

BAKTERİYOSİNLERİN ÖZELLİKLERİ, GIDA MİKROBİYOLOJİSİNDE KULLANIM ALANLARI VE İLERİ DÖNEMLERDEKİ KULLANIM POTANSİYELLERİ

CHARACTERISTICS OF BACTERIOCINS, APPLICATIONS IN FOOD MICROBIOLOGY AND THEIR POTENTIAL USAGE IN THE FUTURE

Hakan KULEAŞAN¹, M. Lütfü ÇAKMAKÇI²

¹Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta

²Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

ÖZET: Bakteriyosinler değişik bakteri türleri tarafından sentezlenen ve diğer bazı türler üzerinde inhibe edici özelliğe sahip maddelerdir. Son yıllarda daha sıklıkla görülen bazı gıda patojenleri üzerindeki etkileri nedeniyle gıdalarda kullanımları giderek artmaktadır. Özellikle *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* ve *Salmonella* spp. gibi patojenlerin gıdalarda üremelerinin engellenmesinde etkili olabildikleri gösterilmiştir. Gelişmiş ülkelerin gıda güvenliğinden sorumlu kurum veya kuruluşları bakteriyosinler üzerinde yoğunlaşan çalışmalara olan desteklerini arttırmışlardır. Ayrıca tüketicilerden gıdaların daha doğal yöntemlerle korunmaları ile ilgili artarak gelen talep bakteriyosinlere olan ilgiyi desteklemektedir.

ABSTRACT: Bacteriocins are the substances produced by different bacterial species having inhibitory effects on some other bacteria. Recently their usage in food is increasing because of their effects on some frequent food-borne pathogens. Their inhibitory effect on the growth of especially some pathogens such as *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* and *Salmonella* spp. in foods are shown. In developed countries governmental establishments which are responsible for food safety have increased their support for the studies concentrated on bacteriocin research. The increasing consumer demand regarding food preservation by using more natural methods is also supporting the present interest about bacteriocins.

GİRİŞ

Bakteriyosinler kapsamlı olarak "bakteriler tarafından sentezlenerek ortama salgılanan ve genelde yakın türlerin inhibisyonunda etkili kısa protein zinciri ve benzeri yapılarıdaki maddelerdir" şeklinde tanımlanmaktadır (GORRIS, 1995; KLAENHAMMER ve ark., 1997; EIJSINK ve ark. 1998). Bakteriler dışında diğer bazı mikroorganizmalar hatta bazı bitki ve hayvan türleri tarafından üretilen antibakteriyel etki gösteren pek çok maddenin (başta antibiyotikler) bulunuyor olmasına karşın "Bakteriyosin" terminolojisi içerisine yapılan tüm tanımlamalarda sadece bakteriler tarafından sentezlenen antimikrobiyel maddeler dahil edilmektedir. Bunun temel sebebi bakteriyosinlerin etki mekanizmasının ve genel olarak yapılarının antibiyotiklerden çok farklı olmasıdır.

Son yıllara dek bakteriyosin kelimesinin tanımlanması bilimsel çevrelerde çelişki ve tartışmalara neden olmuştur. Diğer bakterileri inhibe edebilme özelliğine sahip çeşitli maddeler başta laktobasiller, laktokoklar, pediokoklar ve enterokoklar olmak üzere pek çok farklı mikroorganizma türü tarafından üretilmektedir. Yapılan ve yayımlanan pek çok çalışma göstermektedir ki hemen her bakteri türü başka bazı türleri değişik ortam ve koşullarda inhibe edebilen veya gelişmelerini durdurabilen maddeler sentezleyebilmektedir. Bu nedenle bakteriyosin kelimesi tüm bakteri türleri tarafından sentezlenebilen antibakteriyel maddeleri içermektedir.

Günümüze kadar bakteriyosinler

Bazı bakterileri türlerinin diğer bakterileri inhibe etme özelliği çok eski bir geçmişe dayanmaktadır. (KLAENHAMMER, 1993). İlk bakteri-bakteri antagonistiği 1877 yılında Pasteur ve Joubert tarafından Antraks hastalığı taşıyan hayvanlarda *E. coli*'nin bazı suşları ile *Bacillus anthracis* arasında gözlenmiştir. Bir kimyasal

olarak ilk bakteriyosin 1925 yılında Andre Gratia tarafından belirlenmiş ve o zamanın tanımlamasına uygun olarak *E. coli* V (virulent) suşu tarafından üretildiği için colicin V olarak adlandırılmıştır (OSCARİZ ve PISABARRO, 2001). Gram pozitif bakterilerle diğer gram pozitif bakteriler arasındaki ilk antagonizm katı besiyerinde üreyen farklı *Staphylococcus* suşları arasında gözlenmiş ve gözlemi yapan bilim adamı Benjamin Babes tarafından 1885 yılında 'le *staphylococcus* empeche surtout le *staphylococcus*' stafilokok özellikle stafilokoku engeller şeklinde tanımlanmıştır. Bu bulguyu takip eden yıllarda bazı Stafilokok suşlarının *Corynebacterium diphtheriae* üzerinde inhibe edici özellikleri saptanmış ardından bu suşlar burun-boğaz sprelerinin üretiminde ve difteri enfeksiyonlarının tedavi edilmesinde kullanılmaya başlanmıştır (JACK ve ark., 1995).

