

LAKTOFERRİN ve GIDALARDA KULLANIMI**Emine ALKIN*****ÖZET**

Laktoferrin, en çok insan sütünde, daha düşük miktarda çeşitli granüler epitel hücrelerin salgılarında, polimorfonükleer lökositlerde, nötrofil granüllerde bulunan, bakteriyel aktivitede bulunmaları için gerekli olan Gram negatif bakterilerin membranının dışındaki demiri bağlayan bir glikoproteindir. Laktoferrin, antimikrobiyel ve probiyotik özelliklerinden dolayı çok fonksiyonlu katkı maddesi olarak son yıllarda ticari olarak inek sütünden izole edilerek yararlı bağırsak florasını güçlendiren probiyotik gıdalarda ve bebek mamalarında yaygın olarak kullanılması düşünülmekte olup, E. coli, Staphylococcus epidermidis, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus aureus, Vibrio cholerae, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Salmonella typhimurium, Shigella dysenteriae'nin de dahil olduğu patojen bakterileri ve hatta bazı virusleri inhibe edebildiği de bildirilmektedir.

SUMMARY**Lactoferrin And Using In Foods**

The binding of lactoferrin, an iron binding glycoprotein found in human milk at much lower but detectable levels in various granular epitel cell fluids, polymorphonuclear leukocytes, neutrophil – specific granules, to the outer membrane of Gram – negative bacteria is a prerequisite to exert its bacterial activity. Because of lactoferrin appears anti – microbial and probiotic properties, recently it thinks commercially isolated from cow's milk for use in probiotic and infant foods, aim of making strong intestinal flora. Also it is considered inhibited pathogen bacteria such as E. coli, Staphylococcus epidermidis, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus aureus, Vibrio cholerae, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Salmonella typhimurium, and Shigella dysenteriae, and inhibited some virus also.



1. GİRİŞ

Laktoferrin, 77 – 93 kDa molekül ağırlığına sahip (Vegarud ve ark. 2000, Kuwata ve ark. 1998), inek, domuz, at, bufalo, keçi ve fare gibi bütün memeli hayvanlarda doğal olarak bulunan (Steijns ve Hooijdonk 2000, Prieto ve ark. 1999), iki demir bağlama bölgesine sahip ve tek zincirli bir glikoproteindir (Erga ve ark. 2000, Yang ve ark. 2000). Laktoferrin, ilk olarak inek sütünden izole edilmiş olup (Losnedahl ve ark. 1996, Yang ve ark. 2000), endüstriyel ölçekte kaymağı alınmış süttten ve peynir altı suyu tozundan saflaştırılmaktadır (Kuwata ve ark. 1998). Çizelge 1'de laktoferrinin çeşitli biyolojik sıvılarda bulunuş oranları verilmiştir.

Çizelge 1. Çeşitli biyolojik sıvılardaki laktoferrin miktarı

Biyolojik Sıvı	BİLDİRİLEN MİKTAR	Kaynak
Kolostrum sütü (anne sütü)	> 6 - 8g / L	Losnedahl ve ark. 1996
Anne sütü	> 2 - 4g / L	Losnedahl ve ark. 1996
Gözyaşı	> 2 - 2g / L	Steijns ve Hooijdonk 2000
Seminal plazma	> 0.4 - 1.9g / L	Steijns ve Hooijdonk 2000
Synovial sıvı	> 10 - 80mg / L	Steijns ve Hooijdonk 2000
Tükürük	> 7 - 10mg / L	Steijns ve Hooijdonk 2000
İnek kolostrumu	> 0.5 - 1g / L	Losnedahl ve ark. 1996
Domuz sütü	> 12g / L	Yang ark. 2000
İnek sütü	> 20 - 200mg / L	Losnedahl ve ark. 1996

Doymuş bir laktoferrin molekülünün % 5 – 30'u demir iyonlarından oluşmaktadır (Losnedahl ve ark. 1996). % 5 demir içeren laktoferrin apolaktoferrin, demirle doymuş hale gelmiş laktoferrin ise hololaktoferrin olarak isimlendirilmektedir (Steijns ve Hooijdonk 2000). Sütteki laktoferrin apolaktoferrin şeklinde olup (Steijns ve Hooijdonk 2000), en fazla % 15'i demir iyonları ile doymuş bulunmaktadır (Kanyshkova ve ark. 1999).

