

## **SÜTTE BULUNAN DOĞAL ANTİMİKROBİYAL SİSTEMLER VE BUNLARIN GIDA SANAYİNDE KULLANIMI**

**Başak YILMAZ<sup>1\*</sup>, Halil TOSUN<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği, 45140 Manisa, TÜRKİYE,

**Özet:** Süt, dişi memeli hayvanların meme bezlerinden salgılanan, kendine özgü tat, koku ve kıvamda olan hemen hemen tüm besin öğelerini yeterli ve dengeli bir şekilde bünyesinde bulunduran bir gıda maddesidir. Süt sadece sahip olduğu değerli besin maddelerinden dolayı değil yapısında bulundurduğu antimikrobiyal maddelerden dolayı da önemli bir gıda maddesidir. Sütte en çok bulunan doğal antimikrobiyaller laktoferrin, laktoperoksidaz ve lizozimdir. Son yıllarda bu maddeler üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Bu derlemede sütte bulunan antimikrobiyal sistemlerin yapısı ve özellikleri, antimikrobiyal aktiviteleri ve gıda sanayinde kullanım alanları hakkında bilgi verilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Süt, laktoferrin, laktoperoksidaz, lizozim.*

## **THE NATURAL ANTIMICROBIAL SYSTEMS IN MILK AND THEIR UTILIZATION IN FOOD INDUSTRY**

**Abstract:** Milk is a foodstuff, secreted by mammary glands of female mammals, includes almost all nutrients by adequate and balanced manner and has own taste, odor and consistency. Milk is an important foodstuff not only its owned valuable nutrients but also antimicrobial agents that have in its structure. The most abundant natural antimicrobials in milk are lactoferrin, lactoperoxidase and lysozyme. In recent years, many studies have been done on these substances. this review informs about structure and properties of antimicrobial systems in milk and , antimicrobial activities and this systems application areas in food industries.

**Keywords:** *Milk, lactoferrin, lactoperoxidase, lysozyme.*

## 1. GİRİŞ

Süt, yeni doğanlar ve yetişkinlerin beslenmesinde önemli olan biyolojik aktif maddeler ve immün sistemi destekleyici bileşikler içerir. Bu bileşikler biyoaktif proteinler, biyoaktif lipitler, laktoferrin (LF), laktoperoksidaz, lizozim, N-asetil-β-D-glukozaminidaz (NAGase) ve nisin'dir. Laktoperoksidaz ve lizozim sütte en çok bulunan antimikrobiyal özellikli enzimler, laktoferrin ise en çok bulunan antimikrobiyal özellikli peptittir [1].

Laktoferrin, demir bağlayıcı özelliğe sahip bir glikoproteindir [2]. Laktoferrin, parazitler, mantarlar, virüsler ve bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite gösterir, aynı zamanda antiinflamatuvar ve antikanser aktiviteye de sahiptir [3].

Laktoperoksidaz ise bir enzim olup hidrojen peroksit ve tiyosiyonat ile birlikte antimikrobiyal bir sistem oluşturmaktadır [4]. Laktoperoksidaz enzimi, çiğ süt kalitesini koruma amaçlı olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra peynir vb. süt ürünlerinde kullanımı konusunda da birçok çalışma mevcuttur [5].

Lizozim sütte doğal olarak bulunan bir diğer antimikrobiyal bileşik olup virüslerin ve hemen hemen tüm canlıların dokularından, salgılarından veya hücrelerinden saflaştırılan hidrolitik bir enzimdir [6]. Lizozim mikroorganizmalar üzerinde doğrudan veya dolaylı olarak enzimatik veya enzimatik olmayan etki göstermektedir [4].

Sütte bulunan bu antimikrobiyal sistemlerden gıda sanayinde, ambalaj sektöründe ve bakteri inaktivasyonunda yararlanılmaktadır. Bu bileşiklerden olan biyoaktif peptitler ise, immün sistem yetmezliği, mineral emilimi bozukluğu, diş hastalıkları, tromboz, hipertansiyon ve ishalin tedavisinde nutrasötikler olarak tıp alanında kullanılabilir [7].

Bu makalede sütte bulunan doğal antimikrobiyal sistemlerden laktoferrin, laktoperoksidaz ve lizozimin yapı ve

özellikleri, antimikrobiyal aktiviteleri ve gıda sanayinde kullanım alanları hakkında bilgi verilecektir.

## 2. LAKTOFERRİN

### 2.1. Laktoferrinin Yapısı ve Özellikleri

Laktoferrin, Fe<sup>+3</sup> iyonunu transfer etme ve bağlama yeteneğine sahip bir proteindir [2]. Bu protein, köpek ve sığan hariç tüm memeli türlerinin sütleri içinde saptanmıştır [8]. Büyükbaş hayvanların sütü 0.02 – 0.35 mg/ml düzeyinde laktoferrin içermektedir [4].

Serbest laktoferrin, demir iyonlarını ve bikarbonik iyonları bağlayıcı özelliğe sahip olup molekül ağırlığı 76500'dür. Düşük pH'larda bile demiri bağlama yeteneği sayesinde bakterilerin metabolik aktiviteleri nedeniyle pH 4.5'in altına düşen ortamlarda inflamasyon ve enfeksiyon bölgelerinde büyük önem taşır. LF, tripsin ve benzeri enzimler ile beraber proteolitik degradasyona karşı önemli bir direnç gösterir. Direnç seviyesi, demir doygunluk derecesi ile orantılıdır [4].