1928 yılında laktik asit bakterileri tarafından üretildiği keşfedilen ilk antibakteriyel protein yapısındaki maddeye Nisin adı verilmiştir. Nisin ilk keşfedildiği yıllardan 1940'lı yıllara kadar klinik bir antibiyotik olarak değerlendirilmeye çalışılmış (GORRIS, 1995) 1944 yılında N grup streptokoklar (laktokoklar) tarafından üretildiği için N Inhibitory Substance olarak tanımlanmış ve NISIN adını almıştır (DURLU, 1993). Gıda koruyucusu olarak kullanımı daha sonraki yıllarda gündeme gelmiştir.

Bakteriler tarafından üretilen protein yapısına sahip antibakteriyel maddelerin genel olarak tanımlanması ve bu maddelerin adlandırılmasında "Bakteriyosin" kelimesinin ilk kullanımı 1953 yılında Pasteur Enstitüsü tarafından yapılan bir yayımda Frederick Jakobs ve Alexander Siminovitch adlı bilim adamları tarafından yapılmıştır.

1950'li yıllardan 1969 yılına dek bakteriyosin çalışmaları önemli bir aşama kaydetmemiş ancak bu yıldan sonra özellikle Nisin üzerinde yapılan çalışmalar bakteriyosinlerin kullanımlarının belirli bir potansiyel oluşturduğu farkedilmiş ve araştırmalar yoğunlaştırılmıştır. 1969 yılında FAO ve WHO teşkilatları Nisin'in gıdalarda koruyucu bir katkı olarak kullanımına izin vermiş, buna rağmen FDA bu bakteriyosinin ABD'de sınırlı kullanımına 1988 yılında izin vermiştir (GORRIS, 1996). Günümüze gelindiğinde, 1980'li yıllardan sonra bu konuda çalışan Todd Klaenhammer, Luc De Vuyst, Thomas Montville gibi bilim adamlarının başarılı çalışmaları önderliğinde yüzden fazla bakteriyosin bulunmuş ve bazıları gıda sanayi tarafından kullanıma alınmıştır. Bakteriyosinler gıda sanayinde giderek artan bir uygulama alanına ve uygulama yöntemine doğru ilerlemektedirler.

BAKTERİYOSİNLERİN TEMEL ÖZELLİKLERİ

Bakteriyosinlerin Sınıflandırılması

Daha önce belirtildiği gibi bakteriyosin ve benzeri inhibitör maddeler başta laktobasiller olmak üzere, laktokoklar, pediokoklar, leukonostoklar, bacilluslar, stafilokoklar ve hatta bazı *E. coli* suşları tarafından üretilmektedirler. Günümüzde tanımlanarak adlandırılmış yüzden fazla bakteriyosinin var olmasına karşın bunların büyük bir çoğunluğu laktik asit bakterilerince üretilmektedir. Sadece Laktik asit bakterileri ele alındığında ise Laktobasiller sayıca bakteriyosin üretme yeteneğine en fazla sahip olan gruptur. Laktobasillerin bu özelliği sadece çok çeşitli olmalarından kaynaklanmamaktadır. Gıdalarda kullanımları güvenli olarak kabul edilen (GRAS) mikroorganizma türlerinin başında olduğu için Laktobasiller daha fazla sayıda araştırmada yer almıştır (GORRIS, 1995). Bakteriyosin üretimindeki bu hakim durum nedeniyle Laktobasiller ve Laktokoklar tarafından üretilen bakteriyosinlerin yapıları sınıflandırmada temel olarak ele alınmışlardır. Günümüzde bu konuda önde gelen tüm bilim adamları bakteriyosinlerin sınıflandırılmasında bu konudaki etkin çalışmaları nedeniyle Klaenhammer tarafından yapılan gruplandırmayı esas olarak kabul etmişler ve 'Klaenhammer Sınıflandırması' olarak adlandırmışlardır. Bu sınıflandırmada gram pozitif bakteriler tarafından sentezlenen bakteriyosinler kimyasal yapılarına, molekül büyüklüklerine, termostabilitelerine, etki mekanizmalarına ve enzimatik hassasiyetlerine göre 4 ana sınıfa ayrılmaktadır. Gram negatif bakteriler tarafından sentezlenen bakteriyosinler ise ayrı bir grup olarak değerlendirilmektedir.