Laktoferrinin demiri bağlama stabilitesi geniş pH sınırına sahiptir ve mide asitliğinden olumsuz etkilenmemektedir (Percival 1999, Abdallah ve Chahine 2000). Laktoferrin transferrinden 300 kez daha fazla demir iyonunu bağlayabilir, pH 3 gibi çok asidik durumlarda bile demir çelatları oluşturabilir ve transferrine oranla oksidatif değişime daha dirençlidir (Erga ve ark. 2000). Demir iyonlarından başka kalsiyum, magnezyum, çinko, sodyum, potasyum (Vegarud ve ark. 2000), bakır,

mangan, kobalt iyonları (Steijns ve ark. 2000) ile DNA ve RNA'yı da bağlama özelliği bulunmaktadır (Kanyshkova ve ark. 1999). Bunlara ilave olarak laktoferrin proteolitik bozunmalara da oldukça dayanıklıdır (Lygren ve ark. 1999).

İnek ve insan sütündeki laktoferrinin yapısal (3 – D yapısı) ve biyokimyasal özelliklerinde farklılıklar bulunmasına rağmen, biyoaktivitelerinin hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda oldukça benzer özellikler gösterdiği görülmüştür (Steijns ve Hooijdonk 2000).

2. LAKTOFERRİNİN MİKROORGANİZMALAR ÜZERİNE ETKİLERİ

1940 yılından itibaren laktoferrinin bakteriyostatik etkisi bilinmekle birlikte (Abdallah ve Chahine 2000), antimikrobiyel etki mekanizmasını içeren biyolojik rolü hala kesin olarak belirlenememiştir. Bu proteinin antimikrobiyel etkisi, bakteriyel gelişme için gerekli olan demiri demir çelatları haline getirerek kullanılamaz duruma getirmek (Kuntz 1999, Percival 1999, Abdallah ve Chahine 2000) ya da membran geçirgenliğine bağlı olarak hücre membranındaki demiri bağlayarak olduğu bildirilmektedir (Kuntz 1999, Abdallah ve Chahine 2000).

Laktoferrinin antimikrobiyel bir fonksiyon olarak mevcut patojenlerdeki demiri bağlayarak enfeksiyonları önlemede çok önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Bu molekülün antimikrobiyel fonksiyonu sadece ortamdaki mevcut serbest demir iyonlarının uzaklaştırılması ile bağlı kalmayıp, mikroorganizma hücre yüzeyi arasındaki interaksiyonu da kapsamaktadır. Ayrıca bazı Gram negatif bakterilerin dış membranlarına da zarar vermekte ve hücreden lipopolisakkaritlerin serbest kalmasına da neden olmaktadır (Shi ve ark. 2000). Bu nedenle de antimikrobiyel işlevi diğer makromoleküller ile bağlanması ile azalmakta, diğer antimikrobiyel proteinlerle kompleks oluşturması ise sinerjistik etki oluşturarak antimikrobiyel özelliğini arttırmaktadır (Wang ve Hurley 1998).

Laktoferrin ile serbest lipopolisakkarit arasında kararlı kompleksler şekillenir, fakat membranın kararsızlık mekanizması henüz kesin olarak açığa kavuşturulamamıştır. Laktoferrin bağlanmak için potansiyel hedef olarak porinleri işaretlemektedir. Bir hipoteze göre ise, laktoferrinin porinlere bağlanması hem bakteriyel dış membranın kararsızlığını kolaylaştırmakta, hem de membranın geçirgenliğini sınırlandırmaktadır. Laktoferrinin birçok Gram negatif bakterilere bağlanması ve bakterisidal aktivitesi arasındaki ilişkiler bilinmesine rağmen, membran seviyesindeki aktivitesi tam olarak açıklanamamaktadır (Sallmann ve ark. 1999). Laktoferrinin mide pepsini tarafından proteolitik olarak parçalanması sonucu bakterisidal etkiye sahip laktoferrisin olarak isimlendirilen bir peptit oluşmaktadır. Laktoferrinin antimikrobiyel aktivitesi laktoferrinden daha yüksektir. Fakat bu oluşum da tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Laktoferrin molekülünün yüzeyinden serbest kalan bu peptit demir bağlama bölgesidir.