LF, demir metabolizmasının yanı sıra hücre savunma mekanizmasında da rol oynamaktadır. Buradaki rolü bakteriyostatik ajan olmasına ek olarak bakteri öldürücü etkisi ve mantar, virüs gibi diğer mikropların çoğalmasını engelleyebilme özelliği ile sağlanmaktadır [8]. LF'nin antimikrobiyal aktivitesi çoğunlukla iki mekanizmadan kaynaklanmaktadır. Birincisi, enfeksiyon bölgesinde demiri alıkoyması ve böylece bakteriyostatik etkinin oluşması diğeri ise, enfeksiyöz ajanı ile birlikte LF molekülünün etkileşiminin doğrudan sağlanmasıdır [3]. LF immün düzenleyici özelliği nedeniyle vücudun savunma mekanizmasında da geniş bir role sahiptir [8].

LF bunların dışında antifungal, antiviral, antikanser gibi birçok özelliğe de sahiptir [9]. Laktoferrin, ısı ile denatüre olduğundan pastörize süt, sığırların laktoferrininin saflaştırılması için uygun bir kaynak değildir. Bu nedenle, ısıya maruz kalmamış yağsız süt ve peynir altı suyu kaynak olarak kullanılabilir. LF, aminoasit bileşimine uygun doğal bir katyonik yapıya sahip olduğundan karboksimetil gibi iyon değişim kromatografisi ile saflaştırılmaktadır [10].

## 2.2. Laktoferrinin Antimikrobiyal Aktivitesi

LF'nin antimikrobiyal aktivitesi, in vitro ve in vivo koşullarda gram pozitif, gram negatif ve bazı asit ve alkole dirençli bakteriler üzerinde kanıtlanmıştır. Çizelge 1 hangi bakteriye karşı hangi LF tipinin kullanıldığını ve çalışma şeklini göstermektedir [3].

Çizelge 1'de *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*'un suşları gibi bazı bakteriler antimikrobiyal dirençli olarak kategorize edilir. LF'nin bakteriyostatik fonksiyonu, bu mikroorganizmaları inhibe ederek ve enfeksiyon bölgesindeki bakteriler tarafından besin kullanımını sınırlayarak Fe<sup>+3</sup> iyonunu bağlama yeteneğinden kaynaklanmaktadır [3].

LF'nin bakterisidal fonksiyonu bakteri yüzeyleri ile direkt etkileşimine dayandırılmaktadır. [3].

1988'de, LF'nin, lipopolisakarit (Lps) ile etkileşim yoluyla gram negatif bakterilerin dış membranını hasara uğrattığı kanıtlanmıştır. LF'nin pozitif yüklü N- ucu, hücre zarının geçirgenliğini arttırıp, hücre duvarından Lps'nin salınmasına sebep olarak bakteriyal katyonlar (Ca<sup>+2</sup> ve Mg<sup>+2</sup>) ve Lps arasındaki etkileşimi önlemektedir. LF ve Lps arasındaki interaksiyon yüksek konsantrasyonlarda mukozadan salgılanan lizozim gibi doğal antibakteriyallerin etkisini de arttırmaktadır [3].

**Çizelge 1.** Bakterilere karşı laktoferrinin etkileri (27)

Bakteri	Çalışma Şekli	Uygulanan Ajan
Gram Pozitif Bakteriler		
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	İn vitro	hLF
<i>Bacillus subtilis</i>	İn vitro	hLF
<i>Clostridium sp.</i>	İn vitro	hLF ve bLF
<i>Haemophilus influenzae</i>	İn vitro	bLF
Gram-Negative	İn vitro	hLF
<i>Listeria monocytogenes</i>	İn vitro	hLF
<i>Micrococcus sp</i>	İn vitro	hLF ve bLF
<i>Staphylococcus aureus</i>	İn vitro	bLF
<i>Streptococcus mutans</i>	İn vitro	hLF
Gram Negatifler		
<i>Chlamyphila psittaci</i>	İn vitro	hLF ve bLF
Enteropathogenic <i>Escherichia coli</i> (EPEC)	İn vitro	hLF
Enteroggregative <i>E. coli</i> (EAEC)	İn vitro	hLF
Diffusely adherent <i>E. coli</i> (DAEC)	İn vitro	hLF
<i>Helicobacter felis</i>	İn vitro	rhLF
<i>Helicobacter pylori</i>	İn vitro	bLF
<i>Legionella pneumophila</i>	İn vitro	bLF
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	İn vitro	hLF
<i>Shigella spp.</i>	İn vitro	hLF
<i>Vibrio cholerae</i>	İn vitro	hLF
Asid-alkol dirençli bacilli		
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	İn vitro	hLF

(hLF: insan laktoferrini, bLF: sığırların laktoferrini, rhLF: rekombinant insan laktoferrini)

In vitro ve in vivo çalışmalar, LF'nin konak hücreye bazı bakterilerin bağlanmasını önleme kabiliyetine de sahip olduğunu göstermiştir [3].

