



Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Tarım Bilimleri Dergisi
(YYU Journal of Agricultural Science)



<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>

Derleme Makalesi (Review Article)

Su Ürünlerinde Nisin Uygulamaları**

Yılmaz UÇAR*^{1,2}

¹Ordu Üniversitesi, Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Bölümü, 52400, Ordu, Türkiye

²Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, 01330, Adana, Türkiye

^{1,2}<https://orcid.org/0000-0002-6770-6652>

*Sorumlu yazar e-posta: yucar@cu.edu.tr; ucarylmz@gmail.com

Makale Bilgileri

Geliş: 25.04.2020

Kabul: 07.08.2020

Online Yayınlanma 30.09.2020

DOI: 10.29133/yyutbd.726727

Anahtar kelimeler

Antimikrobiyal,
Nisin,
Su ürünleri.

Öz: Gıdaların muhafazası sadece balık etinde değil tüm gıdalar için insanlık tarihi boyunca önemli bir sorun olarak görülmüştür. Bu durum gıdaların uzun süre tüketilebilir düzeylerde kalabilmesi amacıyla dünyanın farklı bölgelerinde birçok geleneksel muhafaza metotlarının geliştirilmesine yol açmıştır. Günümüzde ise iletişim teknolojilerinin gelişmesi ve kentleşmenin etkisiyle gıda endüstrisi her geçen gün daha da büyümektedir. Gıda endüstrisindeki bu büyümeye rağmen, mikroorganizma etkisiyle oluşan bozulmalar ve gıda zehirlenmeleri gözlenebilmektedir. Sentetik koruyucuların gıda ve insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri, antibiyotige dirençli suşları geliştirmesi ve tüketicilerin sentetik koruyuculara karşı olumsuz algıları nedeniyle daha "doğal" ve "minimum düzeyde işlenmiş" gıdalara yönelik bir talep yaratmış ve doğal antimikrobiyal ajanlara ilgi artmıştır. Son yıllarda pek çok araştırmacı gıda üretimi ile ilgili patojenleri engellemek için doğal bir bakteriyosin olan nisin uygulamaktadır. Nisin, penisilinden önce keşfedilen ve çok çeşitli gram-pozitif bakterilere (vejetatif hücreler ve sporlar) karşı antimikrobiyal aktivite gösteren bir ajandır. Ayrıca diğer koruyucu maddelerle birlikte kullanıldığında bazı gram-negatif bakterilere karşı da yararlı olabilmektedir. Nisin, 50'ye yakın ülkede ve Gıda ve Tarım Örgütü/Dünya Sağlık Örgütü ve Avrupa Birliği tarafından onaylanmış, genellikle güvenli olarak kabul edilen (GRAS; Generally Recognized As Safe) ticari uygulamalarda geniş çapta kullanılmaktadır. Nisin, Avrupa Gıda Katkı Maddesi listesinde E234 kodu ile biyoprezervatif bileşen olarak yer almıştır. Bu derlemede doğal bir koruyucu olan nisin su ürünleri sektöründe kullanım olanakları değerlendirilmiştir.

Nisin Applications in Seafood

Article Info

Received: 25.04.2020

Accepted: 07.08.2020

Online Published 30.09.2020

DOI: 10.29133/yyutbd.726727

Keywords

Antimicrobial,
Nisin,
Seafood.

Abstract: Food preservation has been seen as an important problem not only in seafood but also all foods throughout human history. This situation has led to the development of many traditional preservation methods in different parts of the world to keep the food at levels that can be consumed for a long time. Today, with the development of communication technologies and urbanization, the food industry is growing day by day. Despite this growth in the food industry, deterioration and food poisoning caused by the microorganism effect can be observed. Due to the negative effects of synthetic preservatives on food and human health, the development of antibiotic-resistant strains, and the negative perceptions of consumers towards synthetic preservatives, they created a demand for more "natural" and "minimally processed" foods, and interest in natural antimicrobial agents increased. In recent years, many researchers have

been applying nisin, a natural bacteriocin, to prevent pathogens associated with food production. Nisin is an agent discovered before penicillin and shows antimicrobial activity against a wide range of gram-positive bacteria (vegetative cells and spores). It can also be useful against some gram-negative bacteria when used with other preservatives. Nisin is widely used in nearly 50 countries and commercial applications that are "generally recognized as safe (GRAS)" approved by the Food and Agriculture Organization/World Health Organization and the European Union. Nisin is listed as a bio preservative component with the E234 code. In this review, the possibilities of nisin using as a natural preservative are evaluated in the seafood sector.

1. Giriş

İşlenmiş su ürünlerinin mikrobiyal florası pek çok araştırmacı tarafından incelenmiştir (Gram ve Dalgaard, 2002; Gram ve Huss, 2000; Uçar ve ark., 2020). Farklı mikrobiyal gruplar muhafaza koşullarına bağlı olarak, su ürünleri depolanması sırasında seçilebilir. Düşük miktarda NaCl ekleme, hafif asitleştirme ve vakum pakette soğuk depolamada (soğuk-tütsülenmiş balık gibi) muhafaza edilen balık ürünlerinde baskın mikroflora, gram-negatif bakterilerle birlikte laktik asit bakterileri (LAB; temel olarak *Lactobacillus* ve *Carnobacterium*) tarafından oluşturulur (*Photobacterium phosphoreum* ve psikrotrofik *Enterobacteriaceae*).

Su ürünleri endüstrisindeki temel sorunlardan birisi de *L. monocytogenes* kontaminasyonudur (Rocourt ve ark., 2000; Rørvik, 2000). Yüksek riskli su ürünleri arasında tütsülenmiş balık (sıcak ve soğuk tütsüleme) gibi hafif korunmuş ürünler (< % 6, su, tuz, pH 5), hafif tuzlanmış (havyar, deniz suyu ile pişirilmiş karides, soslanmış ringa), ve marine edilmiş ürünler yer almaktadır (Huss ve ark., 2000). Bunların çoğu yüksek oranda işlenmiş ve buzdolabı sıcaklıklarında uzatılmış bir raf ömrüne sahiptir. Ancak bu ürünler *L. monocytogenes*'in gelişimini destekleyebilir ve daha fazla pişirmeden tüketilir (Huss ve ark., 2000). Füme somon ve füme gökkuşuğu alabalığı listeriosis için riskli ürün olarak kabul edilmektedir (Rocourt ve ark., 2000; Rørvik, 2000). Kontamine olmuş soğuk tütsülenmiş gökkuşuğu alabalığının yanı sıra soğuk ve sıcak füme gökkuşuğu alabalığı ürünlerinin de listeriyoz için kontamine kaynağı olduğu düşünülmektedir (Miettinen ve ark., 1999). Füme midye ve çiğ istiridye ile ilişkili listeriosis salgınları da bildirilmiştir (Brett ve ark., 1998). Sonuç olarak, bu alandaki bakteriyosinlerin uygulanması üzerine yapılan araştırmaların çoğu, *L. monocytogenes*'in önlenmesi ve kontrolüne odaklanmıştır.

Isıl işlemlerin su ürünlerine uygulanması, doku, renk ve lezzeti ciddi şekilde etkileyebileceğinden, bazı sınırlamalara sahiptir. Bu nedenle, su ürünlerine uygulanan ısıl işlemlerin yoğunluğunu azaltmak için bakteriyosinlerin kullanımı incelenmiştir. Al-Holy ve ark., (2004), nisin solüsyonuna daldırılarak işlemde geçirilen havyar üzerinde yeni geliştirilen bir radyofrekans (RF) ısıtma yöntemini test etmişlerdir. Nisin ile birlikte RF ısıtma yöntemi, *L. innocua* ve toplam mezofilik mikroorganizmaları inaktive etmek için sinerjistik olarak kullanılmıştır. 65 °C'de RF-nisin muamelesinden sonra ürünlerde *L. innocua* gözlenmemiştir. RF ile muamele edilen havyar ürünlerinin görsel kalitesi, nisinli veya nisinsiz, kontrol grubu ile karşılaştırılabilir nitelikte olmuştur (Al-Holy ve ark., 2004). Nisin' in *L. monocytogenes* inhibisyonu ve mersin balığı havyarlarında toplam mezofilik bakteriler üzerindeki ısı veya antimikrobiyal kimyasal uygulamalar (laktik asit, kloröz asit, sodyum hipoklorit gibi) ile birlikte kullanımının etkisi Al-Holy ve ark., (2005) tarafından rapor edilmiştir. Nisinin laktik asit ve kloröz asit kombinasyonlarında sinerjistik etki gözlenmemiştir, ancak nisin ile hafif ısıl işlem uygulamalarının birlikte kullanımı sinerjik etkileri ile *L. monocytogenes* ve toplam mezofil sayısını azaltmıştır. Nisin ve ılımlı ısıtmanın kombine etkisi de "soğuk-paket" ıstakoz teneke kutularında *L. monocytogenes*'in engellenmesinde incelenmiştir (Budu-Amoako ve ark., 1999). Ticari süreçle karşılaştırıldığında, ısı ve nisin kombine uygulaması, ürün kaybında önemli bir azalmaya neden olmuştur ve ıstakoz endüstrisindeki işlem maliyetlerini düşürmüştür.