Grup I Bakteriyosinler

Lantibiyotikler de denilen bu tür bakteriyosinler yapılarında translasyon sonrası moleküler işlemeye tabi tutulan klasik amino asit yapısından farklı dehidroalanin, dehidrobütirin, lanthionine veya methyl-lanthionine yapılarını içerirler. Grup Ia ve Ib olmak üzere iki alt grubu mevcuttur. Grup Ia bakteriyosinleri ince uzun vida şekilli amphipatic, kısa katyonik peptid zincirinden oluşur. Genellikle hücre membranlarına etkiyerek hedef hücrelerin inihbisyonunu sağlarlar. Nisin lantibiyotiği bu grubun en önemli üyesidir. Grup Ib bakteriyosinleri ise anyonik veya nötral peptidlerden oluşur ve küresel yapıdadırlar. Farklı bölgelerinde içerdikleri Grup I bakteriyosinlerinin moleküler büyüklükleri 1959 (duramycin) ile 4635 (carnocin UI49) dalton arasında değişir (OSCARIZ ve PISABARRO, 2001). Grup I bakteriyosinlerinin bazıları üyeleri mersacidin, actagardin ve son yıllarda dişlerde plak sorununa karşı kullanılan *Streptococcus mutans* bakteriyosinleridir.

Grup II Bakteriyosinler

Bu gruba giren bakteriyosinler 10 kDa'dan küçük, sıcaklığa dayanıklı ve modifiye amino asit içermezler. Bu grup da kendi içerisinde dört alt gruba ayrılmıştır (CALLEWAERT ve De VUYST, 1999). Ila alt grubu bakteriyosinler anti-listeria etkinliğine sahiptir ve peptid dizisinde N-ucunda YGNGV dizisini içerirler. Genellikle sitoplazmik membran üzerinde iyonik dengeyi bozmak ve organik fosfatın hücre dışına akmasını sağlamak suretiyle inhibitör etkilerini gösterirler. Pediocin Ach/PA1, mesentericin Y 105, sakacin A ve P, carnobactericin B2 bu alt gruba dahil başlıca bakteriyosinlerdir.

Ilb alt grubuna dahil bakteriyosinler aktiviteleri için hücre membranında pore kompleksleri oluşturan iki aktif peptid zincirine ihtiyaç duyarlar. Bu peptid zincirlerinden her biri bireysel olarak aktivite gösterebildikleri gibi birlikte sinerjist etki gösterirler. Bu grubun en önemli temsilcileri enterocin L50A-enterocin L50B, Lactococcin M- Lactococcin N ve plantaricin EF- plantaricin JK ikili bakteriyosinleridir.

Ila ve Ilb alt gruplarına girmeyen diğer Grup IIc bakteriyosinleri iki gruba ayrılarak Grup IIc1 ve Grup IIc2 alt gruplarını oluşturur. Bu alt gruplardan birincisi (IIc1) peptid zinciri yapısında bir veya iki sistein amino asiti içerir. Bu nedenle bu gruptaki bakteriyosinlere sırasıyla thiolbotics ve cystibiotics adı verilir. İkinci alt grup (IIc2) ise sistein içermeyen peptid dizilerinden oluşan bakteriyosinleri içerir. Grup II bakteriyosinlerinin yukarıda değinilen alt gruplarının kimyasal yapıları benzer olmakla birlikte üretim mekanizmalarında temel bazı farklılıklar mevcuttur. Bu nedenle Grup II bakteriyosinleri dört alt gruba ayrılmıştır.

Grup III Bakteriyosinler

Bu gruba giren bakteriyosinlerin büyük bir çoğunluğu Laktobasiller tarafından sentezlenir. Molekül büyüklükleri 30 kDa'dan daha büyüktür ve ısıya duyarlı peptid zincirlerinden oluşur. Bu grubun en önemli üyeleri helvetisin ve acidophilin bakteriyosinleridir.

Grup IV Bakteriyosinler

Bu grubu diğer üç gruptan ayıran en önemli özellikleri yapılarında glikoproteinleri ve lipoproteinleri içermeleri ve aktiviteleri için protein olmayan bazı ilave moleküllere gereksinim duymalarıdır (OSCARIZ ve PISABARRO, 2001).