Laktoferrin, insan ve hayvanlara bulaşan RNA ve DNA virüslerinin birçoğuna karşı antiviral aktiviteye sahiptir. Ayrıca, adenovirüsler ve enterovirüsler gibi kılıfsız virüslere karşı da aynı etkiyi göstermektedir [3].

İn vitro çalışmalar, LF'nin HIV-1'e karşı Zidovudin (bir tür antibiyotik) ile kombinasyon halinde uygulandığında sinerji sergilediğini göstermiştir. Laktoferrin, Asiklovir ile beraber kullanıldığında ise; HSV-1 ve HSV-2 için sinerjistik bir antiviral aktivite ortaya koymaktadır. LF'nin oral yolla uygulanması doğuştan HIV hastası çocukların antiretroviral tedavilerinde umut verici gelişmelere yol açmıştır [11].

Laktoferrinin antifungal aktivitesi mantarın metabolik durumu ile ilgilidir. Yapılan deneyler, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>+2</sup> ve Mg<sup>+2</sup>,nin düşük ekstrasellüler konsantrasyonlarında, mitokondriyal inhibitörlerin varlığında ve anaerobik büyüme koşulları altında LF'nin mantar öldürücü aktivitesinin azaldığını göstermektedir [11].

Antikanser etkisi de olduğu bilinen laktoferrin, kanserde sitokin üretimini düzenleme yeteneğine sahiptir. Aynı zamanda in vitro koşullarda tümör gelişimini önleyebildiği ve apoptoza (programlı hücre ölümü) sebep olabildiği öne sürülmektedir [13].

Laktoferrinin bu aktivitelerinin dışında antiparazitik, anti-inflamatuar, antiprotozoal ve immünomodülatör aktivite gösterdiği de çeşitli araştırmalarla kanıtlanmıştır [9].

### 3. LAKTOPEROKSİDAZ

#### 3.1.Laktoperoksidazın Yapısı ve Özellikleri

Laktoperoksidaz bir grup doğal enzim olan peroksidaz ailesinin bir üyesidir. Bu enzim sığır ve insan sütünün normal bir bileşenidir

ve bu güne kadar test edilmiş tüm memeli sütlerinde bulunmaktadır [5].

Laktoperoksidaz büyükbaş hayvanların sütünde peynir altı proteinlerinde, hayvana ve hayvanın cinsine göre değişmekle birlikte 10–30 µg/ml konsantrasyonlarında bulunmaktadır [4].

Laktoperoksidaz, molekül ağırlığı yaklaşık 77000 olan ve demir hem grubu olan temel bir glikoproteindir. Taze sütün pH aralığı olan pH 4- pH 7 arasında en yüksek aktiviteye sahiptir.

Laktoperoksidaz enzimi  $H_2O_2 + SCN^- \rightarrow OSCN^- + H_2O$  reaksiyonunu katalizler, bu nedenle hem hidrojen peroksit hem detiyosiyanat, antimikrobiyal aktivite için zaruridir. Sütte çok az miktarda hidrojen peroksit vardır ancak bu süte bulaşan laktik asit bakterileri tarafından da üretilebilmektedir. Bununla beraber sütte serbest oksijen bulunuyorsa hidrojen peroksit, ksantin oksidaz, bakır sülfidril oksidaz ve askorbik asit reaksiyonları ile meydana gelebilir. Çünkü hidrojen peroksit fazla kararlı değildir, katalaz tarafından indirgenebilir veya laktoperoksidaz gibi enzimlerce bağlanabilir [4].

Laktoperoksidaz sistemi tarafından gerçekleştirilen bakteriyel inhibisyon stoplazmik membrana etki eder çünkü hipotiyosiyanat ( $OSCN^-$ ) enzimlerin serbest SH gruplarına bağlanır, bu da pH düşüşüne, potasyum ve aminoasitlerin hücreden sızmasına neden olur. Bu durum karbonhidratların, aminoasitlerin ve diğer besin elementlerinin hücreye alımını engeller çünkü bunların transfer mekanizmaları inhibe edilmiş olur. Ayrıca hücrenin DNA ve RNA sentezleri bozulur. Gram (-) bakteriler, gram (+) bakterilere göre laktoperoksidaz sistemi tarafından parçalanmaya ve öldürülmeye daha elverişlidir. Bu durum muhtemelen bu iki hücre türündeki hücre duvarı ve kalınlık farklarına bağlıdır. Bazı gram (+) *Streptococlar* hipotiyosiyanata karşı dirençlidirler [4].

Laktoperoksidazın biyolojik olarak önemi, patojen mikroorganizmalara karşı doğal konak savunma sistemine dâhil oluşundandır. Laktoperoksidazın antimikrobiyal etkisine ek olarak, çeşitli kanserojenlerin bozulmasına yol açtığı ve peroksidatif etkilere karşı hayvan hücrelerini koruduğu da bilinmektedir [5].

### 3.2. Laktoperoksidazın Antimikrobiyal Aktivitesi

Laktoperoksidaz sistemi bakteri, mantar ve virüsler de dâhil olmak üzere çeşitli mikroorganizmalar üzerinde bakterisidal ve bakteriyostatik aktiviteye sahiptir (Çizelge 2). Bu tür inhibitör etkilerin moleküler mekanizması pH, sıcaklık, test ortamı ve elektron vericinin türüne bağlıdır [5].

