactis</i>                  |  |
| Lactococcin M      | <i>L. lactis</i>                  |  |
| Lactacin F         | <i>Lactobacillus johnsonii</i>    | <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. leichmanni</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. lactis</i> , <i>L. fermentum 1750</i> , <i>E. faecalis</i>  |
| Plantaricin A      | <i>Lactobacillus plantarum</i>    | <i>L. plantarum</i> , <i>L. paramesenteroides</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>Pediococcus pentosaceus</i>  |
| Plantaricin S      | <i>L. plantarum</i>               | <i>Lactobacillus ssp.</i> , <i>Leuconostoc ssp.</i> , <i>Pediococcus ssp.</i>  |
| Plantaricin EF     | <i>L. plantarum</i>               |  |
| Plantaricin JK     | <i>L.plantarum</i>                |  |
| <b>Grup II C</b>   |                                   |  |
| Acidocin B         | <i>Lactobacillus acidophilus</i>  |  |
| Carnobacteriocin A | <i>Carnobacterium piscicola</i>   |  |
| Divergicin A       | <i>C. divergens</i>               |  |
| Enterocin P        | <i>E. faecium</i>                 |  |
| Enterocin B        | <i>E. faecium</i>                 |  |
| <b>Grup III</b>    |                                   |  |
| Helveticin J       | <i>Lactobacillus helveticus</i>   | <i>L. helveticus 1846 ve 1244</i> , <i>L. bulgaricus 1373 ve 1489</i> , <i>L. lactis 970</i> , <i>L.casei</i>  |
| Helveticin V-1829  | <i>L. helveticus</i>              |  |

### Bakteriyosinlerin Sentezlenmeleri ve Etki Mekanizmaları

Bakterilerin, bakteriyosinleri veya benzeri maddeleri neden sentezledikleri ve nasıl kullanmaya başladıkları hakkında çalışmalar yapılmasına rağmen, henüz bu durum tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Ancak bakteriyosinlerin üretim mekanizmaları, amino asit dizilişleri, etki mekanizmaları, üretici genlerin RNA dizilişleri belirlenmiş ve genel olarak bir çok ortak özelliklere sahip oldukları saptanmıştır. Bakteriyosinlerin daha çok plazmid kökenli oldukları ifade edilmesine rağmen, bir kısım bakteriyosinlerin kromozomal kökenli olduğu da ifade edilmektedir. Genel olarak bakteriyosinlerin üretimlerindeki temel prosesler aynıdır. Polipeptid dizisi RNA tarafından kodlandıktan sonra öncü protein olarak ayrılıp bir moleküler sinyalizasyona uğrayıp, çeşitli modifikasyonların ardından sistein sayısına göre son şeklini kazanmakta, daha sonra sec-dependent mekanizması yardımıyla hücre dışına salgılanmaktadır (7).

Bakteriyosinler duyarlı mikroorganizmalar üzerinde farklı etki mekanizmalarına sahiptirler. Hücrenin stoplazmik zarına bağlanarak, hücre içerisine girip, zarı gözenekler oluştururlar. Böylece düşük molekül ağırlığına sahip hücre bileşenlerinin hücre dışına sızmasına yol açarlar. Bununla birlikte, iyonların, özellikle de ATP kaybı ve hücre içi pH dengesinin korunmasında etkili olan  $K^+$  iyonunun hücre dışına sızması, hücrede enerji tüketimine neden olmaktadır (5). Hücrede meydana gelen bu değişimler, DNA ve RNA gibi hücre için hayati önemi olan makro moleküllerin degradasyonuna, bu moleküllerle birlikte protein ve peptidoglycan gibi biyolojik proseslerin inhibisyonuna yol açmaktadır (6,1).