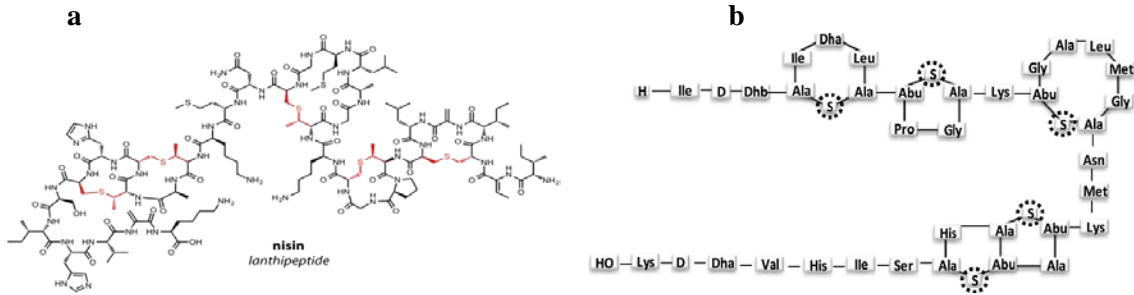
Elotmani ve ark., (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, nisin ve laktoperoksidaz (LP) sisteminin sardalya florasına karşı antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Nisin ve LP sisteminin kombinasyonu, *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* ve *Vibrio alginolyticus* haricinde tüm suşlara karşı tek başına kullanılan LP sisteminden ve tek başına kullanılan nisinden önemli derecede daha etkili olarak gözlenmiştir. Benzer şekilde, Nisaplin, headspace CO₂ seviyeleri ve EDTA'nın

3°C'de depolanan suda çözünebilir bir balık kası ekstresinde *Pseudomonas aeruginosa* ve *E. faecium*'un hayatta kalması üzerindeki ortak etkisi üzerine yapılan bir çalışmada, ikincisinin hızla inaktive olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, *P. aeruginosa* muameleye çok daha az duyarlı olmuştur ve Nisaplin, istenmeyen etkileşime neden olduğu için uygun olmamıştır (Cabo ve ark., 2001).

1.1. Nisin ve antimikrobiyal etki mekanizması

Nisin, çeşitli gram-pozitif bakterileri inhibe eden nispeten geniş bir hedef spektruma sahip olan çeşitli *Lactococcus lactis* suşları tarafından üretilen bir katyonik, amfililik peptittir. Nisin'in antimikrobiyal özelliği ilk olarak 1928 yılında, bir süt starter kültür inhibisyonununun fajlardan kaynaklanmadığı, ancak *L. lactis* (eskiden laktik streptokok ve grup N streptokoklar olarak adlandırılan) denilen bir suşun neden olduğu bildirilmiştir (Rogers, 1928). Bu inhibisyona neden olan bileşik daha sonra incelenmiştir ve "N Grubu Streptokok İnhibitör Maddesi" olarak adlandırılan nisin ismini vermiştir (Mattick ve Hirsch, 1947). Süt ürünlerinin korunmasına yönelik nisin uygulaması, 1951'de İsviçre tipi peynirde şişmeyi engellemek için önerilmiştir (Hirsch ve ark., 1951). Bu olaydan kısa bir süre sonra, ilk ticari girişim 1953 yılında Aplin ve Barret tarafından yapılmıştır. Nisinin bir gıda koruyucu olarak kullanılması 1969 yılında Birleşmiş Milletler'in Gıda ve Tarım Örgütü ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından, 1983 yılında Avrupa Birliği (AB) tarafından (E234) onaylanmıştır ve 1988 yılında Amerika Gıda ve İlaç idaresi (FDA) tarafından "Genellikle Güvenilir Kabul Edilen (GRAS)" ürünler listesine dahil edilmiştir.

Nisin, sınıf I bakteriyosinler olarak adlandırılan lantiyonin içeren bakteriyosinler grubuna aittir. Posttranslasyonel modifikasyonlarla oluşturulan sıra dışı lantionin kalıntılarını içeren bakteriyosinlerin üretimi, laktik asit bakterileri arasında nadir olarak gözlenmemekle beraber lineer, globüler ve iki peptid varyantları dahi karakterize edilmiştir (Şekil 1). Bu peptitlerin birçoğu, genel etki mekanizmasına atfedilen oldukça geniş aralıkta gram-pozitif bakterilere karşı düşük konsantrasyonlarda dahi etkilidir: nisin ve diğer lantibiyotikler hedef bakterilerin hücre kılıfında bulunan bakteriyel hücre duvarı yapımında aracı molekül görevi gören lipid II kenetlenme molekülüne yüksek afinite ile bağlanır (Islam ve ark., 2012). Nisin, hücre duvarı oluşumunu inhibe ederek ve ayrıca membran gözenekleri oluşturarak antibakteriyel etkisini gösteren lineer bir lantibiyotiktir; ayrıca sporlara karşı da aktiftir. Nisinin çeşitli varyantları doğal olarak oluşur. Günümüzde hala ticari ürünler olarak kullanılan nisin A ve nisin Z, tek bir amino asitte farklılık içerirler. Bu da molekülün yük ve çözünürlüğünde fark yaratır.



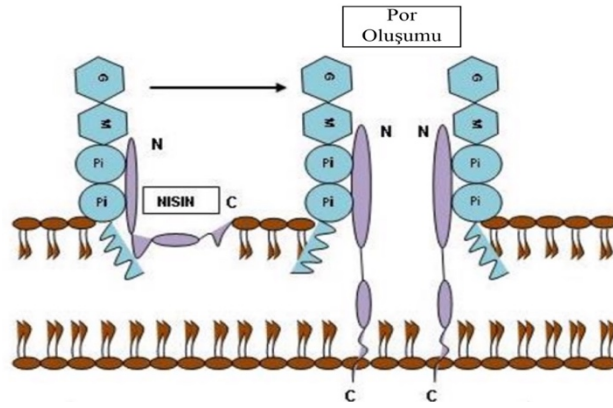
(Dha = dehidroalanin, Dhb = dehidrobutirin, Abu = α -aminobutirik asit, Ala-S-Ala = mezo-lantionin, Abu-S-Ala= threo-metillantionin. ve diğer L-amino asitler (İzolösin, Alanin, Lösin, Prolin, Glisin, Lizin, Metiyonin, Asparagin, Serin, Histidin, Valin)

Şekil 1. Nisin molekülünün kimyasal yapısı (a) ve amino asit dizilimi (b) (Anonim, 2020).

Lipid II molekülü, lantibiyotiklerin gram-pozitif bakterilere karşı geniş hedef spektrumunu sağlayan temel ve yüksek oranda korunmuş bir moleküldür. Bununla birlikte, gram-negatif bakterilerde lipid II, dış membranın altında korunur. Bu nedenle gram-negatif organizmalar, dış zarlarının parçalandığı durumlarda lantibiyotiklere karşı duyarlı hale gelmektedirler. Gram-pozitif

bakteriler olan üretici organizmalar, biyosentez genleri ile bağlantılı olarak kodlanmış özel bir bağışıklık sistemi tarafından korunurlar (Alkhatib ve ark., 2012).