Gram Negatif Bakteriler Tarafından Üretilen Bakteriyosinler

Gram negatif bakteriler tarafından üretilen bakteriyosin sayısı gram pozitif bakterilere oranla çok azdır. Bakteriyosin üretme yeteneklerinin ve çeşitliliklerinin az olması veya üreten organizmaların güvenli olarak (GRAS) sayılmamaları nedeniyle gram negatif bakteriler üzerinde yapılan bakteriyosin çalışmaları yaygın değildir. Gram negatif bakterilerden en fazla bakteriyosin üretim yeteneğine *Enterobacteriaceae* grubu üyeleri sahiptir. Bakteriyosin tarihinde ilk tanımlanan bakteriyosin *E coli* tarafından üretilen colicindir. Colicin'in ilginç bir özelliği ise sentezinin bakterinin SOS mekanizması tarafından kontrol edilmesi ve çoğu zaman spesifik membran reseptörlerine bağlanarak kendisini üreten organizmayı da öldürmesidir (suicide mechanism). Bu

grup içerisindeki bir diğer önemli bakteriyosin ise yapısı Grup II üyelerine benzeyen microsin'dir. Gram negatifler tarafından üretilen bakteriyosinler ısıya oldukça dayanıklı, lantibiyotik grubu içermeyen peptidlerdir. Bunların gram pozitif mikroorganizma bakteriyosinlerinden farklı olarak en önemli özellikleri genelde gram negatif bakteriler üzerinde etkili olabilmeleridir (BIERBAUM, 1999).

Bakteriyosin Sentezinin Esasları ve Etki Mekanizmaları

Halen günümüzde her hangi bir bakterinin bakteriyosin veya benzeri bir maddeyi neden ürettiği, nasıl kullanmaya başladığı tartışılmakta olan bir konudur (KLAENHAMMER, 1993; GORRIS, 1995; BIERBAUM, 1999). Bu sorunun cevabını bulmak amacıyla pek çok çalışma yapılmış ve teoriler ortaya konulmuştur. Bakteriyosinlerin üretim mekanizmaları, amino asit dizileri, etki mekanizmaları, üretici genlerin RNA dizilişleri incelenmiş, ve genel olarak pek çok ortak özelliklere sahip oldukları bulunmuştur. Örneğin farklı bakterilerdeki bakteriyosin bağışıklık genlerinin yapıları birbirine benzerlik göstermektedir. Aynı şekilde yapıları benzer bakteriyosinlerin farklı mikroorganizmada benzer genetik kaynaklardan (plasmid, ana kromozom vs) üretildiği ortaya konmuştur (BIERBAUM, 1999). Ancak son yıllarda yapılan tüm çalışmalar bakteriyosin üretiminin büyük bir yüzde ile plasmid kökenli olduğunu göstermiştir (JACK ve ark. 1995). Bakteriyosinlerin neden üretildiğine ilişkin olarak geliştirilmiş teorilerden bir tanesine göre bakteriyosinler tamamen tesadüfi olarak üretilmişlerdir ve protein mekanizmasının birer yan ürünüdür. Organizmalar plasmidlerinde oluşan bu tesadüfi mutasyon sayesinde aynı ortamda bulunan refakatçi floradan kurtulmuş ve mikroorganizmanın ortama hakim olma şansı artmıştır. Özellikle yakın türlerin inhibisyonu bu teoriyi desteklemektedir. Bakteriyosin sentezini kontrol eden gen bölgelerinde pek çok benzerlikler olması yakın türler arasında plasmid aktarımlarının olduğunu ve zamanla bu esansiyel bölgeler dışında kalan bölgelerde küçük mutasyonlarla bakteriyosin çeşitliliğinin sağlandığı düşünülmektedir.

MALİK ve ark. (1994) yaptığı bir çalışmaya göre bazı bakteriyosinler (*helveticin*) bakterinin sahip olduğu plasmidlerin yok edilmesine rağmen üretilmeye devam etmiştir. Bu da göstermektedir ki bazı bakteriyosinler kromozomal kökenlidir. Farklı bakteriyosinler üzerinde yapılan bazı çalışmalarda da bu çalışmayı destekleyen bulgular elde edilmiştir.

Bakteriyosinlerin genetik determinantları farklı olmakla beraber üretimlerindeki temel proses aynıdır. RNA tarafından kodlanan polipeptid dizisi öncü protein olarak ayrıldıktan sonra bir moleküler sinyalizasyona tabi tutulmakta, çeşitli modifikasyonların ardından yapısındaki sistein sayısına göre son şeklini kazanmakta ve sec-dependent (secretion) mekanizması yardımı ile hücre dışına salgılanmaktadır (PARENTE, 1999). Yapılarında lanthionine veya β -methylanthionine gibi özel bazı aminoasitler bulunduran bakteriyosinlerin etki mekanizmaları ve stabiliteyi farklılıklar göstermektedir. Bazı bakteriyosinlerin üretimlerinin daha gelişmiş sistemlerle (katabolik represyon, spesifik reseptör bölgeleri) regüle edildiği yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (EIJNSINK, 1998).