Laktik asit bakteriyosinleri pozitif yüklü moleküller olup, stoplazmik zar üzerinde etkili olmalarında sahip oldukları hidrofobik kısımlar önemli rol oynamaktadır. Duyarlı hücre zarında bulunan negatif yüklü fosfat gruplarının etkisiyle ortaya çıkan elektrostatik etkileşim sonucu bakteriyosin hücre zarına tutunmaktadır (8,5). Böylece hidrofobik kısım zar yapısının içine girerek gözenek oluşumuna yol açmaktadır. Ancak oluşan gözenekler farklılık göstermektedir. Örneğin nisin daha çok "barrel-stave" ve "wedge" olarak isimlendirilen modellerde gözenek oluşumunu sağlamaktadır. "Barrel-stave" modelde, herbir nisin molekülü dikey bir şekilde zara bağlanarak, zarı bir iyon kanalı oluşturmaktadır. "Wedge" modelde ise, belirli sayıda nisin molekülü fosfolipidlerin baş gruplarıyla interaksyona girdikten sonra, lipid-protein gözeneği oluşmaktadır. Ancak bakteriyosinler bütün duyarlı türler üzerinde aynı etkiye sahip olmayıp, ortam pH'sı ve kritik inhibisyon konsantrasyonu gibi faktörlerden etkilenirler (9). Nisin gibi bakteriyosinlerin bir çoğu hücre zarını etkilerken spesifik reseptörlere bağlanma ihtiyacı duymadıklarından, farklı birçok bakteri türünü inhibe edebilme yeteneğine sahiptirler. Colicin'in ise 25'ten fazla çeşidi tanımlanmış olup, bunlar sitoplazmik zarı kanal oluşturabilmekte, hücresel

DNA'yı parçalayabilmekte ve protein sentezini engelleyebilmektedirler. Doğal *E. coli* popülasyonunun yaklaşık %30'unun bakteriyosin ürettiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte *E. coli* popülasyonunun yaklaşık % 70'i herhangi bir colicin'e, yaklaşık %30'u ise bütün colicin'lere karşı direnç göstermektedir (3).

Grup I bakteriyosinler "wedge" modeli, Grup II bakteriyosinler ise "barrel-stave" modeli gözenek oluşturabilirler veya peptidler zarın yüzeyine paralel tutunarak zar strüktürünün içerisine girebilirler (3). Bakteriyosinlerin, vegetatif hücrelerin yanı sıra, özellikle nisin bakteriyosin sporları üzerinde de inhibisyon etkisi bulunmaktadır. Etki mekanizması, nisin dehydrobutyrin ve dehydroalanin aminoasitlerinin zarın sülfidril gruplarıyla reaksiyona girmesi ve sporun germinasyonunun önlenmesiyle gerçekleşmektedir. Böylece, termosensitiv faza ulaştıktan sonra germinasyon durmaktadır (1). Ancak nisin endosporların germinasyonunu engellemediği ifade edilmekle birlikte, farklı konsantrasyonlarının etkili olabileceği düşünülmekte ve bu konuda yeni bilgilere ihtiyaç duyulmaktadır.

### Bakteriyosinlerin Gıdalarda Kullanımı

Bilindiği gibi gıda güvenliği açısından, patojen mikroorganizmaların gıdalarda gelişiminin önlenmesi gerekmektedir. Gıdalarda gelişen patojen mikroorganizmalar üzerinde antagonistik mikroorganizmaların ve bakteriyosin gibi metabolik ürünlerinin etkili olması nedeniyle, gıda güvenliğinde bakteriyosin kullanımının önemi oldukça artmıştır. Bakteriyosinlerin gıdalarda antimikrobiyal aktivitelerinin yanı sıra, doğal olmaları, renksiz, tatsız ve kokusuz olmaları da ürün özellikleri açısından oldukça önemlidir. Peptid veya protein yapılarında olmaları ise pankreas kaynaklı proteolitik enzimlerden, mide salgılarından etkilenebilediklerini ve insan vücudunda sindirilebileceklerini göstermektedir. Ayrıca bazı bakteriyosinlerin (Grup II) ısı stabiliteilerinin olması, yüksek sıcaklıkta işlem gören birçok gıda maddesinde kullanılabilirliğini sağlamaktadır (1,10). Hatta bazı bakteriyosinler otoklavlama sıcaklığında bile stabil kalabilmektedir. Dolayısıyla bakteriyosinlerin et ve süt ürünleri başta olmak üzere birçok gıdada kullanımı mümkün olmaktadır.