Bu kationik peptitlerin bakterisidal etki mekanizması birbirini olumsuz yönde etkileyen diğer antimikrobiyel peptitlerin bakteri hücreleri yüzeyindeki lipopolisakkaritler gibi bağ oluşturu yapılarla açığa kavuşturulabilir. Etkilenen membranda bir oyuk olduğundan, sitoplazmik moleküllerin kaybı sonucu hücre ölümü meydana gelmektedir (Kuwata ve ark. 1998, Shi ve ark. 2000). Ayrıca, laktoferrinin özellikle *Hemophilus influenzae*'nin koloni oluşturma faktörlerini inaktive ettiği ve bu bakterinin mevcut patojenitesini zayıflattığı da bildirilmektedir (Shi ve ark. 2000).

Laktoferrin, hücre yüzeyinde demiri bağlama yeteneğinde olan bir hemoglobin reseptör (HbR) proteinine sahip ve hemoglobin temel bileşenlerini sisteminde kullanabilen periodontopatojen bakterilere de bakteriyostatik etkide bulunmaktadır. Laktoferrinin bakteriyostatik etkisi, bu bakterilerin gelişmesini hemoglobinde var olan demiri kullanılamaz duruma getirerek oluştuğu bildirilmektedir (Abdallah ve Chahine 2000, Shi ve ark.2000).

3. LAKTOFERRİNİN GIDA ENDÜSTRİSİNDE KULLANIMI

Laktoferrinin farmasötik ve gıda ile ilgili uygulamaları son yıllarda oldukça ilgi görmeye başlamıştır. Fakat laktoferrinin insanlardaki metabolik olaylar üzerine etkisi hakkındaki bilgiler sınırlıdır (Kuwata ve ark. 1998). Laktoferrin, antimikrobiyel ve probiyotik özelliklerinden dolayı çok fonksiyonlu katkı maddesi olarak son yıllarda ticari olarak inek sütünden izole edilerek gıda maddelerinin bileşimlerinde uygulanması düşünülmektedir (Kuntz 1999). Bu ürün yararlı bağırsak florasını güçlendiren probiyotik gıdalarda (Percival 1999) ve bebek mamalarında kullanılması önerilmekte (Anonim 1999, Kuntz 1999), *E. coli*, *Staph. epidermidis*, *Str. pneumoniae*, *Staph. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Klebsiella pneumoniae* (Percival 1999), *Staph. hominis*, *Bacillus subtilis*, *Str. mutans*, *Clostridia* (Bhimani ve ark. 1999), *Vibrio anguillarum* (Lygren ve ark. 1999), *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae*'nin de dahil olduğu 30'dan fazla patojen bakteriyi ve hatta bazı virusleri inhibe ettiği bildirilmektedir (Kuntz 1999). *Candida albicans* (Tanaka ve ark. 1996) ve *Toxoplasma gondii*'ye de antimikrobiyel etki gösterdiği halde, *Lactobacillus casei*'ye etki etmemekte, *Bifidobacterium* cinsi bakterilerin de gelişmelerine yardımcı olmakta (Percival 1999) ve böylece kolon kanseri oluşumu engellenmektedir (Tsuda ve ark. 2000). Düşük miktarda demir iyonuna ihtiyaç duymaları nedeni ile mide ve barsaklarda doğal olarak bulunan laktik asit bakterilerine etki etmemektedir (Losnedahl ve ark. 1996). Laktoferrinin endüstride kullanıldığı alanlar Çizelge 2'de gösterilmektedir (Steijns ve Hooijdonk 2000).