Bakteriyosinler, çok çeşitli kimyasal yapılara bağlı olarak canlı hücrenin transkripsiyonu, translasyonu, replikasyonu ve hücre duvarı biyosentezi gibi farklı temel fonksiyonlarını etkiler. Ancak pek çoğu, membranda kanal veya por oluşturarak zayıflamış hücrelerin enerji potansiyelini yok ederler (Ganzle, 2004). En iyi tanımlanmış etki mekanizması por oluşumudur. Hedef hücrenin membranındaki moleküler reseptörlerin varlığı, bazı bakteriyosinler için nispeten küçük etki spektrumu ile olabileceğine dair öneriler olmuştur da bu uygulamada gösterilememiştir (Van ve Stiles, 2000). Nisinin antimikrobiyal etkinliği de hedef hücrenin sitoplazma membranında por oluşumunu teşvik etmek (Şekil 2) ve murein sentezini engellemek suretiyle meydana gelmektedir (Ruhr ve Sahl, 1985). Ortama nisin eklenmesi durumunda hassas hücrelerde membran potansiyeli düşmekte ve bu durum proton motivasyon gücünün kaybına neden olmaktadır (Garcerá ve ark., 1993). Nisin varlığında oluşan porlarla hücreler için gerekli olan amino asitler ile monovalent katyonların ve ATP'nin kaybı meydana gelmektedir (Ruhr ve Sahl, 1985). Sonuç olarak zayıflamış hücredeki tüm biyokimyasal reaksiyonlar durmaktadır.



Şekil 2. Nisin tarafından oluşturulan por mekanizması (Ramu ve ark., 2015).

Antimikrobiyal bakteriyosinlerin uzun süreli kullanımıyla ilgili genel kaygı, hedef mikroorganizmalarda potansiyel direnç gelişmesidir. Hücre kılıfında çeşitli modifikasyonlara bağlı olarak gelişen nisin duyarlılığında orta derecede bir azalma, laboratuvar kökenli mutantlar için tanımlanmıştır (Kaur ve ark., 2011). Yaygın bir mekanizma, penisilin bağlayan bir proteinin gelişmiş ifadesini içermiştir (Gravesen ve ark., 2001), ki buda nisin'in lipit II'ye olan erişilebilirliğini ve afinitesini azaltabilir. Bununla birlikte, muhtemelen kenetlenme molekülünün tabiatından dolayı, nisine karşı yüksek seviyeli veya tam bir direnç gözlenmemiştir. Bağışıklık sisteminin üreticiden hedef organizmalara aktarılması da benzer şekilde rapor edilmemiştir (Gravesen ve ark., 2001).

Nisinin test edilmiş uygulamaları oldukça fazladır. Başlangıçta, nisin, ısıya dirençli sporlar ile işlenmiş peynirlerin bozulmasını önlemek için ısıl işlem ile birlikte kullanılmıştır. O zamandan beri, süt ürünleri ve işlenmiş et ve sebzeler de dahil olmak üzere çeşitli gıda türlerinde raf ömrü ve güvenlik amaçları için nisinin etkin bir şekilde kullanımı ispatlanmıştır (Galvez ve ark., 2008; Settanni ve Corsetti, 2008). Nisin, ısıl işlem uygulanmış düşük pH ürünlerinde özellikle etkili olmuştur.

Dikkat edilmesi gereken teknik sınırlamalar, nisin molekülünün özellikleri ve aynı zamanda etki mekanizmasıyla ilişkilidir. Nisin, peptidolitik enzimler (örneğin çiğ et) tarafından ayrışmaya karşı hassastır ve gıda matrislerinde (örneğin yağ fazında) ayrı tutulabilir. Ek olarak, nisin düşük pH'ta nispeten ısıya dayanıklıdır, ancak nötr veya daha yüksek pH'ta ısıya dayanıklı değildir. Ayrıca, fermente ürünlerde kullanıldığında, nisin gram pozitif starter kültürlerini inhibe etmektedir.

Diğer antimikrobiyaller gibi nisinin de etkinliği ve uygulama aralığı, çok faktörlü bir sistemde kullanımla genişletilebilir. Nisin, peptidolitik enzimlerden korunabilir veya lipozomlara (Malheiros ve ark., 2010) dahil edilerek ya da yenilebilir kaplamalara veya filmlere dahil edilerek ayrı tutulabilir (Campos ve ark., 2011). Nisinin etkinliği ve hedef aralığı, bitki ekstraktları veya esansiyel yağlarla

veya yüksek hidrostatik basınç gibi fiziksel uygulamalarla kombinasyon halinde arttırılabilir (Hereu ve ark., 2012).

Nisin, bilimsel literatürde bahsedilen ilk lantibiyotiktir (Class I-Bakteriyosinler) ve *Lactococcus lactis*' in belirli suşları tarafından üretilir (Murugesu ve ark., 2003). Nisin, 3354 moleküler ağırlığa sahiptir, 34 amino asitten oluşur, bakterisidal etki gösterir ve hayvanlara ve insanlara toksik olmadığı söylenir (Hurst, 1983). Rogers ve Whittier, ilk kez 1928'de nisinin etkisini gözlemlemiş ve 1944'te ayrı bir antimikrobiyal madde olarak çalışılmıştır (Mattick ve Hirsch, 1947). Nisin, bazı *Lactococcus lactis* suşları tarafından üretilen en iyi çalışılmış bakteriyosindir ve 50'den fazla ülkede hali hazırda gıda muhafazası için kullanılmaktadır. İlgili çalışma, geleneksel tahıl bazlı fermente gıda olan bozadan (Türkiye) izole edilen nisin Z üreten *L. lactis* suşunun karakterizasyonunu açıklamaktadır. Bu çalışmada, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* GYL32 suşundan elde edilen bakteriyosin sadece ilgili suşları değil aynı zamanda *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus* gibi gram pozitif bakterileri de inhibe etmiştir. Proteinaz K ve α -kimotripsin ile muamele, bu antimikrobiyal maddeyi inaktive eder. 100 °C'de 20 dakika ısıya dayanıklıdır. Farklı pH, enzim ve ısı işlemlerde GYL32 tarafından üretilen bakteriyosinin nisin Z olduğu sonucuna varılmıştır. Sekans analizi sonucu, bunun nisin Z olduğu ve genetik determinantlarının genomik DNA üzerinde kodlandığını göstermiştir. Nisin Z'nin moleküler ağırlığı Tricine-SDS-PAGE analizi ile 6.700 Da olarak belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları ile nisin Z üretici *L. lactis* subsp. *lactis* GYL32 suşu fermente ürünlerin güvenliğini arttırmada başlangıç kültürü olarak kullanılabilir (Gözde ve Yasin, 2012).

1.2. Nisinin güvenilirliği

Gram-pozitif bakterilerin çoğu, nisine (Class I-Bakteriyosin) özellikle duyarlıdır, fakat gram-negatif bakteriler, maya veya küfler üzerinde çok az veya hiç etkisi yoktur (De Vuyst ve Vandamme, 1994). 1969 yılında, FAO/WHO uzman komitesi tarafından nisinin gıdalar için güvenli ve doğal gıda katkı maddesi olduğu belirtilmiştir (FAO/WHO, 1969). Bunun üzerinden yaklaşık 15 yıl sonra nisin yaklaşık 39 ülkede ticari olarak kullanılmaya başlanmıştır (Hurst, 1983). 1983'te EEC gıda katkı listesine (EEC, 1983) dahil edildikten sonra E234 kodunu almıştır. Nisin, ABD'de 1988'de (FDA, 1988) sertifikalanmış ve 2001 yılında Gıda ve İlaç İdaresi tarafından (FDA, 2001) GRAS (Genel Olarak Güvenilir) statüsü almıştır. 1996 yılına kadar Avrupa, Çin ve ABD dahil üzere 50'den fazla ülkede gıda katkı maddesi olarak kullanımına izin verilmiştir (Delves-Broughton ve ark., 1996). Potansiyel uygulaması ilk olarak 1981'de gıda muhafazası için gösterilmiş ve 1990'dan beri kullanım alanı genişletilmiştir (Delves-Broughton, 1990). Nisin konsantresi Alpin ve Barrett tarafından 'Nisaplin' olarak ticarileştirilmiştir ve şu anda süt ürünleri, kurutulmuş et, konserve gıda ve diğer fermantasyon sanayi bölümlerinde koruyucu olarak kullanılmaktadır. Nisin, ilk olarak 1928 yılında, süt depolanmasının, inhibitör üretmek için kirletici organizmaların büyümesini desteklediği, peynir yapımında karşılaşılan zorlukların bir sonucu olarak keşfedilmiştir (Hirsch ve ark., 1951). Kısmen saflaştırılmış bir nisin formu ticari olarak üretilmiştir (Twomey ve ark., 2002) ve satılabilir bir bakteriyosin içeren fermente edilmiş toz bir gıda katkı maddesi olarak mevcuttur (Rodríguez ve ark., 1999).