Gıdalarda bakteriyosinlerden farklı şekillerde yararlanılmaktadır. Doğrudan gıda maddesine katılabildikleri gibi, bakteriyosin sentezleyen koruyucu kültürlerin gıdaya inokulasyonu veya gıdanın koruyucu ambalaj materyali ile birlikte de kullanılabilirler. Bu amaçlarla koruyucu kültür olarak daha çok laktik asit bakterileri, bakteriyosin olarak ise, yasal kullanımına izin verilen nisin kullanılmaktadır. Nisin etki spektrumu diğer birçok bakteriyosine kıyasla daha geniş olup, asidik gıdalarda ve Gram (+) mikroorganizmalar üzerinde oldukça aktiftirler. Nisin pH 2'deki çözünürlüğü, pH 8'e kıyasla 228 kez daha fazladır (11). Dolayısıyla pH yükseldikçe çözünürlük

azalmaktadır. Nisinin koruyucu katkı maddesi olarak kullanımına ilk kez krem peynirlerinde izin verildikten sonra, günümüzde 47 ülke tarafından güvenli gıda koruyucusu olarak kabul edilerek kullanılmaktadır. Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi (US FDA) yetişkinler için günlük kabul edilebilir nisin miktarını 2.9 mg olarak belirlemiştir (12).

Nisin et ve et ürünlerinde birçok mikroorganizma üzerinde etkilidir. Bununla birlikte, en önemli özelliklerinden birisi, hastalık ve ölümlere yol açabilen *Listeria monocytogenes* 'i inhibe edebilmesidir (13). Yine nisin, et ve et ürünlerinde oldukça tehlikeli bir patojen olan *C. botulinum* üzerinde etkilidir. Nisin, antimikrobiyal olarak nitrit için belli düzeylerde alternatif oluşturabilmektedir. Ayrıca nisinin *Brochothrix thermosphacta*, *Carnobacterium divergens* ve *L. innocua*

üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla, karkas yüzeyine spreyleneceği, bu mikroorganizmaların sayısını önemli düzeyde azaltmaktadır. *Brochothrix thermosphacta* üzerinde etkili nisin seviyesinin 400 IU/ml olduğu da bildirilmektedir (14).

Süt ürünleri üzerinde yapılan çalışmalarda, nisinin özellikle eritme peynirlerinde toksin üretebilen *C. botulinum* 'u inhibe ettiği ve spor oluşumunu engellediği ifade edilmektedir. Bu ürünlerde inhibisyon etkisini gösterebilmesi için farklı seviyelerde kullanılabilceği ifade edilmekle birlikte, kullanım seviyelerinin pH, tuz ve fosfat içeriği ile proses şartlarına bağlı olarak değişebileceği de ifade edilmektedir. Nisinin yanı sıra farklı bakteriyosinlerin gıdalarda kullanımı ve sonuçlarıyla ilgili bazı bilgiler Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Bazı bakteriyosinlerin kullanıldığı gıdalar ve etkileri (9)