1999). Laktoferrinin mide pepsini tarafından proteolitik olarak parçalanması sonucu bakterisidal etkiye sahip laktoferrisin olarak isimlendirilen bir peptit oluşmaktadır. Laktoferrisinin antimikrobiyel aktivitesi laktoferrinden daha yüksektir. Fakat bu oluşum da tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır.

Çizelge 2. Laktoferrinin endüstride kullanıldığı alanlar

Ürün Adı	Fonksiyonel Özelliği
Süt temelli bebek mamaları Sağlık Katkıları	Patojenlere karşı direnci sağlayan taklit anne sütü Hamile hanımlarda demir emilimini arttırmak ve bağışıklık sistemine yardımcı olmak
Fonksiyonel gıda katkıları Kozmetik Ağız bakım ürünleri, sakızlar Yem katkıları	Demir çözünürlüğü ve emilimi arttırmak Antioksidant Ağız hijyenini iyileştirmek İneklerde virüs hassasiyetini yok etmek

Laktoferrinin, et endüstrisinde de kullanılması amacı ile Haziran 2000 tarihinde MO, Kansas City Sığır Çiftliği tarafından araştırmalara başlanmıştır. NMA üyesi Farmland National Beef Packing ve DMV USA şirketleri bu teknolojiyi pazara getirmeyi planlayarak aralarında anlaşma yapmışlar ve iki şirket laktoferrinin patentini almışlardır (Russell 2001). Laktoferrinin et ürünlerinde kullanılması günümüzde USDA ve FDA tarafından da uygun bulunmaktadır. Fakat bu ürün halen deneme aşamasında olup, gelecekte yaygınlaşacağı umut edilmektedir (Rasor 2001).

Laktoferrinin ilk kullanımı sığır eti ürünleri üzerinde planlanmakta olup (Ransom ve ark. 2001), en kısa zamanda Kaliforniya'da tavuk, domuz, balık ve taze ürünlerde teknolojiyi daha iyi nasıl uygulayacağını araştırmak üzere bir laboratuvar açılacağı, laktoferrin uygulamasının ucuz olduğu, kesim, işleme ve paketleme aşamalarında kullanılabileceği bildirilmektedir (Pszczola 2000, Anonim 2001). Fakat günümüzde üretimi oldukça sınırlı olduğundan kullanımı oldukça pahalıdır (Mermelstein 2001).

Laktoferrin katıldığı et ürününün rengini, kokusunu ve görünüşünü de değiştirmemektedir. Üretim alanında et ürünlerine kolayca uygulanan bu madde etin yüzeyinde kalarak üretim sonrası bakteriyel gelişmeye de engel olmaktadır (Pszczola 2000, Zimmerman 2000). Ransom ve ark. (2001), çoğu patojeni öldürmek için etkili miktarı 10 µg/mL olarak bildirmektedir.

Bu proteinin 45 gün ya da daha uzun süre eti bakteriyel kontaminasyona karşı koruduğu ve ürün satın alındıktan ve ambalajı açıldıktan sonra dahi et yüzeyinde kalan kısmının uzun süre güvenliği sağladığı bildirilmektedir. Oysa ki radyasyon ile muhafazada koruma ambalaj açılıncaya kadar sürmektedir. Ayrıca sprey uygulamak için kullanılan alet, radyasyon aletinin fiyatından daha ucuzdur (Mercola 2000).

Laktoferrin yapılan bir araştırmada askorbil palmitat ve dL-α tokoferolden daha kuvvetli antioksidant etkiye sahip olduğu ve gıda maddelerinde bu amaçla raf ömrünü arttırmak için kullanılabileceği bildirilmiştir. Fakat bu proteinin antioksidant vitaminler arasında sinerjik etki olup olmadığı halen bilinmemektedir (Steijns ve Hooijdonk 2000).

Laktoferrin Kanada şirketleri tarafından da potansiyel bir fonksiyonel gıda olarak görülmektedir (Culhane 1995).