Daha önce de belirtildiği gibi bakteriyosinlerin sınıflandırılmasında onların etki mekanizmaları da dikkate alınmaktadır. Etki mekanizmasının şekli bir bakteriyosinin aynı zamanda etkilediği bakteriyel spektrumu da doğrudan etkilemektedir. Nisin ve benzeri bazı bakteriyosinler genel olarak hücre duvarına etkidikleri ve bu etki sırasında hücrenin herhangi spesifik bir reseptörüne bağlanma gereksinimleri olmadığından dolayı farklı pek çok bakteriyel türü inhibe edebilmektedir. Lantibiyotik sınıfı (Grup I) bakteriyosinler hücre membranında porlar oluşturmak suretiyle sitoplazmanın iyon dengesini bozar ve inhibisyon etkilerini gerçekleştirirler. Küçük peptid zincirlerinden oluşan bazı bakteriyosinlerin (özellikle Laktobasil bakteriyosinleri) gram pozitif hücrelerin duvarları tarafından adsorbe edildikleri ve bu şekilde inhibe ettikleri ortaya konmuştur (JACK ve et.al. 1995). Yapılan bazı çalışmalarla bu şekilde etki gösteren bakteriyosinlerin etkilerini ancak belli konsantrasyonlarda gösterebildikleri ortaya konmuştur. Ancak bu etki şeklinde inhibisyon mekanizması tam olarak anlaşılabilir değildir.

Colicin gibi bazı bakteriyosinler iki temel şekilde etkilirler. Bunlardan ilki bakteriyosin molekülü hücre membranında iyon kanalları oluşturur ve sitoplazma kaybı ile hücre tahrip olur. Bu tip inhibisyonda spesifik reseptör gerekmemektedir. Colicinlerin sahip olduğu ikinci etki mekanizmasında ise bakteriyosin molekülü ancak duyarlı türdeki bir mikroorganizmanın hücre membranındaki spesifik bir bölgeden sitoplazmaya girer ve nükleaz aktivitesi göstererek hücreyi inhibe eder (JACK et.al 1995). Bir bakteri suşunun bazı bakteriyosinlere direnç (immunity) gösterebiliyor olması bazı bakteriyosinlerin ancak belli bazı hücre reseptörlerine veya spesifik dış membran yapılarına bağlanarak etki gösterebildiklerinin bir kanıtıdır.

Genel olarak lantibiyotik olmayan bakteriyosinlerin etki mekanizmalarının tam olarak belirlenebilmesi için 4 temel sorunun cevaplandırılabilmesi gerekir.

- Aynı bakterinin bir suşu belirli bir bakteriyosinden etkilenirken farklı bir suşunun direnç gösterebilmesinin sebebi veya sebepleri nedir?
- Her ikisi de duyarlı suşlardan bir tanesi aynı bakteriyosin muamelesinde lizis olurken diğeri neden olmayabilmektedir?
- Stoplazmaya girebilen bakteriyosinler hücre membranını ne tür bir mekanizmayla geçmektedirler?
- Lantibiyotik olmayan bakteriyosinlerin özellikle Gram pozitif hücrelerde duyarlı, dayanıklı veya bakteriyosini üreten organizmanın hücre membranındaki birikimlerinin sebebi nedir?

GIDALARDA BAKTERİYOSİNLER

Bakteriyosinlerin ilk olarak fark edildikleri yıllardan bu yana yapılan çalışmalarda temel ilke 'bir bakterinin bir diğeri inhibe etmesi' olmuştur. Bu ilkedен yola çıkılarak yapılan çalışmaların hemen hepsinde amaç patojen mikroorganizmaların inhibe edilmesi veya durdurulmasıdır. Bütün çalışmalarda her hangi bir bakteriyosinin varlığı belirlendikten sonra araştırılan ilk şey o bakteriyosinin diğeri organizmalar üzerindeki etkileri olmuştur. Bir bakteriyosinin etki spektrumunun tam olarak belirlenmesi ancak o bakteriyosinin diğeri tüm mikroorganizmalara karşı denenmesi ile ortaya çıkarılabilir. Bu işlem teorik olarak mümkün olsa da uygulamada mümkün değildir. Bu nedenle yapılan çalışmalar ilk hedef olarak insan sağlığını en çok tehdit eden patojenleri seçmektedir. Özellikle uzun yıllar sorun olan *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens*, ve son yıllarda artarak önem kazanan *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni* gibi mikroorganizmaların inhibe edilmesi bakteriyosin çalışmalarının başta gelen hedefleri olmuştur. Ayrıca bazı bakteriyel sporların inhibisyonu da bu araştırmaların konuları arasına alınmıştır.