| Bakteriyosin   | Uygulanan gıda   | Etkileri   |
|----------------|--|--|
| Nisin A        | Yeniden şekillendirilen et ürünleri (formed meat products)   | Bakteriyel inaktivasyon  |
| Nisin A        | Ricotta peynirinde <i>L. monocytogenes</i> 'in kontrolü için kullanılmıştır  | <i>L. monocytogenes</i> 'i 8 hafta etkili bir şekilde inhibe etmiştir  |
| Pediocin AcH   | Pediocin AcH sentezleyen <i>L. plantarum</i> WHE 92, olgunlaşmanın başlangıcında Munstar peynirinin yüzeyine spreyleneceği                 | <i>L. monocytogenes</i> 'in gelişimini engellemiştir   |
| Enterocin 4    | Enterocin sentezleyen <i>E. faecalis</i> INIA4, Manchego peyniri üretiminde kullanılmıştır   | <i>L. monocytogenes</i> Ohio 'yu inhibe ederken, <i>Listeria monocytogenes</i> Scott A 'yı inhibe etmemiştir |
| Linocin M-18   | <i>B. lines</i> kırmızı peynir üretiminde starter olarak kullanılmıştır  | <i>L. ivanovi</i> ve <i>L. monocytogenes</i> 'te 2 log düşüşe neden olmuştur                                 |
| Piscicolin 126 | Jambonda <i>L. monocytogenes</i> kontrolü için kullanılmıştır  | Ticari bakteriyosinlerden daha etkili bulunmuştur  |
| Leucocin A     | <i>L. gelidium</i> UAL187 vakum paketlenmiş sığır etinde bozulma kontrolü için kullanılmıştır  | <i>L. sake</i> 'nin de etkisiyle bozulma 8 haftaya kadar geciktirilmiştir.                                   |
| Lactocin 705   | Kıyılmış sığır etinde <i>L. monocytogenes</i> ' in gelişimini önlemek için kullanılmıştır  | <i>L. monocytogenes</i> ' in kıyılmış etlerde gelişimini önlemiştir.   |
| Pediocin AcH   | Tavuk eti sosisinde <i>L. monocytogenes</i> 'i inhibe etmek için pediosin üreten <i>P. acidilactici</i> (Ped <sup>+</sup> ) kullanılmıştır | Etkili bir şekilde <i>L. monocytogenes</i> sayısını azaltmıştır.   |
| Pediocin       | Şarap ve fırıncılık ürünlerinde kullanım potansiyeli araştırılmıştır   | Bu tür ürünlerde kullanım potansiyeli olduğu belirlenmiştir  |
| Pediocin AcH   | Tavuk etine pediosin preparatı ilave edilmiştir  | 5 °C'de 28 gün <i>L. monocytogenes</i> gelişimini kontrol etmiştir   |
| Pediocin PA-1  | Fermente sosiste starter olarak <i>P. acidilactici</i> (Ped <sup>+</sup> ) kullanılmıştır  | <i>L. monocytogenes</i> 'i etkili bir şekilde kontrol etmiştir.  |
| Enterocin      | Jambon, domuz eti, tavuk göğüs eti, pate ve sosise 'te kullanılmıştır  | Çeşitli şartlar altında <i>L. monocytogenes</i> gelişimini kontrol etmiştir.                                 |

### Bakteriyosinlerin Diğer Koruyucu Maddeler ve Prosesler ile Birlikte Kullanımı

Bakteriyosinlerin etki spektrumlarının sınırlı olması nedeniyle gıdalardaki etkileri de sınırlı kalabilmektedir. Özellikle Gram (+) mikroorganizmalar üzerinde etkili olmaları nedeniyle, genellikle Gram (-) mikroorganizmalara karşı fazla etkili olamamaktadırlar. Dolayısıyla Gram (-) olan patojen mikroorganizmaların da olduğu düşünüldüğünde, sadece nisin kullanımıyla gıda güvenliğinin sağlanamayacağı açıktır. Bu nedenle, nisinle birlikte diğer gıda koruyucu katkıların veya proseslerin kullanılması gerekmektedir. Gram (-) bakterilerin dış zarlarının bütünlüğü bozulduğunda bakteriyosinlere karşı oldukça hassasiyet göstermektedirler. Bu nedenle nisinle beraber hücre zarını bozabilecek trisodyum fosfat veya EDTA gibi çelatlardan kullanılması inhibisyon etkisi yapabileceği bildirilmektedir (15). Örneğin EDTA, Gram (-) mikroorganizmanın lipopolisakarit kısmında  $Mg^{+2}$  'u bağlayarak dış zarın yapısını bozup, nisinin sitoplazmik zara ulaşmasını sağlamaktadır (16). Nisinle birlikte sodyum klorid (13), sarımsak ekstraktı (17), potasyum sorbat (18), bazı organik asitler (18), sodyum sitrat ve sodyum laktat (19), kitosan ve türevleri (20) gibi birçok katkının kullanımıyla nisinin antimikrobiyal etkisinin arttığı tespit edilmiştir.