Farklı bakteri grupları, laktoperoksidaz sistemine karşı değişen derecelerde duyarlılık gösterirler. *Shigella*, *Salmonella*, *Coliform*, *Pseudomonas* gibi katalaz pozitif mikroorganizmalar ve gram negatifler, laktoperoksidaz sistemi ile yalnızca inhibe edilmekle kalmaz aynı zamanda ortam şartlarına bağlı olarak ( pH, sıcaklık, inkübasyon süresi, hücre yoğunluğu) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin ilave etkisiyle öldürülebilir. *Streptococ*, *lactobacil* gibi katalaz negatif bakteriler ve gram pozitifler laktoperoksidaz sistemi tarafından öldürülmezler genelde inhibe edilirler [5].

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (50 µM) ve sodyum klorür (225 µM) varlığında aflatoksinin parçalanması laktoperoksidaz sisteminin başka bir özelliğidir. Reaksiyon karışımındaki laktoperoksidaz miktarının 50'den 500 u/ml'ye artırılması 24 saat içinde aflatoksin B1 degradasyon oranının %3,6'dan 5,1'e artması ile sonuçlanmıştır. Karşılaştırılabilir miktarda laktoperoksidazın bulunması halinde aflatoksin G1 aflatoksin B1'e oranla yaklaşık 1,5 kat daha hızlı parçalanmaktadır. Araştırmacılar, elma suyunda ve tuz çözeltisinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynağı olarak glukoz oksidaz ile laktoperoksidaz sisteminin

**Çizelge 2.** Laktoperoksidaz sisteminin antimikrobiyal spektrumu (5).

Mikroorganizma	Verici	Etkisi
Gram Pozitif Bakteriler		
<i>Streptococcus cremoris</i>	SCN <sup>-</sup>	Oksijen Alımı
<i>Streptococcus lactis</i>	SCN <sup>-</sup>	Büyüme İnhibisyonu
<i>Streptococcus agalactiae</i>	SCN <sup>-</sup>	Şeker Taşınımı
<i>Streptococcus mutans</i>	SCN <sup>-</sup>	Glukoz Alımı
<i>Streptococcus mutans</i>	SCN <sup>-</sup>	Enzim İnhibisyonu
<i>Streptococcus sanguis</i>	I <sup>-</sup>	Bakterisidal
Gram Negatif Bakteriler		
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	SCN <sup>-</sup> /I <sup>-</sup>	Bakterisidal
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	I <sup>-</sup>	Büyüme İnhibisyonu
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	SCN <sup>-</sup> /I <sup>-</sup>	Bakterisidal
<i>Helicobacter pylori</i>	SCN <sup>-</sup>	Bakterisidal
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	SCN <sup>-</sup> /I <sup>-</sup>	Bakterisidal
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	SCN <sup>-</sup>	Bakterisidal
<i>Prevotella loescheii</i>	SCN <sup>-</sup>	Bakterisidal
<i>Prevotella intermedia</i>	SCN <sup>-</sup>	Bakterisidal
<i>Prevotella melaninogenica</i>	SCN <sup>-</sup>	Bakterisidal
<i>Yersinia enterocolitica</i>	SCN <sup>-</sup>	Büyüme İnhibisyonu
Mantarlar		
<i>Candida albicans</i>	SCN <sup>-</sup>	Yaşama Yeteneğinin Kaybı
Virüsler		
HIV-1	SCN <sup>-</sup>	Enzim İnhibisyonu

(SCN<sup>-</sup>; Tiyosiyonat iyonu, I<sup>-</sup>; iyodür iyonu )

antifungal aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir [5].

Başka bir araştırmada ise, laktoperoksidazın çocuk felci virüsü ve ineklerde çiçek hastalığı virüsünün her ikisini de öldürdüğü gösterilmiştir. Bu özel virüsler ısı, kurutma, dezenfektan etkilerine diğer virüslere kıyasla çok daha fazla dayanıklıdır[8].

İn vitro bulgular, Lp/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Halojenür sisteminin HIV-1'e karşı güçlü bir virüsidal aktivite sağladığını da göstermektedir [5].

## 4. LİZOZİM

### 4.1. Lizozimin Yapısı ve Özellikleri

Lizozim, virüsler ve bütün canlı organizmaların dokularından, salgularından ve hücrelerinden saflaştırılarak elde edilen hidrolitik bir enzimdir. Sütteki çözünür lizozim konsantrasyonu mevsim, hayvanın cinsi, meme sağlığı, beslenme, doğum, laktasyon evresi gibi çeşitli değişkenlere bağlı olarak aynı tür içerisinde ve bir türden diğerine büyük ölçüde değişiklik göstermektedir [6]. Sığır sütündeki miktarının 13 µg/100 ml dolaylarında bulunduğu tespit edilmiştir [4].

Molekül ağırlığı 15000 olan lizozim, çok çeşitli mikroorganizmalara karşı güçlü antimikrobiyal aktivitesi nedeniyle son yıllarda artan ilgiye sahip süt proteinleri arasında yer almaktadır. Lizozimin 3 temel fonksiyonu vardır. 1) Gram pozitif bakterilerde bakteriyal hücre peptidoglikanlarını ve polisakkaritleri parçalayan direk enzimatik etki, 2) peptidoglikan muramildipeptide ayrılıp ve immün uyarısı yaratıldığında indirek bir enzimatik etki, 3) pozitif yüklü lizozim bakteriyel hücre membranlarındaki negatif yüklü grupları nötralize etme etkisidir [4].