Günümüzde bakteriyosinlerin gıdalardaki kullanım olanaklarının araştırıldığı pek çok çalışma devam etmekte olup bu çalışmalar özellikle süt ve et ürünleri ağırlıklıdır. Patojen mikroorganizma bazında son yıllarda özellikle *L. monocytogenes* üzerine etkili bakteriyosinlerle ilgili çalışmaların sayısında büyük bir artış gözlenmektedir. Tarelli ve ark. (1994), yaptıkları bir çalışmada süt ürünlerinde starter olarak kullanılan bakterileri etkilemeyen ancak çiğ sütlerde bulunabilecek patojenlerden *L. monocytogenes* ve *Clostridium tyrobutyricum*'u inhibe edebilen bakteriyosinler üzerinde çalışmışlardır. *Enterococcus faecium* tarafından sentezlenen 5 ayrı bakteriyosin bulmuşlardır. Bu bakteriyosinlerden bazıları rennetten ve yüksek sıcaklıktan etkilenmemekte ve bakteriyosinler inkübasyon sonrasında dahi etkilerini kaybetmemektedir. *Lactobacillus sake* tarafından üretilen sakacin bakteriyosini et ürünlerinde kullanılmış ve işlenmemiş etlerin raf ömrünü uzatmıştır, özellikle de patojenlerden *L. monocytogenes*'in üremesini engellemiştir (GORRIS, 1995). Aynı bakteriyosin vakum ambalajda paketlenmiş etlerde ve Alman tipi sosislerde (mettwurst) de başarılı sonuçlar sağlamıştır. Bu ürünlerde *L. monocytogenes*, *Staph. aureus*, *Cl. botulinum*, *Cl. sporogenes* gibi patojenlerin üremesini büyük ölçüde engellemiştir. Bir başka çalışmada *Pediococcus PA-1* bakteriyosini üreten *P. acidilactici* kültürü *Cottage* peynirlerinde *L. monocytogenes* üremesinin engellenmesi amacıyla toz ekstrakt halinde kullanılmış ve bakteri sayısının 100-1000 adet/ml olması halinde etkin bir koruma sağlanmıştır (GÜRSEL, 1999). *L. monocytogenes* üzerinde diğeri bazı bakteriyosinlerin de çeşitli gıdalarda farklı oranlarda etkili oldukları çeşitli çalışmalarda kanıtlanmıştır.

Soğuk koşullarda depolanan kıymalarda yapılan bir çalışmada *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella infantis* gibi patojenlerin bakteriyosinlerin kullanımı ile inhibe edildikleri ve raf ömrünün dikkate değer biçimde uzadığı saptanmıştır (MATTILA, 1991).

Günümüze değin bakteriyosinler içerisinde en fazla kullanım alanına sahip olanı kuşkusuz nisin'dir. Nisin ısıl stabilitesi, asitlik stabilitesi ve geniş etki spektrumu dolayısı ile özellikle süt sanayinde oldukça geniş bir kullanım alanına sahiptir. Ancak nisin kimyasal yapısı nedeniyle antibiyotik benzeri bir madde olarak kabul edilmiş kullanımı kısıtlanmıştır. Ayrıca nisinin nötral pH'larda etkili olamaması ve minimal etki dozunun (MIC) yüksek olması pek çok gıda maddesindeki kullanımını imkansız kılmaktadır (GÜRSEL, 1999). Nisin bakteriyosini özellikle *Clostridium* cinsi bakterilerden *C. botulinum*, ve sporları ile *C. butyricum* ve *C. tyrobutyricum* üzerinde etkili olup *L. monocytogenes* üzerinde de ihibe edici etkileri saptanmıştır.

Son yıllarda yapılan iki çalışmadan bir tanesinde Coma ve ark. (2000), Vignolo ve ark. (2000) *Listeria innocua* ve *S. aureus* inhibisyonu amacıyla tüketilebilir film ambalaj yapısına (hidroksipropilmetilselüloz) bakteriyosin karıştırarak deneme yapmışlar ve başarı sağlamışlardır. Chung ve ark. (1997) tarafından yapılan diğer çalışmada ise nisin ve pediyo-sin bakteriyosinlerini hazır patates pürelisinde kullanmışlar ve bu üründe *C. botulinum* gelişmesini önlemişlerdir.

5. SONUÇ

Yukarıda anlatılan örnek- lere benzer bakteriyosinlerin kulla- nıldığı ve uygulamada başarı sağ- lanan pek çok çalışma yapılmış ve yapılmaktadır. Bakteriyosinlerin gıdalardaki kullanımı günümüzde dünya genelinde gıda üreticisi ül- kelerin Gıda güvenliği ve İnsan sağlığından sorumlu devlet ku- rum- ları mevcut bakteriyosinlerin henüz hiç birisine kullanım izni vermemiş- tir. Bakteriyosinler arasında sadece nisinin kullanımı açısından sınırlı da olsa bir izin mevcuttur.