Japonya'da da laktoferrin üretilmekte ve antimikrobiyel madde olarak satılmaktadır (Anonim 1998).

Zeitner (2000) de laktoferrini kullanımı gittikçe yaygınlaşan fonksiyonel bir gıda maddesi olarak bildirmektedir. Bundan başka gen yapısı değiştirilerek insan sütünde doğal olarak bulunan laktoferrin miktarına yakın derecede laktoferrin içeren süt üreten ineklerin oluşturulması ve elde edilen sütlerin enfeksiyon hastalıklarda, insan sütünün kullanıldığı yerlerde (O'brien 1998), bağışıklık sistemi bastırılmış AIDS hastalarında ve AIDS hastalığı bulaşmış bebeklerde kullanılması amaçlanmaktadır (Kort 1992). Fakat günümüzde ticari anlamda bebek mamalarında ve gıda katkı maddesi olarak kullanılmamaktadır (Anonim 1999).

4.SONUÇ

Bir süt proteini olan laktoferrinin gelecekte gıdalarda antimikrobiyel ve probiyotik özelliklerinden dolayı kullanımı yaygınlaşacaktır. Fakat bu ürünün özellikleri tam olarak günümüzde bilinmemektedir. Bu nedenle de bu konudaki araştırmaların yaygınlaşması bilim dünyasına yeni bir yön kazandıracaktır.

5.KAYNAKLAR

Abdullah F.B. ve Chahine J.M.2000. Transferrins: Iron release from lactoferrin. Journal of Molecular Biology. 303 (2) 255 - 266.

Anonim 1998. Functional foods and food safety in the news. National Institute of Nutrition. Summer 1998, 13 (3) Highlights. 1 - 1.

Anonim 1999. Development of The First Food and Nutrition Action Plan for The WHO European Region. WHO Consultation. Malta. 8 - 10 November 1999. 118 p.

Anonim 2001. Lactoferrin Starves E. Coli and Other Microbes. Alternatives to Food Irradiation. www.purefood.org/irrad/Alternatives.cfm

Bhimani, R.S. Venroy, Y. ve Furmanski P.1999. Influence of lactoferrin feeding and injection against systemic Staphylococcal infections in mice. Journal of Applied Microbiology. 86 (1) 135 - 144.

Culhane, C. 1995. Nutraceuticals / Functional Foods An Exploratory Survey on Canada's Potential. International Food Focus Limited Toronto, Ontario for Agriculture and Agri - Food, Canada. 85 p.

- Erga, K. S. Peen, E, Tenstad, O. ve Reed, R. K. 2000.** Lactoferrin and antilavtoferrin antibodies: Effects of lactoferrin on albumin extravasation in different tissues in rats. *Acta Physiologica Scandinavica*. 170 (1) 11 - 19.
- Kanyshkova, T.G. Semenov, D.V. Boneva, V.N. ve Nevinsky, G. A. 1999. Human milk lactoferrin binds two DNA molecules with different affinities. *FEBS Letters* 451 (1999) 235 - 237.
- Kort, L. 1992.** Transgenic Mammals. Woodrow Wilson Biology Institute. 107 p.
- Kuntz, L. A. 1999.** Ingredients to raise the microbial bar. *Food Product Design*. April 1999. Application. 1 – 1.
- Kuwata, H. Yip, T. Yip, C.L. Tomita, M. ve Hutchens, T.W. 1998.** Bactericidal domain lactoferrin: Detection, quantitation and characterization of lactoferricin in serum by SELDI affinity mass spectrometry. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 245 (1998) 764 - 773.
- Losnedahl, K. J. Wang, H. Aslam, M, Sixiang, Z. ve Hurley, W.L. 1996.** Antimicrobial Proteins in Milk. *Illinois Dairy Report 1996*, Department of Animal Sciences, University of Illinois, 5 p.
- Lygren, B. Sveier, H. Hjeltne, B. ve Waagbo, R. 1999.** Examination of the immunomodulatory properties and the effect on disease resistance of dietary bovine lactoferrin and vitamin C fed to Atlantic Salmon (*Salmo Salar*) for a short - term period. *Fish & Shellfish Immunology* 9 (2) 95 - 107.
- Marcola, J. 2000.** Keeping the Bugs off the Beef the Alternative to Irradiation. *Optimal Wellness Health News*. February 27, 2000. 142 p.
- Mermelstein, N.H. 2001.** Sanitizing Meat. *Food Tecnology* 55 (3) 64 - 68.
- O'brien, T. 1998.** Farm Animal Genetic Engineering. *Compassion In World Farming Trust*. 35 p.
- Percival, M. 1999.** Intestinal health. *Ansr - Applied Nutritional Science Reports*. 5 (5) 1- 6.
- Prieto, P.A. Kopchick, J.J. ve Kelder, B. 1999.** Transgenic animals and nutrition research. *J. Nutr. Biochem*. 10 (1999) 682 - 695.
- Pszczola, D.E. 2000.** Products & Technologies ingredients. *Food Tecnology*. 54 (5) 134 - 171.
- Ransom, J.R. Sofos, J.N. Belk, K.E. Scanga ve J.A. ve Smith, G. c. 2001.** Minimizing Microbiological Food Safety Risks: Potential For Preslaughter (Preharvest) Interventions. *Center For Red Meat Safety Colorado State Universty*.