1.3. Nisinin Antioksidan Etkisi

Oksidasyon, biyolojik süreçlerde ihtiyaç duyulan enerji üretiminde birçok canlı organizma için gereklidir. Çeşitli sentetik ve doğal antioksidanlar bildirilmiştir; fakat sentetik antioksidanların sağlık üzerindeki güvenlik ve uzun vadeli etkileri hakkında şüpheler vardır. Doğal kaynaklardan gelen antioksidanlar daha fazla arzu edilir. Laktik asit bakterilerinin tüketilmesinin güvenliğini kanıtlayan uzun tüketim geçmişinin yanı sıra laktik kültürlerin, süt ve diğer gıda ürünlerinin üretiminde kullanım için bu mikroorganizmaların kullanımını cazip hale getiren sağlığı teşvik edici özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (Fernandes ve Shahani, 1989). Laktik asit bakterilerinin insan sağlığını geliştirmedeki rolüne olan ilgi, en azından Metchnikoff'un laktobasil ile mayalanmış süt tüketiminin yaşam süresini uzatacağını önerdiği 1908'e kadar uzanmaktadır (Metchnikoff, 1908). Eğer bu doğruysa, uzun yaşam ömrü, kısmen laktik asit bakterilerinin antioksidatif yeteneğine bağlı olabilir. Bununla birlikte, günümüzde mevcut olan laktik kültürlerin antioksidatif yeteneği hakkında fazla veri yoktur. Nisinin

antioksidan etkisi ile ilgili literatürde çok fazla çalışma mevcut değildir. Fakat yapılmış olan çalışmalar aşağıda verilmiştir.

Lactococcus lactis, nisin Z ve nisin A olmak üzere iki tip bakteriyosin üretir. Bu bakteriyosinlerin soğukta depolanmış balıklarda *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas* sp. dahil olmak üzere yaygın olarak bulunan bakteriler üzerinde inhibitör etkileri vardır. Soğutulmuş gıdalarda, nisin Z ve nisin A, antimikrobiyal etkilerinin artırılması için, sodyum propionat, sodyum sitrat, sodyum benzoat gibi organik asitlerin bir kombinasyonu ile kullanılır (Sallam, 2007). Sodyum asetat ve nisin gibi antimikrobiyal ajanların, depolama koşullarında mikrobiyal büyümenin önlenmesinde ve gıda kalitesinin iyileştirilmesinde etkili oldukları bulunmuştur. Sallam (2007) sonuçlarına göre sodyum asetat, sodyum laktat ve sodyum sitratın nisin Z ile kullanılması, soğukta depolanan dilimlenmiş somondaki antimikrobiyal ve antioksidan kaliteyi artırmıştır. Ayrıca Ghomi ve ark., (2011), % 0.2 nisin ile % 3 sodyum asetatın birlikte kullanımının buzdolabı koşullarında muhafaza edilen ot sazanı (*Ctenopharyngodon idella*) fileto dilimlerinin ürün kalitesini artırdığı en iyi koşul olduğunu rapor etmişlerdir.

Mirshakari ve ark., (2016)'nın yaptığı çalışmada 4 °C' de depolanan vakum paketlenmiş *Rutilus frisii* filetolarında nisin Z (% 0.02) ve sodyum benzoatın (% 1.5 ve % 2.5) antimikrobiyal ve antioksidan etkilerini değerlendirmek amacıyla filetoların 0, 4, 8, 12 ve 16. günlerde mikrobiyal [aerobik canlı sayımları (APC), psikrotrofik sayımlar (PTC) ve laktik asit bakterileri] ve kimyasal [peroksit değeri (PV) ve toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N)] değişimlerini belirlemişlerdir. Sonuçlara göre kontrol örnekleri (önceden soğutulmuş saf suya daldırılmış örnek) PV ve TVB-N açısından 12. günde red edilirken muamele örnekleri 16 günlük bir raf ömrüne sahip olmuştur. Mikrobiyolojik analizler, kontrol grubunda depolamanın 16. gününde APC ve PTC bakteri gruplarını standartlardan daha yüksek içerdiğini, muamele örneklerinin ise kabul edilebilir aralıkta olduğunu göstermiştir. Laktik asit bakterileri açısından 16 gün sonra bile tüm örnekler kabul edilebilir aralıkta olmuştur. Kimyasal ve mikrobiyolojik sonuçlar, nisin Z ve sodyum benzoatın kombine kullanılmasının vakumla paketlenmiş *R. frisii*'nin raf ömrünü uzatabileceğini göstermiştir.

Nisinin antioksidan özelliği ile ilgili Behnama ve ark., (2015)'nin vakum paketlenmiş gökkuşığı alabalıklarının 16 günlük buzdolabı (4 °C) depolaması ile ilgili yaptığı çalışmada nisin ile muamele edilen gökkuşığı alabalıklarında depolama süresi boyunca daha düşük lipid oksidasyonu ($p<0,05$) gözlemlendiğini ve bu durumun nisinin antioksidatif aktivitesinden kaynaklanan reaktif oksijen türlerini temizlemesi veya metal iyonu şelatlanmasından kaynaklandığına atfedildiğini bildirmiştir (Lin ve Yen, 1999). Ayrıca, muamele grubunda gözledikleri daha yüksek EPA ve DHA değerlerinin, nisinin antioksidan aktivitesine bağlı olabileceğini, bunun da gökkuşığı alabalığının kas dokusundaki yüksek lipid oksidasyonunu inhibe etmesinden kaynaklı olduğunu bildirmiştir. Sonuç olarak nisin kullanımının en iyi sonucu olarak, nisin ile muamele edilip vakum paketlenmiş gökkuşığı alabalığı filetolarının raf ömrünün nisin kullanılmayan gruba göre 12 günden 16 güne kadar uzattığı ve bu durumun biyo-prezervatif olarak kullanılan nisinin bakterisidal ve antioksidan aktivitesinden kaynaklandığı sonucuna varmışlardır.

1.4. Su ürünlerinde nisin kullanımı

1969 yılında Gıda Tarım ve Dünya Sağlık Örgütleri ortak birliktelikleri tarafından nisin gıda katkı maddesi olarak kullanılmasına izin verilmiş olup, Dünya'da elliden fazla ülkede güvenilir ve etkili bir şekilde bu bakteriyosin kullanılmaktadır (Roller ve Lusengo, 1997). Çizelge 1'de 1989'da "Aplin and Barrett Ltd." şirketi tarafından yayınlanan ve bazı ülkelerde izin verilen maksimum nisin miktarları ve kullanıldığı gıdalar gösterilmiştir (Delves-Broughton, 1990).

Çizelge 1'den de görüldüğü üzere yasal olarak nisin su ürünlerinde kullanımı, sadece taze balıkları depolamada kullanılan buz ile konserve gıdalarla sınırlı kalmıştır. Ancak gerek taze balık ve diğer su ürünlerinin raf ömrünü uzatmada gerekse çeşitli patojenik mikroorganizmaların gelişimini inhibe etmede bu bakteriyosinin kullanımı ile ilgili pek çok araştırma yapılmaktadır.