Baktriyosinlerin son yıllarda yapılan çalışmalarla gıda içerisinde- deki kullanımı ile birlikte ambalaj materyali ile içerisinde veya yüze- yindeki kullanımı çalışmalarında özellikle ön plana çıkmıştır. Geliş- miş ülkelerde gıda bozulmaları ve gıda zehirlenmeleri en aza indiril- miş olsa da kanser, kalp hastalıklar- ı, ülser, astım gibi hastalıkların ve bazı psikolojik sorunların bu ülkelerde kronikleşmesi nedeniyle

Çizelge 1. Günümüzde Kadar Tanımlanmış Başlıca Bakteriyosinler

Bakteriyosin	Sentezleyen Bakteri	Kaynak
Acidocin A	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Mattijasic, 1998
Acidophilucin A	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Klaenhammer, 1993
Bavaricin	<i>L. bavaricus</i>	Tarelli, 1994
Brevicin	<i>L. brevis</i>	Klaenhammer, 1993
Carnobacteriocin	<i>Carnobacterium divergens</i>	Guyonnet, 2000
Carnocin U149	<i>Carnobacterium piscicola</i>	Bierbaum, 1999
Cloacin	<i>Enterobacter cloacae</i>	Riley, 1998
Colicin	<i>Escherichia coli</i>	Riley, 1998
Curvacin a	<i>Lactobacillus curvatus</i>	Yang, 1994
Enterocin	<i>Enterococcus faecium</i>	Tarelli, 1994
Epidermin	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Bierbaum, 1999
Gallidermin	<i>Staphylococcus gallinarum</i>	Bierbaum, 1999
Helveticin J	<i>L. helveticus 481</i>	Klaenhammer, 1988
L. fermenti bakteriy.	<i>L. fermenti</i>	Klaenhammer, 1997
Lactacin B	<i>L. acidophilus</i>	Klaenhammer, 1993
Lactacin F	<i>L. acidophilus</i>	Klaenhammer, 1993
Lactacin 481	<i>Lactococcus lactis</i>	Bierbaum, 1999
Lactocin 27	<i>L. sakei (LA5, 148)</i>	Parente, 1999
Lactocin S	<i>L. helveticus</i>	Klaenhammer, 1993
Leucocin	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Parente, 1999
Marcecin	<i>Serratia marcescens</i>	Riley, 1998
Mersacidin	<i>Bacillus sp</i>	Bierbaum, 1999
Mesentericin	<i>Leuconostoc. mesenteroides</i>	Klaenhammer, 1993
Mutacin	<i>Streptococcus mutans</i>	Bierbaum, 1999
Nisin A	<i>Lactococcus lactis</i>	Klaenhammer, 1993
Nisin Z	<i>Lactococcus lactis</i>	Klaenhammer, 1997
Pediocin	<i>Pediococcus acidilactici</i>	Guyonnet, 2000
Plantaricin EF	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Malik, 1994
Plantaricin JK	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Malik, 1994
Reuterin	<i>Lactobacillus reuteri</i>	Ganzle, 2000
S Pyocin	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Riley, 1998
Sakacin	<i>Lactobacillus sake</i>	Guyonnet, 2000
Salivaricin	<i>Streptococcus salivarius</i>	Bierbaum, 1999
Subtilin	<i>Bacillus subtilis</i>	Bierbaum, 1999

kimyasal koruyucuların her geçen gün azaltılması daha doğal koruyucuları gündeme taşımaktadır. Gıda üretim tekniklerinin ve proseslerin değişmesi nedeni ile problemlere yol açan patojenlerin öncelik sırası değişmektedir. Bu durum farklı doğal koruyucuların Özellikle ABD, Hollanda, Danimarka, Almanya, İsviçre gibi gıda üretim teknolojilerinin en üst düzeyde olduğu ülkelerde devlet kuruluşları tarafından bakteriyosinlerle ilgili olarak verilen büyük maddi kaynaklı projeler, bakteriyosinler konusunda gelecekte ilgili düşünceleri gelişmiş ülkelerde ortaya net bir şekilde koymaktadır. Ülkemizin de çok zengin bir doğal laktik asit bakterisi florasına sahip olduğu düşünülür ise bu konu üzerinde durulmalı ve çalışmalar artırılmalıdır.