### 4.2. Lizozimin Antimikrobiyal Aktivitesi

Lizozimin antibakteriyel etkisi, ilk olarak yalnızca onun katalitik işlevine dayandırılmıştır. Son 20 yıldır ise literatür, enzimatik olmayan mekanizmasının etkisinin de olduğu ile ilgili çok sayıda kanıt içermektedir [12].

Ticari olarak kullanım alanına sahip olan tek antimikrobiyal enzim olan lizozim, hücre zarının en önemli yapısı olan peptidoglikan tabakadaki β-1,4 glikozidik bağları hidrolize etmesi sebebiyle özellikle gram pozitiflere

karşı çok etkilidir. Hücre zarının hidrolize olması, hücre zarının yapısal bütünlüğünün bozulması ve dolayısıyla bakteri hücresinin zarar görmesine neden olmaktadır [7]. Lizozim gram pozitif bakterilerin yanı sıra termofilik spor oluşturanlara karşı da kullanılabilir [13]. Lizozim genel olarak *Clostridium botulinum*, *Clostridium thermosaccharolyticum*, *Clostridium tyrobutyricum*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus lysodeikticus*, *Listeria monocytogenes* gibi gram pozitif bakteriler üzerinde etkili olduğu, ancak kalın peptidoglikan dış zara sahip gram negatif bakteriler üzerinde etkili olmadığı bilinmektedir [14]. Yapılan çalışmalarda EDTA, aprotinin, organik asitler gibi bileşikler ile birlikte veya karbonhidratlara bağlı olarak kullanıldığında lizozimin gram negatif bakteriler üzerinde de etkili olabildiği gözlemlenmiştir [15]. Tüm bunlara ek olarak, sütteki diğer antimikrobiyal bileşenler (laktoperoksidaz, laktoferrin gibi) lizozimin aktivitesini pozitif veya negatif olarak etkileyebilmektedir.

## 5. SÜTTE BULUNAN DOĞAL ANTİMİKROBİYAL SİSTEMLERİN GIDA SANAYİNDE KULLANIM ALANLARI

Farklı süt proteinlerinin in vitro adenovirüs enfeksiyonu üzerindeki inhibitör etkisi incelenmiştir. Birçok araştırma sığır laktoferrini ve laktoglobulin üzerindedir. Bu çalışmalar laktoferrinin doza bağımlı bir şekilde adenovirüsün çoğalmasını inhibe ettiğini göstermektedir. Daha sonraki deneyler, laktoferrinin viral enfeksiyonunun farklı aşamaları süresince hücrelere ilave edilerek gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, laktoferrinin viral adsorpsiyon aşamasında veya öncesinde ilave edildiğinde veya adenovirüsün tüm replikatif döngüsü boyunca verildiğinde viral replikasyonu önlemesinin mümkün olduğunu göstermiştir [16].

Bu konuda yapılan bir araştırma, laktoferrinin oral uygulamasının konağın immünomodülasyonu ve antimikrobiyal aktivitesi yoluyla enfeksiyonlara karşı konağın korunmasını güçlendirdiğini göstermektedir. Buna ek olarak araştırmacılar, sığırların laktoferrininin kanser gelişimini önlediğini de ispatlamışlardır [17]. Mevcut çalışmaların sonuçlarına göre kimyasal olarak indüklenen ve bağırsak kanserojenlerine karşı sığırların laktoferrininin inhibitör potansiyeli açıktır. Bu bulgular, sığırların laktoferrininin kolon tümörüne karşı gelecekte kullanılacak bir koruyucu olabileceğini göstermektedir [18].

Laktoferrin, antimikrobiyal ve prebiyotik özelliklerinden dolayı çok fonksiyonlu gıda katkı maddesi olarak kabul edilmektedir. Laktoferrinin gıdalarda, bebek mamalarında, sporcu beslenmesinde kullanılan gıdalarda, sakızlarda ve ağız bakım ürünlerinde (diş macunu, ağız yıkama gargaralarında ve kozmetikte) katkı maddesi olarak kullanılması önerilmektedir [10, 19, 20, 17]. Laktoferrinin et ürünlerinde kullanılmasına Amerika Birleşik Devletlerinde izin verilmiştir [21]. Laktoferrin ve aktive edilmiş laktoferrinin (inek sütü laktoferrininin gıda kaynaklı bir glikozaminglikana örneğin galaktozca zengin polisakkarit veya karragenana immobilize edilmiş haline aktive edilmiş laktoferrin denilmektedir) et endüstrisi için uygun bir doğal koruyucu olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Laktoferrin katıldığı et ürününün rengini, kokusunu ve görünüşünü değiştirmemektedir [22]. Üretim anında ete kolayca uygulanan laktoferrin etin yüzeyinde kalarak üretim sonrası patojen ve bozulma etmeni bakterilerin gelişmesine de engel olmaktadır [19, 23].