Çizelge 1. Bazı ülkelerde nisinin kullanıldığı gıdalar ve maksimum miktarları (Delves-Broughton, 1990)

Ülkeler	Kullanıldığı Gıda	Maksimum Miktarları
ABD	İşlem görmüş eritme peynirler	10000 IU/g
Avustralya	Peynir, domates püresi-salçası ve konservesi, konser ve çorbalar	Limitsiz
Bulgaristan	Peynir, taze balıkları depolamak için kullanılan buzlar	200 mg/kg
Çekoslovakya	Tahıl ürünleri, mayonez, işlenmiş peynir, hazır ve yarı-hazır gıda ürünleri, konserve sebzeler, bebek gıdaları	500 IU/g
Singapur	Peynir ve konserve gıdalar	Limitsiz

^a1 µg nisin 40 IU (Uluslararası Birim)=40 RU

Su ürünleri endüstrisindeki temel sorunlardan birisi de *L. monocytogenes* kontaminasyonudur (Rørvik, 2000). Yüksek riskli su ürünleri arasında tütülenmiş balık (sıcak ve soğuk tütülenme) gibi hafif korunmuş ürünler (<6% su, tuz, pH 5), hafif tuzlanmış (havyar, deniz suyu ile pişirilmiş karides, soslanmış ringa), ve marine edilmiş ürünler yer almaktadır (Huss ve ark., 2000). Bunların çoğu (1) yüksek oranda işlenmiş, (2) buzdolabı sıcaklıklarında uzatılmış bir raf ömrüne sahiptir, (3) *L. monocytogenes*'in gelişimini destekleyebilir ve (4) daha fazla pişirmeden tüketilir (Huss ve ark., 2000). Füme somon ve füme gökkuşacağı alabalığı listeriosis için riskli ürün olarak kabul edilmektedir (Rocourt ve ark., 2000). Kontamine olmuş soğuk tütülenmiş gökkuşacağı alabalığının yanı sıra soğuk ve sıcak füme gökkuşacağı alabalığı ürünlerinin de listeriyoz için kontamine kaynağı olduğu düşünülmektedir (Miettinen ve ark., 1999). Füme midye ve çiğ istiridye ile ilişkili listeriosis salgınları da bildirilmiştir (Brett ve ark., 1998). Sonuç olarak, bu alandaki bakteriyosinlerin uygulanması üzerine yapılan araştırmaların çoğu, *L. monocytogenes*'in önlenmesi ve kontrolüne odaklanmıştır.

El-Bedaway ve ark. (1985) çalışmalarında, bir çeşit tatlı su balığı olan *Tilapia nilotica*'nın raf ömrünün uzatılmasında nisinin etkili olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar bu çalışmanın sonucunda, nisin uygulaması ile ilk 3 gün içerisinde mikrobiyal yükteki azalmaya dikkat çekmişler ve soğutulmuş ürünlerin uzak mesafelere transportasyonu sırasında bu uygulamanın etkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Taylor ve ark. (1990), üç farklı tür balık üzerinde *Cl. botulinum* Tip E sporlarının toksin üretimine nisinin etkisini 10 ile 26°C depolama sıcaklıklarında araştırmışlardır. Ancak yapılan çalışma dikkate alındığında, nisinin toksin oluşumunu engellemediğini ve bu konu ile ilgili daha geniş, ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu bildirmişlerdir.

Başka bir çalışmada ise, az tuzlu uskumru balıklarının (*Scomber australasicus*) fileto işleminde koruyucu olarak nisin üreticisi *L. lactis* CCRC 14016 kültürünün pratikte uygulanabilirliği önerilmiştir (Chen ve ark., 1997).

Nykanen ve ark., (1999) soğuk tütülenmiş gökkuşacağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) mikrobiyolojik ve duyu kalitesi üzerine laktik asit (448 g/kg) ve nisin içeren ticari peyniraltı suyunun (4000-6000 IU nisin/ml) etkisini inceledikleri çalışmalarında daha güvenli ve iyi kalitede soğuk işlem görmüş balık ürünleri üretimi için laktat ve nisin kombinasyonu kullanımının mümkün olabileceğini belirtmişlerdir.

Behnama ve ark., (2015)'nin yaptığı diğer bir çalışmada nisinin vakum paketlenmiş gökkuşacağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) 16 gün süreyle 4°C'de depolanması sırasında biyokimyasal, mikrobiyal kalite ve raf ömrüne etkisini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre, nisin ile muamele edilen balıklar kontrol grubuna göre daha düşük (p<0.05) ve kabul edilebilir biyokimyasal (peroksit değeri, tiyobarbitürik asit indeksi, pH ve toplam uçucu bazik azot) ve mikrobiyolojik (toplam canlı sayısı, psikrotrofik canlı sayımı ve laktik asit bakteri sayısı) etki göstermiştir ve 16 güne kadar daha uzun depolama raf ömrüne sahip olmuştur. Ayrıca, yağ asitleri kompozisyon analizi sonuçlarına göre, nisin varlığının balıkta lipid kalitesini koruduğunu, dolayısıyla nisin ile muamele edilen örneklerin eikosapentaenoik asit (C20:5) ve dokosaheksaenoik asit (C22:6) gibi esansiyel yağ asitlerinin daha yüksek yüzdesini (p>0,05) içerdiğini göstermiştir. Bu çalışma ile vakum paketlenmiş gökkuşacağı alabalıklarına nisin uygulaması, balıkların besin kalitesinin artırmış ve raf ömrünü 4°C'de 12 ila 16 gün arasında uzattığı sonucuna varmışlardır.

Behnama ve ark. (2016), yaptıkları diğer bir çalışmada, nisinin gökkuşacağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetolarının 4°C' de 16 gün süre ile depolanması süresince gıda güvenliği ve

raf ömrüne etkisinin biyokimyasal ve mikrobiyolojik analizlerle incelenmesini amaçlamışlardır. Elde edilen sonuçlar, nisin ile muamele edilen örneklerin, depolama boyunca daha düşük ($p < 0.05$) biyokimyasal (peroksit değeri, tiyobarbitürik asit indeksi, pH, serbest yağ asitleri ve toplam uçucu bazik azot) ve mikrobiyolojik (toplam canlı sayısı ve laktik asit bakterisi) bozulmalarına sahip olduğunu göstermiştir. Bu durumun nisinin bakterisidal ve antioksidan aktivitesinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte, toplam uçucu bazik nitrojen ve toplam canlı sayım değerleri, sırasıyla kontrol ve nisin muamele gruplarında depolamanın 8 ve 12. günlerinde kabul edilebilir sınırı aştığı gözlenmiştir. Bu çalışmanın biyokimyasal ve mikrobiyolojik sonuçlarına göre nisin uygulamasının 4°C'de depolama süresince gökkuşağı alabalıkları filetoalarının kalitesini ve raf ömrünü 4 ila 8 gün arttırdığını göstermiştir.

Taze Atlantik somonunda nisin ile kombine edilmiş modifiye atmosfer paketlemenin koruyucu etkisini inceleyen Han ve ark., (2016), yerel pazardan satın aldıkları çiftlik Atlantik somonlarını %19 CO₂: % 70 N₂:% 11 O₂, % 38 CO₂:% 51 N₂:% 11 O₂ ve atmosferik hava koşulları (nisinsiz ve 400 IU/g nisin konsantrasyonunda) altında paketlenerek toplam 6 uygulama yapmışlardır. Mikrobiyolojik (aerobik canlı sayısı, psikrotrofik bakteriler ve laktik asit bakterileri) ve toplam uçucu bazik nitrojen analizleri depolamanın 0., 2., 4., 7. ve 10. günlerinde gerçekleştirilmiştir. Paket üst katman boşluğu ve duysal değerlendirmeleri de 0., 2. ve 4. günlerde yapılmıştır. CO₂ varlığı, her üç tip bakteriyi etkin bir şekilde inhibe ederken, nisin laktik asit bakterileri üzerinde daha az etki ile aerobik mikroorganizmaların büyümesini önemli ölçüde inhibe etmiştir. TVB-N analizi, CO₂'nin Atlantik somonunun bozulmasını geciktirdiğini göstermiş, nisin ise Atlantik somonu raf ömrü üzerinde daha az ama ölçülebilir bir etkiye sahip olmuştur. Duyusal test sonuçlarına göre ürünün görünüm, renk ve kokusunda farklılıklar gözlenmemiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre araştırmacılar, modifiye atmosfer paketleme ve nisin kombine uygulamalarının, geleneksel koruma yöntemleriyle kıyaslandığında Atlantik somonunun bozulmasını sınırlamak için etkili bir yöntem olarak kullanılma potansiyeli olduğunu bildirmişlerdir.