KAYNAKLAR

- BIERBAUM, G., 1999. Antibiotische Peptide-Lantibiotica. *Hemoterapie Journal.*, 8. Jahrgang Heft 6, pp 204-209 Bonn.
- CALLEWAERT, R., HOLO, H., DEVREESE, B., BEEUMEN, J. V., VUYST, L.D, 1999. Characterization and production of amylovorin amylovorus DCE 471 by a novel three-step method. *Microbiology* ,145, 2559-2568.
- CHUNG, Y.K., and A.E. YOUSEF, 2001. Use of bacteriocins to control *Clostridium botulinum* in cooked potatoes. *Ohio State Univ Press.* 37D-19.
- COMA, V., I. SEPTI, P. PARDON, A. DESCHAMPS, F. H. PICHAVANT, 2000. Antimicrobial Edible packaging based on cellulosic ethers fatty acids and nisin incorporation to inhibit *Listeria innocua* and *Staphylococcus aureus*. Home page v.coma@ipln.u-bordeaux.fr.
- DE VUYST, L., R.I. CALLEWAERT, 1999. Expanded bed Adsorption as a Unique Unit Operation for the Isolation of Bacteriocins from Fermentation Media. *Biopreservation*, 8; 159-168.
- DURLU, F. 1993. *Lactococcus lactis*'de nisin üretiminin genetik determinantları üzerinde yapılan son çalışmalar ve bulgular. Seminer. Ankara Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- EİJŚINK, V.G.H., M. SKEİE, H.P. MİDDELHOVEN, M.B. BRURBERG, I.F. NES, 1998. Comparative Studies of Class Iia Bacteriocins of *Lac. A. Bacteria*. *Applied and Environmental Microb.* Sept. 1998 p. 3275-3281.
- GANZLE, M.G., A. HOLTZEL, J. WALTER, G. JUNG, P.W. HAMMES, 2000. Characterization of reuterin produced by *L. reuteri* LTH 2584. *Appl. and Env. Microb.* Oct. 2000 p. 4325-4333.
- GORRIS, G.M.L., 1995. Bacteriocins: Potential Applications In Food Preservation. Kitap. food preservation by combined processes. Final Report Flair. Concerted Action No:7 Subgroup B.
- GUYONNET, D., C. FREMAUX, Y. CENATIEMPO, J.M. BERJEUD, 2000. Method for rapid purification of Class II bacteriocins and comparison of their activities. *Appl. and Env. Microb.* Apr. 2000. P. 1744-1748.
- GÜRSEL, A. 1999. Laktik ve propiyonik asit bakterileri tarafından üretilen bakteriyosinler ve süt teknolojisi alınındaki uygulamaları. *Gıda* (1999). 24(6):399-410.
- JACK, R. W., J.R. TAGG, B. RAY, 1995. Bacteriocins of Gram Positive Bacteria. *Microbiological Reviews* June 1995, p. 171-200.
- KLAENHAMMER, T.R. 1988. Bacteriocins of Lactic acid bacteria. *Biochimie* 70: 337-349.
- KLAENHAMMER, T.R. 1993. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology reviews* 12:39-86.
- KLAENHAMMER, T.R., C. AHN, C. FREMAUX, K. MILTON, 1997. Molecular Properties of *Lactobacillus* Bacteriocins. NATO ASI Series. Vol. H65. Bacteriocins, Microcins and Lantibiotics p.37-58.
- MALIK, R.K., N. KUMAR, R.K. NAGESWARA, D.K. MATHUR, 1994. Bacteriocins- Antibacterial Proteins of LAB: A Review. *Microbiologie-Aliments Nutrition*. Vol 12, 117-132.
- MATIJASIC, B. B., I. ROGEJL, I.F. NES, H. HOLO, 1998. Isolation and characterization of two bacteriocins of *L. acidophilus* LF221. *Appl. Microb. Biotech.* 49: 606-612.
- MATTİLA-SANDHOLM, T., E. SKYTÄ, 1991. The Effect of Spoilage Flora on the Growth of Food Pathogens in Minced Meat Stored at Chilled Temperature. *Lebens-Wiss. U. Technology.* 24.116-120.
- OSCARIZ, J. C., A. PISABARRO, 2001. Classification and mode of action of membrane- active bacteriocins produced by gram-positive bacteria. *Review Article. Springer-Verlag and SEM.* 12:123-127.
- PARENTE, E., A. RICCIARDI, 1999. Production recovery and purification of bacteriocins From lactic acid bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnology.* 52: 628-638.
- RILEY, M., 1998. Molecular Mechanism of bacteriocin evolution. *Annual review of Genetics* v. 32 p. 253-278. ISSN:0066-4197.
- TARELLI, T. G., D. CARMİNATI, G. GIRAFFO, 1994. Production of bacteriocins active against *L. monocytogenes* and *L. innocua* from dairy enterococci. *Food Microbiology*, 11, 243-252.
- VIGNOLO, G. , J. PALACIOS, M.E. FARIAS, F. SESMA, U. SCHILLINGER, W. HOLZAPFEL, G.
- OLIVER. 2000. Combined effect of bacteriocins on the survival of various *Listeria* species in broth and meat system. *Current microbiology* 41:410-416.
- YANG, R., M.C. JOHNSON, B. RAY, 1992. Novel method to extract large amounts of bacteriocins from lactic acid bacteria. *Appl. and Envr. Microb.* Oct. 1992 pp. 3355-3359.
- YANG, R., B. RAY, 1994. Factors Influencing Production of Bacteriocins by Lactic Acid Bacteria. *Food Microbiology*, 11: 281-291.