Nisinin etkisini artırmak için koruyucu katkıların yanısıra yüksek basınç ve yüksek voltaj elektrik alan pulslarının (PEF) uygulanması önemli katkı sağlamıştır. Örneğin 100 IU/ml nisinle birlikte 155-400 MPa basınç uygulamasının *Escherichia coli*, *Salmonella enteridis*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Staphylococcus aureus* 'u inaktive ettiği saptanmıştır (21). Yine 10000, 15000 AU/ml lacticin 3147 ile birlikte 150-275 MPa basınç uygulamasının süt ve peyniraltı suyunda *Staphylococcus aureus* ve *Listeria innocua* 'nın inaktivasyonunu artırdığı belirlenmiştir (22). Nisinle PEF'in etkisinin araştırıldığı çalışmalarda ise, 10, 100 IU/ml nisinle birlikte farklı seviyelerde (30, 40, 50 kV/cm) PEF uygulamasının, yağsız süt ve sıvı yumurtada *L. innocua* 'nın inaktivasyonunu artırdığı tespit edilmiştir (23,24).

Nisinin gıdaların korunmasında uygulanan kullanım şekillerinden birisi de gıda yüzeyine uygulanan filmlerde kullanımıdır. Bu tür antimikrobiyal biyofilmler, temas ettikleri gıda yüzeyinde mikrobiyal gelişimi etkileyebilmektedir. Nisin, kullanıldığı biyofilmlerden gıda yüzeyine belli oranlarda geçerek, yüzeyde mikrobiyal gelişimi engelleyebilmektedir (25). Nisin, protein yapısındaki biyofilmlerin polimer yapısına doğrudan katılarak veya polietilen materyallerin polimer yapısının yüzeyine adsorblanarak kullanılabilirdiği gibi, farklı şekillerde de kullanılabilir.

### SONUÇ

Bakteriyosinlerin gıdalarda kullanım potansiyeli her geçen gün artmaktadır. Ancak, gıdalarda kullanım amacıyla henüz yeterince karakterize edilememişlerdir.

Dolayısıyla gıdalarda güvenli olarak kabul edilen ve sınırlı da olsa kullanımına izin verilen nisinin dışında diğer bakteriyosinlerin kullanımına izin verilmemektedir. Patojen mikroorganizmalar üzerinde önemli derecede etkili olmaları nedeniyle, bakteriyosinler üzerindeki çalışmalar oldukça önem kazanmıştır. Ayrıca bazı koruyucu madde ve proseslerle birlikte kullanımlarının, gıdaların mikrobiyolojik kalitesi üzerinde daha fazla etkili olması nedeniyle bu konuda daha fazla araştırmaya gereksinim duyulmaktadır.