Ghomi ve ark., (2011)'nin yaptıkları çalışmada; sodyum asetat (% 0.1 ve %3), nisin (% 0, % 0.1 ve % 0,2) ve bunların kombinasyonlarına daldırma yöntemiyle uygulanan 8 günlük buzdolabı depolaması sırasında ot sazanları (*Ctenopharyngodon idella*) dilimlerinde meydana getirdikleri mikrobiyolojik kalite, lipit oksidasyonu ve yağ asidi bileşimi üzerine etkileri incelenmiştir. Hem nisin hem de sodyum asetat, toplam mezofil ve laktik asit bakterilerinin çoğalmasında doza bağlı olarak inhibe etmiştir, ancak kombinasyon uygulamaları, mikrobiyal çoğalmanın önlenmesinde önlemede daha yüksek etki göstermiştir. Sodyum asetatın yüksek konsantrasyonları (% 3), lipit oksidasyonunu önlemede daha etkili olmuştur. Depolama süresinin sonunda, n3 yağ asitleri, EPA (C20: 5n-3) ve DHA (C22: 6n-3) içeriği ve daha düşük n6/n3 oranı % 3 sodyum asetat + % 0.1 ve % 0.2'lik nisin muamele gruplarında gözlenmiştir. Sonuç olarak, nisin sodyum asetat ile kombine kullanıldığında, buzdolabında depolama sırasında dilimlenmiş sazan etinin kalitesini korumada etkili koruyucu maddeler olarak kullanılabileceğini rapor etmişlerdir.

Raju ve ark. (2003), üç farklı nisin konsantrasyonunun (12.5, 25 ve 50 ppm), balık sosilerinin ortam (28±2 °C) ve buzdolabı (6±2 °C) sıcaklıklarında depolanması süresince ürün kalitesine olan etkilerini incelemişlerdir. Jel dayanıklılığı, su içeriği, toplam uçucu bazik azotu, toplam canlı sayısı ve aerobik spor sayıları, depolama sıcaklıkları ve kullanılan nisin konsantrasyonlarından etkilenmiştir. 50 ppm nisin ile muamele edilen balık sosisi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ortam sıcaklığında 20-22 gün olarak kabul edilebilir raf ömrüne sahip olmuştur. Bu durumda 2 günlük bir raf ömrü uzaması söz konusu olmuştur. Soğukta depolanan sosilerin kalitesi ise kontrol grubunda 30 gün ve 50 ppm nisin ile muamele edilmiş örneklerde 150 güne kadar değişkenlik göstermiştir. Nisin rezidüsü, soğukta depolanan örneklerde yavaşça azalırken, ortam sıcaklığında depolanan balık sosislerinde azalma hızlı olmuştur. 50 ppm konsantrasyonlu nisinin hem ortam sıcaklığında hem de soğukta depolanan örneklerde jel dayanıklılığı ve genel kabul edilebilirlik puanları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir etki gösterdiği ($p < 0.05$) bildirilmiştir.

Ceylan (2014), nisin (% 0.1) ve ışınlama (3 kGy) uygulamalarının birlikte kullanılmasının soğukta depolanan (2±1 °C) derisi alınarak fileto hale getirilen levreğin raf ömrüne etkisini incelemiştir. Çalışmada kullandığı tüm örnekler 100'er gram olacak şekilde vakum paket uygulaması ile paketlenmiştir (K, kontrol; N, nisin; I, ışın; NI, nisin+ışın grupları). 25 günlük depolama süresi boyunca duysal, fiziksel (pH, renk), kimyasal (TVB-N, TMA-N ve TBA) ve mikrobiyolojik (toplam mezofilik aerobik bakteri, toplam psikrofilik bakteri ve toplam maya-küf sayımları) analizler

gerçekleştirilmiştir. Duyusal analiz sonuçlarına göre; K grubunun raf ömrü 7 gün iken N grubunun 11 gün, I grubunun 15 gün, NI grubunun ise 17 gün bulunmuştur. Işınlama teknolojisi mikrobiyal yükü düşürmekte, nisin ile kombine edildiğinde ise; duyusal kaliteyi artırmakta ve maya-küf gelişimini inhibe etmede diğer gruplara göre daha başarılı olmaktadır. Ancak nisin ve ışınlama uygulamalarının maliyetleri bir arada düşünüldüğünde sağlanan 2 günlük raf ömrü artışının ne kadar faydalı olduğu sorusu öne çıkmaktadır. Bu anlamda ışınlama ve nisin uygulamalarının tekli kullanımları tavsiye edilmekte olup, kombine kullanımlarının çok etkin bir raf ömrü artışı sağlamadığı tespit edilmiştir.

Lu ve ark. (2010), kuzey yılanbaşı balığı (*Channa argus*) filetolarının kalitesini buzdolabı sıcaklığında (4 ± 1 °C) korumak için, alginat-kalsiyum kaplamada tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) ve nisin kullanmıştır. Kuzey yılanbaşı balığı filetoları muamele uygulaması yapılmayan kontrol grubu (CK) ile muamele grupları (alginat-kalsiyum kaplama grubu (Y0), 10 µL/mL tarçın içeren alginat-kalsiyum kaplama grubu (Y1), 2000 IU/mL nisin ve 150 µL/mL etilen diamin tetraasetik asit (EDTA) içeren alginat-kalsiyum kaplama grubu (Y2) ve 10 µL/mL tarçın ve 2000 IU/mL nisin ve 150 µg/mL EDTA içeren alginat-kalsiyum kaplama grubu (Y3) olarak gruplara ayrılmışlardır. Y1 ve Y3 muamele gruplarının kuzey yılanbaşı balığı bakteriyel büyümenin inhibe edilmesinde, pH, toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) ve tiyobarbitürik asit (TBA) değerlerinin korunmasında CK, Y0 ve Y2 gruplarından daha iyi etkileri olduğu belirlenmiştir. Tüm muamelelerdeki balık filetolarının renk parlaklığı (L^*) değerleri CK' dan daha yüksek olmuştur. Alginat-kalsiyum kaplama işlemlerinde tarçın, depolama sırasında kuzey yılanbaşı balığı filetolarının kalitesini koruyabilir, ancak Y1 ve Y3 gruplarında balık filetolarının renkleri, tarçın renginden dolayı belirgin bir şekilde değişmiştir.

Langroudi ve ark. (2011), yapmış oldukları bu çalışmada, sodyum asetat (% 0, % 1 ve % 3), nisin (% 0, % 0.1 ve % 0.2) ve bunların kombinasyonlarına daldırılan ot sazani (*Ctenopharyngodon idella*) filetolarının mikrobiyolojik kalitesi ve lipit oksidasyonunu 16 günlük soğukta depolama süresince değerlendirmişlerdir. Nisinin antilisteriyal etkisini, artan sodyum asetat konsantrasyonu ile arttırılmıştır. Sodyum asetat konsantrasyonlarının arttırılması ile mezofilik bakterileri sayıları daha düşük olmasına rağmen nisin ile ilgili olarak % 0.1 nisin uygulanarak daha iyi sonuçlar elde edildiğini bildirmişlerdir. Kombinasyon uygulamasında daha fazla mezofil bakteri inhibisyonu gözlenmiştir. Daha yüksek konsantrasyonlarda sodyum asetat ve nisin kullanıldığında lactobacillus sayısı daha düşük olarak tespit edilmiştir. Hem nisin hem de sodyum asetat ile muamele edilen örneklerde peroksit, TBA ve toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) değerleri daha düşük olmuştur ve kombinasyon uygulamalarında daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir.