Laktoferrinin Tekirdağ köftesinin mikrobiyal kalitesini iyileştirdiği [24], fermente et ürünlerinde laktoferrinin tek başına veya şelatlayıcı maddelerle birlikte kullanıldığında *E. coli* O157:H7 [25], Bologna sosiste

*Carnobacterium viridans* [26], taze ette *Pseudomonas fluorescens*'in [27], *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium ve *Campylobacter jejuni*'nin gelişimini durdurduğu veya inhibe ettiği belirlenmiştir [23]. İnek karkaslarına ağırlıkça %2 ve altında uygulandığında karkas yüzeyine tutunan mikroorganizmaları etkili bir şekilde uzaklaştırdığı belirtilmektedir [28]. UHT sütte laktoferrinin tek başına, EDTA veya lizozim enzimi ile birlikte kullanıldığında *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, *Pseudomonas fluorescens* ve *Salmonella* Typhimurium gelişimini sınırlı düzeyde önlediği belirlenmiştir [29, 30]. UHT sütte laktoferrininin (2 -8 mg/ml) aynı konsantrasyondaki laktoferrine göre patojen bakteriler üzerinde daha etkili olduğu, laktoferrininin asitlendirilmiş (pH 4,0) ve buzdolabı koşullarında tutulan UHT sütte *L. monocytogenes*, *Salmonella* Stanley, *E. coli* O157:H7 ile *Staphylococcus aureus*'un gelişimini önlediği belirlenmiştir [31]. Laktoferrinin soya yağı tozunda doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu önlediği ve ürünün depolama ömrünü arttırdığı belirlenmiştir [32]. Laktoferrin türevli biyoaktif peptidin şarapta bozulma etmeni *Dekkera bruxellensis* mayasının gelişimini önlediği ve dolayısıyla şarabın raf ömrünü arttırdığı saptanmıştır [33].

Laktopeksidazın bakterilere karşı inhibisyon özelliğini kanıtlayan bir çalışma ise Monolaurin ve laktopeksidaz sistemi ile ilgilidir. Monolaurin genellikle gram pozitif bakterilere karşı çok iyi aktivite gösterirken laktopeksidaz sisteminin gram negatif bakterilere karşı daha iyi aktivite gösterdiği bilinmektedir. Bakterilerin farklı spektrumlarına karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olan laktopeksidaz sistemi ve monolaurin gıda kaynaklı patojenler *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus* için yeni geliştirilen bir sistem inhibitörü meydana getirmek için birleştirilmiştir.

Laktoperoksidaz sistemi ve monolaurin kombinasyonu her iki ajanında tek başlarına kullanımına göre bakteriyel gelişimi inhibe etmede daha etkili bulunmuştur. Uygulamalar bu kombinasyonun bakterilerin hızlı gelişimine olanak verilmeyen depolama sıcaklıklarında ve sığır kıymasında süttekine göre daha fazla etkili olduğunu göstermiştir [5]. Bu konuda yapılan bir diğer çalışma ise; laktoperoksidaz ve nisin L. monocytogenes üzerinde sinerjistik bakterisidal bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir [34].

Bu çalışmaların yanı sıra LP ve düşük sıcaklık uygulamaları salata sosu, meşrubat ve tatlı çeşitleri gibi yüksek sıcaklığa hassas gıdaların besin ve kalite özelliklerinin korunmasına da yardımcı olmaktadır. LP sistem taze balık bifteklerinin ve etlerin yüzeyindeki *Listeria monocytogenes*'in inhibisyonu ve bebekler için hazırlanan sütlerdeki *E.coli* ve *S. typhimurium*'un gelişimini geciktirmesi amacıyla da kullanılmaktadır [5].

Laktoferrin ve laktoperoksidazda olduğu gibi lizozimin de bakteri inhibisyonu etkisi üzerinde birçok araştırma yapılmıştır. Lizozim gıdaları bozan *lactobacillere* karşı kullanımı için lizin ile birlikte formüle edilmiştir. Bu kombinasyonun etkisi, taramalı elektron mikroskopu ile incelendiğinde ciddi hücre hasarına sebep olduğu görülmektedir. Buna ek olarak bu kombinasyondan nisin hareket mekanizmasına yansıyan bir etki, *Staphylococcus aureus*un stoplazmik membranlarının daha hızlı bir şekilde geçirgen olmasına (depolarizasyon) sebep olmasıdır. Bundan dolayı nisin ve lizozim birbirlerinin bakteriyel öldürme mekanizmalarını güçlendirdiklerinden dolayı gram pozitif bakterilere karşı sinerji göstermektedir [35].

Geçmiş çalışmalarda nisin, pediosin ve lizozim film yüzeyinde ya da içinde bakteriyel gelişmeyi engellemek amacıyla kullanılmışlardır [37]. Padgett(1998) yaptıkları çalışmada soya proteini ve peynir

altı suyu proteininden filmler üretmiştir. Film içerisine nisin ve lizozim katılarak *Lactobacillus plantarum* ve *E. coli*'ye karşı zon inhibisyon metodu ile filmlerin antimikrobiyal etkisi belirlenmiştir. Sonuçta nisin ve lizozimin bakterilere karşı inhibitör etki gösterdiği tespit edilmiştir [37].