### KAYNAKLAR

- 1. De Martinis E C P, Alves V F, Franco B D G M (2002):** Fundamentals and perspectives for the use of bacteriocins produced by lactic acid bacteria in meat products. *Food Reviews International*, 18(2-3): 191-208.
- 2. Riley M A (1998):** Molecular mechanisms of bacteriocin evolution. *Annu. Rev. Genet.*, 32: 255-278.
- 3. Chen H, Hoover D G (2003):** Bacteriocins and their food applications. *Comprehensive Reviews In Food Science and Food Safety*, 2: 82-100.
- 4. Yıldırım Z, Yıldırım M (2000):** Laktik asit bakterileri tarafından üretilen bakteriyosinlerin genel karakteristikleri. *Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri*, VI. Süt ve Süt Ürünleri Tebliğler Kitabı, 247-253.
- 5. Twomey D, Ross R P, Ryan M, Meany B, Hill C (2002):** Lantibiotics produced by actic acid bacteria: structure, function and application. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82: 165-185.
- 6. Héchard Y, Sahl H-G (2002):** Mode of action of modified and unmodified bacteriocins from Gram-positive bacteria. *Biochimie*, 84: 545-557.
- 7. Kuleaşan H, Çakmakçı M L (2003):** Bakteriyosinlerin özellikleri, gıda mikrobiyolojisinde kullanım alanları ve ileri dönemlerdeki kullanım potansiyelleri. *Gıda*, 28(2): 123-129.
- 8. Nes I F, Holo H (2000):** Class II Antimicrobial Peptides from Lactic Acid Bacteria. *Biopolymers (Peptide Science)*, 55:50-61.
- 9. 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: 1-20.
- 10. Delves-Broughton J, Blackburn J, Evans R J, Hugenoltz J (1996):** Applications of the Bacteriocin, Nisin. *Antonie van Leeuwenhoek*, 69: 193-201.
- 11. Liu W, Hansen J N (1990):** Some chemical and physical properties of nisin, a small-protein antibiotic produced by *Lactococcus lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56: 2551-2558.
- 12. Gürsel A (1999):** Laktik ve propiyonik asit bakterileri tarafından üretilen bakteriyosinler ve süt teknolojisi alanındaki uygulamaları. *Gıda*, 24(6): 399-410.
- 13. Pawar D D, Malik S V S, Bhilegaonkar K N, Barbudde S B (2000):** Effect of nisin and its combination with sodium chloride on the survival of *Listeria monocytogenes* added to raw buffalo meat mince. *Meat Science*, 56: 215-219.

- 14. Cutter C N, Siragusa G R (1994):** Decontamination of beef carcass tissue with nisin using a pilot scale model carcass washer. *Food Microbiol* 11: 481-489.
- 15. Phillips C A, Duggan J (2001):** The effect of EDTA and trisodium phosphate, alone and in combination with nisin, on the growth of *Arcobacter butzleri* in culture. *Food Microbiology*, 18:547-554.
- 16. Abee T, Krockel L, Hill C (1995):** Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. *Int Journal Food Microbiology*, 28:169-85.
- 17. Singh B, Falahee M B, Adams M R (2001):** Synergistic inhibition of *Listeria monocytogenes* by nisin and garlic extract. *Food Microbiology*, 18: 133-139.
- 18. Fang T J, Tsai H-C (2003):** Growth patterns of *Escherichia coli* O 157:H 7 in ground beef treated with nisin, chelators, organic acids and their combinations immobilized in calcium alginate gels. *Food Microbiology*, 20: 243-253.
- 19. Long C, Phillips C A (2003):** The effect of sodium citrate, sodium lactate and nisin on the survival of *Arcobacter butzleri* NCTC 12481 on chicken. *Food Microbiology*, 20: 495-502.
- 20. Lee C, Park H, Lee D (2004).** Influence of antimicrobial packaging on kinetics of spoilage microbial growth in milk and orange juice. *Journal of Food Engineering* 65: 527-531.
- 21. Masschalck B, Houdt R V, Michiels C W (2001):** High pressure increases bactericidal activity and spectrum of lactoferrin, lactoferricin and nisin. *Int Journal Food Microbiol* 64:325-32.
- 22. Morgan S M, Ross R P, Beresford T, Hill C (2000):** Combination of hydrostatic pressure and lacticin 3147 causes increased killing of *Staphylococcus* and *Listeria*. *Journal of Applied Microbiol*, 88:414-20.
- 23. Calderón-Miranda, M L, Barbosa-Cánovas G V, Swanson B G (1999):** Inactivation of *Listeria innocua* in liquid whole egg by pulsed electric fields and nisin, *Int Journal of Food Microbiology*, 51:7-17.
- 24. Calderón-Miranda M L, Barbosa-Cánovas G V, Swanson B G (1999):** Inactivation of *Listeria innocua* in skim milk by pulsed electric fields and nisin. *Int J of Food Microbiol*, 51:19-30.
- 25. Kumar C G, Anand S K (1998):** Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *International Journal of Food Microbiology* 42: 9-2.