Nisinin farklı konsantrasyonları ile kombine edilmiş kitosanın 4°C'de depolanan sarı kurbağa balığı (*Pseudosciaena crocea*) için kalite üzerindeki etkileri 8 gün boyunca Hui ve ark. (2016) tarafından değerlendirilmiştir. Çalışmada depolama süresi boyunca duyusal skor ve uçucu bozulma ürünlerindeki değişiklikler, toplam canlı sayıları ve ağırlık kaybı, renk, pH, toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) ve K-değeri gibi fizyo-kimyasal indeksler incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, nisin ile muamele edilen örneklerin, sadece kitosan uygulanan örneklerden daha iyi kalitede olduğunu göstermiştir. % 1 kitosan ile % 0.6 nisin kombinasyonunun nem kaybı kontrolü, uçucu bozucu engelleme, TVB-N indirgeme, toplam canlı sayısı ve renk ve duyusal kabul edilebilirlik koruması gibi optimal kalite artışına neden olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle araştırmacılar, nisin ile kombine edilmiş kitosanın, sarı kurbağa balığının raf ömrü uzamasında gelecek vaat eden uygulamalar arasında kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Tek başına laktik asit ve bunun nisin ile kombine uygulanması, soğukta depolanan karideslerde doğal olarak oluşan mikroorganizmaların popülasyonunu azaltmak için Shirazinejad ve ark., (2010) tarafından değerlendirilmiştir. Taze karidesler, yalnız başına laktik asidin % 0, % 1 ve % 2 (v/v) konsantrasyonlarına ve 0.04 (g /L/kg) nisin çözeltisi ile kombine uygulanması içine daldırılarak 10 dakika bekletilmiştir. 4°C'de depolama sırasında karideslerin aerobik bakteri, psikrotrofik sayımı, *Pseudomonas* spp. popülasyonu, H₂S üreten bakteri ve laktik asit bakterilerinin toplam sayısı belirlenmiştir. Toplam plak sayımı, sırasıyla 7 ve 14 günlük depolama sonrası, muamele görmemiş karideslerde 2.91 ve 2.63 log kob/g olarak bulunurken 0.04 (g/L/kg) nisin ile kombine edilmiş % 2 laktik asit ile muamele edilmiş karideslerden daha düşük olmuştur. Her iki laktik asit konsantrasyonu, depolama sırasında karidesin ilk bozulma florası olan *Pseudomonas* sayımlarında önemli bir azalma olduğunu gösterirken, % 2 laktik asit ile nisin kombinasyonu en yüksek azalmayı göstermiştir. Ayrıca H₂S üreten bakterilerin, depolama sırasında nisin ile kombine edilmiş yüksek konsantrasyondaki laktik aside daha duyarlı olduğu gözlenmiştir. Bu çalışma, laktik asit ve nisinin tek başına kullanılmalarından

ziyade kombine uygulanmasının, aerobik bakterilerin toplam canlı sayısının azaltılmasında ve karideslerin raf ömrünün uzatılmasında tercih edileceğini göstermiştir.

2. Sonuç

Sonuç olarak farklı gıdaların bozulma florasına karşı nisin koruyucu etkisi belirlenmiş olsa da maksimum koruyucu etki elde etmek için farklı gıdalar için nisin uygulama seviyeleri standardizasyonuna ihtiyaç vardır (Eapen ve ark., 1983). Nisin uygulama düzeyini standardize ederken gıda tutarlılığı, pH, işleme döngüsü, depolama süresi ve sıcaklığı, başlangıç bakteriyolojik durumu ve nisin kalıntı düzeyi gibi etmenler dikkat edilmesi gereken faktörlerdir.

Kaynakça

- Al-Holy, M., Ruiter, J., Lin, M., Kang, D. H., & Rasco, B. (2004). Inactivation of *Listeria innocua* in nisin-treated salmon (*Oncorhynchus keta*) and sturgeon (*Acipenser transmontanus*) caviar heated by radio frequency. *Journal of Food Protection*, 67, 1848–1854.
- Al-Holy, M., Lin, M., & Rasco, B. (2005). Destruction of *Listeria monocytogenes* in sturgeon (*Acipenser transmontanus*) caviar by a combination of nisin with chemical antimicrobials or moderate heat. *Journal of Food Protection*, 68, 512–520.
- Alkhatib, Z., Abts, A., Mavaro, A., Schmitt, L., & Smits, S.H. (2012). Lantibiotics: how do producers become self-protected? *Journal of Biotechnology*, 159, 145–154.
- Anonim (2020), <https://en.wikipedia.org/wiki/Nisin>.
- Behnama, S., Anvari, M., Rezaei, M., Soltanian, S., & Safari, R. (2015). Effect of nisin as a biopreservative agent on quality and shelf life of vacuum packaged rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) stored at 4°C. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4), 2184–2192.
- Behnama, S., Anvari, M., Rezaeia, M., & Soltanian, S. (2016). Effect of nisin on shelf-life extension of filleted rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Food and Allied Sciences*, 2(1), 1-7.
- Brett, M. S. Y., Short, P., & McLaughlin, J. (1998). A small outbreak of listeriosis associated with smoked mussels. *International Journal of Food Microbiology*, 43, 223–229.
- Budu-Amoako, E., Ablett, R.F., Harris, J., & Delves-Broughton, J. (1999). Combined effect of nisin and moderate heat on destruction of *Listeria monocytogenes* in cold-pack lobster meat. *Journal of Food Protection*, 62(1), 46-50.
- Cabo, M. L., Pastoriza, L., Berna rdez, M., & Herrera, J. J. R. (2001). Effectiveness of CO₂ and nisaplin on increasing shelf-life of fresh pizza. *Food Microbiology*, 18, 489–498.
- Campos, C.A., Gerschensin, L.N., & Flores, S.K. (2011). Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 849–875.
- Ceylan, Z. (2014). *Nisin ve ışınlama uygulamalarının birlikte kullanılmasının soğukta depolanan balığın raf ömrüne etkisi.* (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.
- Chen, H., Chen, M., & Chang, Y. (1997). Processing of low-salted mackerel fillets using biopreservative, p. 297-306. In: M. Üçüncü, U. Güvenç, M. Serdaroğlu, M. Çetin and Y. Göksungur [eds], The Sixth International Congress on Food Industry ‘New Aspects on Food Processing’. E.Ü. Basımevi, Bornova, İzmir.
- De Vuyst, L., & Vandamme, E. J. (1994). Nisin, a lantibiotic produced by *Lactococcus lactis*: Properties, biosynthesis, fermentation and applications, In: De Vuyst, L., Vandamme, E.J., Bacteriocins of lactic acid bacteria. Chapman & Hall, Glasgow, 165-167.
- Delves-Broughton, J. (1990). Nisin and its uses as a food preservative. *Food Technology*. November: 100, 102, 104, 106, 111-112, 117.
- Delves-Broughton, J., Blackburn, P., Evans, R. J., & Hugenholtz, J. (1996). Applications of the bacteriocin, nisin. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 69, 193–202.
- Eapen, K. C., Sankaran, R., & Vijayaraghavan, P. K. (1983). The present status on the use of nisin in processed foods. *Journal of Food Science and Technology*, 20, 231–240.