Lizozimin gıda sanayinde en çok kullanıldığı alan ise şüphesiz gıda kaplama filmlerdir. Mozzarella peynirinin mikrobiyal güvenliğinin geliştirilmesi için yapılan bir çalışmada kitosan bazlı filmlerin içine lizozimin eklenmesiyle *P. fluorescens* ve *L. monocytogenese* karşı film ve kaplamaların antimikrobiyal etkisinin arttığı gösterilmiştir. Kitosan-lizozim filmler ve kaplamalar işleme sonrası mikrobiyal bulaşmaları kontrol etmek için peynirin ambalajlanmasında uygulanabilmekte ve böylece peynir ürünlerinin mikrobiyal güvenliği iyileşmektedir [11]. Tipik olarak lizozim-kitosan bazlı filmler, ürünlerin raf ömrünü uzatmak için ve mikrobiyal güvenliği arttırmak için çabuk bozulan sebze ve meyveler üzerinde direk olarak bir yüzey kaplaması olarak veya mikrobiyal gelişme için son derece elverişli olan gıdaları paketlemek için kullanılabilir [38].

Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği (2011) Ek 12-Bölüm C (diğer koruyucular) de E 1105 koduyla yer alan lizozimin maksimum kullanım limiti şarapta 500 mg/L, olgunlaştırılmış peynirlerde ise QS (herhangi bir en yüksek düzeyin belirtilmediği, ancak istenilen etkinin sağlanabildiği en küçük miktar) olarak belirlenmiştir [39].

## 6. SONUÇ

Sonuç olarak sütte bulunan ve doğal antimikrobiyal özelliğe sahip olan laktoferrin, laktoperoksidaz ve lizozim gibi maddelerin, gıdaların muhafaza edilmesinde ve raf ömrünün uzatılmasında kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Bu artış, doğal besin maddelerine dönüşün hızla yaygınlaştığı



günümüzde doğal inhibitör maddelerin öneminin anlaşılmasını ve bu konuda daha

fazla çalışma yapılmasını sağlayacaktır.

## **Kaynaklar**

- [1]. Karagözlü, C. ve Bayarer, M., "Peyniraltı Suyu Proteinlerinin Fonksiyonel Özellikleri ve Sağlık Üzerine Etkileri", Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 41(2): 197-207, (2004).
- [2]. Adlerova L., Bartoskova A. ve Faldyna M., "Lactoferrin: A Review", Veterinarni Medicina, 53: 457-468, (2008).
- [3]. Gonzalez-Chavez S., Arevalo-Gallegos S. ve Rascon-Cruz Q., "Lactoferrin: Structure, Function and Applications", International Journal of Antimicrobial Agents 33: 301.e1-301.e8, (2009).
- [4]. Vasavada P., ve Cousin M., "Dairy Science and Technology", Handbook, Volumes 13. John Wiley & Sons, 978-1-56081-078-0. Edited by: Hui, Y.H, (2005).
- [5]. Seifu E., Buys E., ve Donkin E., "Significance of The Lactoperoxidase System in the Dairy Industry and Its Potential Applications: A Review", Trends in Food Science & Technology 16: 137-154, (2005).
- [6]. Benkerroum N., "Antimicrobial Activity of Lysozyme With Special Relevance to Milk", African Journal of Biotechnology Vol. 7 (25): 4856-4867, (2008).
- [7]. Séverin S. Ve Wenshui X., "Milk Biologically Active Components as Nutraceuticals: Review", Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 45:7-8, 645-656, (2007).
- [8]. Levay P. ve Viljoen M., "Lactoferrin: A General Review", Haematologica 80: 252-267, (1995).
- [9]. Farnaud S. ve Evans R., "Lactoferrin—A Multifunctional Protein with Antimicrobial Properties", Molecular Immunology 40: 395-405, (2003).
- [10]. Wakabayashi H., Yamauchi K., Takase M., "Lactoferrin research, technology and applications", International Dairy Journal 16: 1241-1251, (2006).
- [11]. Jenssen H. ve Hancock R., "Antimicrobial Properties of Lactoferrin", Biochimie 91: 19-29, (2009).
- [12]. Exposito I. ve Recio I., "Antibacterial Activity of Peptides and Folding Variants from Milk Proteins", International Dairy Journal 16: 1294-1305, (2006).
- [13]. Meyer A.S., Suhr K.I., Nielsen P. ve Holm, F., "Natural Food Preservatives", In Ohlsson, T. And Bengtsson, N., ed. Minimal Processing Technologies in the Food Industry, Chapter 6. CRC Press, Boca Raton, (2002).
- [14]. Davidson P. M., Juneja V.K., ve Branen J.K., "Antimicrobial Agents", In Branen, A.L., Davidson, P. M., Salminen, S. And Thorngate III, J.H., ed. Food Additives (second edition, Rev, Sed and Expanded), Chapter 20, (2002).
- [15]. Losso J.N., Nakai S. ve Charter E.A., "Lysozyme", In Naidu, A.S., ed. Natural Food Antimicrobial Systems, Chapter 6, CRC Press, Boca Raton, (2000).
- [16]. Arnold D., Biase A., Marchetti M., Pietrantonio A., Valenti P., Seganti L. ve Superti F., "Antiadenovirus Activity of Milk Proteins: Lactoferrin Prevents Viral Infection", Antiviral Research 53: 153-158, (2002).
- [17]. Tomita M., Wakabayashi H., Shin K., Yamauchi K., Yaeshima T. ve Iwatsuki K., "Twenty-five Years of Research on Bovine Lactoferrin Applications", Biochimie 91: 52-57, (2009).
- [18]. Tsuda H., Sekine K., Ushida Y., Kuhara T., Takasuka N., Iigo M., Han B. ve Moore M., "Milk and Dairy Products in Cancer Prevention: Focus on Bovine Lactoferrin", Mutation Research 462: 227-233, (2000).
- [19]. Naidu, A.S., "Activated lactoferrin - A new approach to meat safety", Food Technology 56 (3):40-45, (2002).
- [20]. Morinaga M., "Biological Functions of Lactoferrin: Basic Research and Applications", Milk Industry CO., Ltd. Fourth edition, (2003).
- [21]. Naidu, A.S., "Lactoferrin. In: Natural Food Antimicrobial Systems", Edited by A.S. Naidu, CRC press, Boca Raton FL, 19-102 p, (2000).
- [22]. Padgett, T., Han, I.Y., Dawson. P.L., "Incorporation of food grade antimicrobial compounds into biodegradable packaging films", Journal Food Protection, 61(10):1330-5, (1998).
- [23]. Naidu, A.S., Tulpinski, J., Gustilo, K., Nimmagudda, R., Morgan J.B., "Activated lactoferrin", AGRO Food Industry Hi-Tech, 1-10, (2003).