Fort Collins, Co 80 523 - 1171 January 1, 2001. 111 p.

Pasor, A. 2001. NAMP Scientific Update: The Latest on Anti - Microbials. Meat Industry News Today: July 18, 2001.

Russell, J. 2001. Lean Trimmings. National Meat Association. 6 p.
Sallmann, F.R. Descamps, S. B. Patturs, F. Salmon, V. R. Branza, N. Spik, G. V.

Legrand, D. 1999. Porins OmpC and PhoE of Escherichia Coli as specific cell - surface targets of human lactoferrin. The Journal of Biological Chemistry. 274 (23) 16 107 - 16 114.

Shi, Y.Kong, W. ve Nakayama, K. 2000. Human Lactoferrin Binds and Removes the Hemoglobin Receptor Protein of the Periodontopathogen Porphyromonas gingivalis. The Journal of Biological Chemistry 275 (39) 30 002 - 30 008.

Steijns, J. M. ve Hooijdonk, A. C. V. 2000. Occurrence, structure, biochemical properties and technological characteristics of lactoferrin. British Journal of Nutrition. 84 (1) 11 - 17.

Tanaka, T. Omata, Y. Saito, A. Shimazaki, K. Igarashi, I. ve Suzuki, N. 1996. Growth inhibitory effects of bovine lactoferrin to Toxoplasma gondii parasites in murine somatic cells. J. Vet. Met. Sci. 58 (1) : 61 - 65.
Tsuda, H. Sekine, K. Ushida, Y. Kuhara, T. Takasuka, N. Iigo, M. Han, B. S.

Moore, M.A. 2000. Milk and dairy products in cancer prevention: Focus on Bovine Lactoferrin. Mutation Research 462 (2000)227 - 233.

Vegarud, G. E. Langsrud, T. ve Svenning C. 2000. Mineral - binding milk proteins and peptides; occurrence, biochemical and technological characteristics. British Journal of Nutrition 84 (1) 91 - 98.

Wang, H. ve Hurley L. 1998. Identification of lactoferrin complexes in bovine mammary secretion during mammary gland involution. Journal of Dairy Science. 81 (7) 1896 - 1903.

Yang, T. S. Wu, S. C. ve Wang, S. R. 2000. Serum and milk lactoferrin concentration and the correlation with some blood components in lactating sows. Research in Veterinary Science. 69 (1) 95 - 97.

Zeitner, R.H. 2000. Australia Food Processing Ingredients Sector Food Processing Sector. Hassall & Associates Pty Ltd. 24 p.

Zimmerman 2000. Cal poly team discovers new antibacterial agent. Info Meat 1 (11) 1 - 1.