- El-Bedaway, A. El-F., Zaki, M. S., El- Sherbiney, A. M., & Khalil, A. H. (1985). The effect of certain antibiotics on boliti fish (*Tilapia nilotica*) preservation. *Die Nahrung*, 29(3), 303-308.
- Elotmani, F., & Assobhei, O. (2004). In vitro inhibition of microbial flora of fish by nisin and lactoperoxidase system. *Letters in Applied Microbiology*, 38(1), 60-65.
- European Economic Community (EEC) (1983). EEC Comission Directive 83/463/EEC.
- FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, (1969). *Specifications for Identity and Purity of Some Antibiotics*. Twelfth Report. WHO Technical Report Series, No. 430.
- FDA, (1988). Federal Register, Nisin preparation: affirmation of GRAS status as a direct human food ingredient. *21 CFR Part 184. Fed Reg 53*, 11247-11251
- FDA, (2001). US *Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services*. Agency Response Letter GRAS Notice N. GRN 000065.
- Fernandes, C. F., & Shahani, K. M. (1989). *Modulation of Antibiosis by Lactobacilli and Yogurt and Its Healthful and Beneficial Significance*. In *Yogurt: Nutritional and health properties*; Chandan, R. C., Ed.; National Yogurt Association: McLean, VA.
- Galvez, A., López, R. L., Abriouel, H., Valdivia, E., & Omar, N. B. (2008). Application of bacteriocins in the control of foodborne pathogenic and spoilage bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28(2), 125-152.
- Ganzle, M. K. (2004). Biological activity, mode of action, and potential applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64(3), 326-332.
- Garcerá, M. J., Elferink, M. G., Driessen, A. J., & Konings, W. N. (1993). In vitro pore-forming activity of the lantibiotic nisin. Role of proton motive force and lipid composition. *European Journal of Biochemistry*, 212(2), 417-22.
- Ghomi, M. R., Nikoo, M., Heshmatipour, Z., Jannati, A. A., Ovissipour, M., Benjakul, S., Hashemi, M., Faghani Langroudi, H., Hasandoost, M., & Jadiddokhan, D. (2011). Effect of sodium acetate and nisin on microbiological and chemical changes of cultured grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) during refrigerated storage. *Journal of Food Safety*, 31, 169-175.
- Gözde, K., & Yasin, T. (2012). Nisin Z-Producing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* GY132 Isolated from Boza. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37, 1-2.
- Gram, L., & Huss, H. H. (2000). Fresh and processed fish and shellfish. In *the Microbiological Safety and Quality of Foods*, 472-506. Lund, B. M., Baird-Parker, A. C., and Gould, G. W., eds., Chapman and Hall, London.
- Gram, L., & Dalgaard, P. (2002). Fish spoilage bacteria—problems and solutions. *Current Opinion in Biotechnology*, 13, 262-266.
- Gravesen, A., Sorensen, K., Aarestrup, F. M., & Knochel, S. (2001). Spontaneous nisin-resistant *Listeria monocytogenes* mutants with increased expression of a putative penicillin-binding protein and their sensitivity to various antibiotics. *Microbial Drug Resistance*, 7, 127-135.
- Han, D., Han, I., & Dawson, P. (2016). Combining modified atmosphere packaging and nisin to preserve Atlantic salmon. *Journal of Food Research*, 6(1), 22.
- Hereu, A., Bover-Cid, S., Garriga, M., & Aymerich, T. (2012). High hydrostatic pressure and biopreservation of dry-cured ham to meet the food safety objectives for *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 154, 107-112.
- Hirsch, A., Grinsted, E., Ho, P. H., Chapman, H. R., & Mattick, A. T. (1951). A note on the inhibition of an anaerobic sporeformer in Swiss-type cheese by a nisin-producing Streptococcus. *Journal of Dairy Research*, 18, 205-206.
- Hui, G., Liu, W., Feng, H., Li, J., & Gao, Y. (2016). Effects of chitosan combined with nisin treatment on storage quality of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Food Chemistry*, 203, 276-282.
- Hurst, A. (1983). Nisin and other inhibitory substances from lactic acid bacteria, In: Branen AL and Davidson PM, *Antimicrobials in foods*. Marcel Dekker, New York, 327-351.
- Huss, H. H., Jørgensen, L. V., & Vogel, B. F. (2000). Control options for *Listeria monocytogenes* in seafoods. *International Journal of Food Microbiology*, 62, 267-274.
- Islam, MR, Nagao, J, Zendo, T, & Sonomoto, K. (2012). Antimicrobial mechanism of lantibiotics. *Biochemical Society Transactions*, 40, 1528-1533.

- Kaur, G., Malik, R. K., Mishra, S. K., Singh, T.P., Bhardwaj, A., Singroha, G., Vij, S., & Kumar, N. (2011). Nisin and class IIa bacteriocin resistance among *Listeria* and other foodborne pathogens and spoilage bacteria. *Microbial Drug Resistance*, 17, 197–205.
- Langroudi, H. F., Soltani, M., Kamali, A., Ghomi, M. R., Hoseini, S. E., Benjakul, S., & Heshmatipour, Z. (2011). Effect of *Listeria monocytogenes* inoculation, sodium acetate and nisin on microbiological and chemical quality of grass carp *Ctenopharyngodon idella* during refrigeration storage. *African Journal of Biotechnology*, 10(42), 8484-8490.
- Lin, M. Y., & Yen, C. L. (1999). Antioxidative ability of lactic acid bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(4), 1460-1466.
- Lu, F., Ding, Y., Ye, X., & Liu, D. (2010). Cinnamon and nisin in alginate–calcium coating maintain quality of fresh northern snakehead fish fillets. *LWT-Food Science and Technology*, 43(9), 1331-1335.
- Malheiros, P., Daroit, D.J., & Brandelli, A. (2010). Food applications of liposome-encapsulated antimicrobial peptides. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 284–292.
- Mattick, A. T. R., & Hirsch, A. (1947). Further observations on an inhibitory substance (nisin) from *Lactic streptococci*. *Lancet*, 250, 5-8.
- Metchnikoff, E. (1908). *The prolongation of Life*; G. P. Putnam's Sons: New York.
- Miettinen, M. K., Siitonen, A., Heiskanen, P., Haajanen, H., Bjorkroth, K. J., & Korkeala, H. J. (1999). Molecular epidemiology of an out- break of febrile gastroenteritis caused by *Listeria monocytogenes* in cold-smoked rainbow trout. *Journal of Clinical Microbiology*, 37, 2358–2360.
- Mirshekari, S., Safari, R., Adel, M., Motalebi Moghanjoghi, A. A., Khalili, E., & Bonyadian, M. (2016). Antimicrobial and antioxidant effects of nisin Z and sodium benzoate in vacuum packed Caspian kutum (*Rutilus frisii*) fillet stored at 4° C. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 15(2), 789-801.
- Muruges, S., Mohanasrinivasam, V., Subathrs Devi, C., Mahesh, N., & Manivannam, S. (2003). Bio-preservation using Bacteriocin (NISIN) produced from *Lactococcus lactis* subsp *lactis*. *Indian Journal of Applied Microbiology*, 3(1), 23-26.
- Nykanen, A., Lapvetelainen, A., Hietanen, R., & Kallio, H. (1999). Applicability of lactic acid and nisin to improve the microbiological quality of cold-smoked rainbow trout. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*, 208, 116-120.
- Raju, C. V., Shamasundar, B. A., & Udupa, K. S. (2003). The use of nisin as a preservative in fish sausage stored at ambient (28±2°C) and refrigerated (6±2°C) temperatures. *International Journal of Food Science and Technology*, 38(2), 171-185.
- Ramu, R., Shirahatti, P. S., Devi, A. T., & Prasad, A. (2015). Bacteriocins and their applications in food preservation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*,
- Rocourt, J., Jacquet, C., & Reilly, A. (2000). Epidemiology of human listeriosis and seafoods. *International Journal of Food Microbiology*, 62, 197–209.
- Rodriguez, E., Carina, G., & Magela, L. (1999). The structural gene for microcin H47 encodes a peptide precursor with antibiotic activity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43(9), 2176–2182.
- Rogers, L. A. (1928). The inhibiting effect of *Streptococcus lactis* on *Lactobacillus bulgaricus*. *Journal of Bacteriology*, 16, 321–325.
- Roller, S., & Lusengo, J. (1997). Developments in natural food preservatives. *Agro-Food- Industry Hi-Tech. July/August*, 22-25.
- Rørvik, L. M. (2000). *Listeria monocytogenes* in the smoked salmon industry. *International Journal of Food Microbiology*, 62, 183–190.
- Ruhr, E., & Sahl, H. G. (1985). Mode of action of the peptide antibiotic nisin and influence on the membrane potential of whole cells and on cytoplasmic and artificial membrane vesicles. *Journal of Bacteriology*, 27(5), 841-845.
- Sallam, K. I. (2007). Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*, 18, 566–575.
- Settanni, L., & Corsetti, A. (2008). Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 121, 123–138.

- Shirazinejad, A. R., Noryati, I., Rosma, A., & Darah, I. (2010). Inhibitory effect of lactic acid and nisin on bacterial spoilage of chilled shrimp. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 41, 163-167.
- Taylor, L. Y., Cann, D. D., & Welch, B. J. (1990). Antibotulinal properties of nisin in fresh fish packaged in an atmosphere of carbon dioxide. *Journal of Food Protection*, 53(11), 953-957.
- Twomey, D., Ross, R. P., Ryan, M., Meaney, B., & Hill, C. (2002). Lantibiotics produced by lactic acid bacteria: Structure, function and applications. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82, 165– 185.
- Ucar, Y., Özogul, Y., Özogul, F., Durmuş, M., & Köşker, A. R. (2020). Effect of nisin on the shelf life of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) fillets stored at chilled temperature ($4 \pm 2^\circ\text{C}$). *Aquaculture International*, 28, 851–863.
- Van, B. M. J., & Stiles, M. E. (2000). Non lantibiotics antibacterial peptides from lactic acid bacteria. *Natural Product Reports*, 17, 323–335.