- [24]. Colak, H., Hampikyan, H., Bingol, E.B., Aksu, H., "The effect of nisin and bovine lactoferrin on the microbiological quality of Turkish-style meatball (Tekirdağ Köfte)", *Journal of Food Safety* 28, 355–375, (2008).
- [25]. Al-Nabulsi, A.A., Holley, R.A., "Effects of *Escherichia coli* O157:H7 and meat starter cultures of bovine lactoferrin in broth and microencapsulated lactoferrin in dry sausage batters", *International Journal of Food Microbiology*, 113:84–91, (2007).
- [26]. Al-Nabulsi, A.A., Ran, J.H., Liu, Z.Q., RodriguesVleira, E.T., Holley, R.A. "Temperaturesensitive microcapsules containing lactoferrin and their action against *Carnobacterium viridans* on Bologna". *Journal of Food Science* 71 (6): M208–M214 (2006).
- [27]. Del Olmo, A., Morales, P., Nunez, M., "Bactericidal activity of lactoferrin and its amidated and pepsin-digested derivatives against *Pseudomonas fluorescens* in ground beef and meat fractions", *Journal of Food Protection* 72 (4): 760–765,( 2009).
- [28]. Taylor, S., Brock, J., Kruger, C., Berner, T., Murphy, M., "Safety determination for the use of bovine milk-derived lactoferrin as a component of an antimicrobial beef carcass spray", *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 39: 12- 24, (2004).
- [29]. Payne, K.D., Davidson, P.M., Oliver, S.P., Christen, G.L., "Influence of bovine lactoferrin on the growth of *Listeria monocytogenes*", *Journal of Food Protection* 53: 468–472, (1990).
- [30]. Payne, K.D., Oliver, S.P., Davidson, P.M. "Comparison of EDTA and apo-lactoferrin with lysozyme on the growth of foodborne pathogenic and spoilage bacteria", *Journal of Food Protection* 57: 62–65, (1994).
- [31]. Murdock, C.A., Matthews, K.R., "Antibacterial activity of pepsin-digested lactoferrin on foodborne pathogens in buffered broth systems and ultra-high temperature milk with EDTA", *Journal of Applied Microbiology* 93: 850–856, (2002).
- [32]. Steijns, J.M., van Hooijdonk, A.C., "Occurrence, structure, biochemical properties and technological characteristics of lactoferrin", *British Journal of Nutrition* 84: S11-S17, (2000).
- [33]. Enrique, M., Marcos, J.F., Yuste, M., Martínez, M., Vallés, S., Manzanares, P., "Inhibition of the wine spoilage yeast *Dekkera bruxellensis* by bovine lactoferrin-derived peptides", *International Journal of Food Microbiology* 127: 229–234,( 2008).
- [34]. McLay J., Kennedy M., O'Rourke A., Elliot R. ve Simmonds R., "Inhibition of Bacterial Foodborne Pathogens by the Lactoperoxidase System in Combination with Monolaurin", *International Journal of Food Microbiology* 73: 1–9, (2002).
- [35]. Chung W. ve Hancock R., "Action of Lysozyme and Nisin Mixtures Against Lactic Acid Bacteria", *International Journal of Food Microbiology* 60: 25–32, (2000).
- [36]. Padgett, T., Han, I.Y., Dawson. P.L., "Incorporation of lysozyme into biodegradable packaging film", *Poultry Science*, 74: 175, (1995).
- [37]. USDA-FSIS Safe and suitable ingredients used in the production of meat and poultry products. FSIS Directive 7120.1 Amendment 15. United States Department Of Agriculture Food Safety And Inspection Service Washington, DC, (2008).
- [38]. Park S., Daeschel M., ve Zhao Y., "Functional Properties of Antimicrobial Lysozyme–Chitosan Composite Films", *Journal of Food Science* Vol. 69, Nr. 8, (2004).
- [39]. Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği (2011) Ek 12-Bölüm C (diğer koruyucular). Yetki Kanunu: 5996. Yayımlandığı R.Gazete: 29.12.2011-28157

**Geliş Tarihi:11.02.2013**

**Kabul Tarihi: 19.04.2013**