

Nisinin Antimikrobiyal Etkisi, Taze ve İşlenmiş Balıklarda Kullanımı*

Duygu Kışla¹, Adnan Ünlütürk²

¹ Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, Bornova, İzmir, Türkiye

² Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Bornova, İzmir, Türkiye

Abstract: *The antimicrobial effects of nisin, it's application in fresh and processed fish.* Nisin is a bacteriocin produced by certain strains of *Lactococcus lactis*. In recent years, it has been used succesfully in a wide variety of food products as a food preservative. In this presentation, structure, mode of action, antimicrobial properties of nisin and its application in fresh and processed fish were reviewed.

Key Words: *Lactococcus lactis*, nisin, fresh fish, processed fish.

Özet: Nisin, *Lactococcus lactis*'in bazı suşları tarafından üretilen bir bakteriyosindir. Son yıllarda çeşitli gıdalarda koruyucu olarak başarıyla kullanılmaktadır. Bu derlemede nisinin yapısı, etki mekanizması, antimikrobiyal özellikleri ile taze ve işlenmiş balıklardaki kullanımından bahsedilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Lactococcus lactis*, nisin, taze balık, işlenmiş balık.

Giriş

Laktik asit bakterilerinden uzun yıllardan beri çeşitli fermente gıdaların üretilmesinde yararlanılmaktadır. Bu şekilde laktik asit fermantasyonuna tabi tutulan bazı gıdaların üretilen organik asitlerden dolayı raf ömrünün uzadığı bilinmektedir. Ancak laktik asit bakterilerinin organik asitler dışında diğer mikroorganizmalara karşı antagonistik etki gösteren hidrojen peroksit, serbest yağ asitleri, amonyak, diasetil ve bakteriyosin gibi inhibitör maddeleri ürettiği saptanmıştır (Daeschel, 1989; Vandenberg, 1993). Bilindiği gibi bakteriyosinler, üretici bakteriye yakın türlere karşı bakterisidal aktivite gösteren protein yapısında maddelerdir (Klaenhammer, 1988). Tablo 1'de bazı laktik asit bakterileri tarafından üretilen bakteriyosinlere örnekler verilmiştir.

Tablo 1. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen doğal antimikrobiyal maddeler (Ouweland, 1998).

Türler	Bileşikler
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Acidocin 8912 Acidophilucin A Lactacin B
<i>Lb. brevis</i>	Brevicin 37
<i>Lb. plantarum</i>	Plantaricin A, C, S, T Nisin A, Z
<i>Lactococcus lactis</i>	Lactococcin Lacticin 481

L. lactis'in ürettiği nisin ile yapılan ilk araştırmalar, nisinin veterinerlik ve klinik alanlarda terapötik amaç için kullanılmasıyla ilgilidir. Ancak, dar antibakteriyal spektrum göstermesi, vücut sıvılarında düşük çözünürlüğe sahip olması, sindirim proteazları tarafından inaktif olması ve fizyolojik pH'da (pH:

*Bu çalışmanın bir bölümü, 9-11 Nisan, 1997, İzmir, Akdeniz Balıkçılık Kongresinde (Mediterranean Fisheries Congress) poster olarak sunulmuştur.

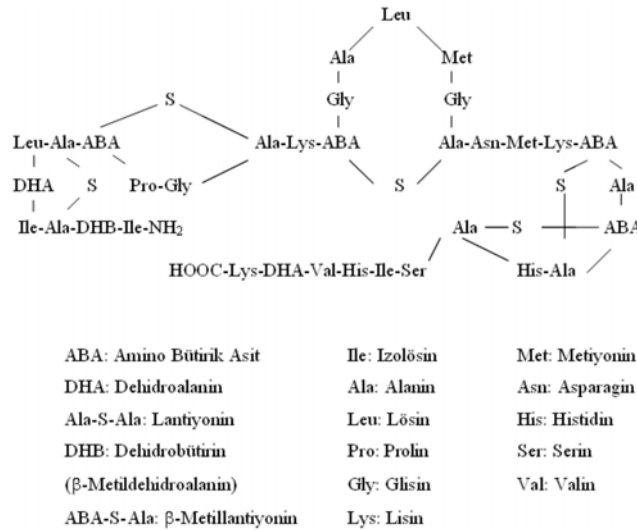
7.0-7.5) stabil olmaması gibi nedenlerle terapötik amaç için uygun olmadığı belirtilmiştir (Delves-Broughton, 1990b).

Nisin birçok Avrupa ülkesinde ve Orta Doğu ülkelerinde başta peynir olmak üzere süt ve konserve gıdalar gibi çeşitli gıdalarda güvenli bir şekilde kullanılmaktadır. 1988 yılından beri FDA tarafından pastörize işlem görmüş peynirlerde *Clostridium botulinum* sporlarının gelişmesini ve toksin oluşumunu önlemek amacıyla GRAS (Generally Regarded As Safe) olarak kullanımına izin verilmiştir (Daeschel, 1989). Avrupa Birliği ülkelerinde ise irmik ve tapioka pudringler, olgunlaştırılmış ve işlem görmüş peynirler ile ekşitilmiş kremada nisin (E 234) kullanımına izin verilmektedir (Roller ve Lusengo, 1997). Ülkemizde de halen Avrupa Birliği ülkelerinde geçerli olan gıdalarda kullanılmaktadır (Anon, 1997). Son yıllarda peynir, süt ve konserve gıdalar dışında nisin sütü tatlılar, yoğurt, alkollü içecekler, kürlenmiş etler, balık, sıvı yumurta ve ekmeğin gibi çeşitli gıdalarda kullanımı ile ilgili çalışmalar bildirilmiştir (Delves-Broughton, 1990b; Radler, 1990; Taylor ve diğ., 1990; Delves-Broughton ve

diğ., 1992; Vandenbergh, 1993).

Nisinin Yapısı ve Etki Mekanizması

Klaenhammer'a göre laktik asit bakterilerinin ürettikleri bakteriyosinler 4 sınıfa ayrılmaktadır (Jack ve diğ., 1995): sınıf 1, lantibiyotikler [ender rastlanan amino asitleri (lantiyonin ve türevleri) içeren peptidler]; sınıf 2, düşük molekül ağırlığına sahip (<10 kDa), ısıya dayanıklı, lantiyonin içermeyen membran aktif peptidler; sınıf 3, yüksek molekül ağırlığına sahip (>30 kDa), ısıya hassas proteinler; sınıf 4, proteine ilaveten zorunlu (essential) lipid veya karbonhidrat grupları içeren kompleks bakteriyosinler. Nisin, *L. lactis*'in bazı suşları tarafından üretilen ve ribozomlarca kodlanan polipeptid yapısında bir bakteriyosindir. Ender rastlanan amino asitleri [dehidroalanin, dehidrobütirin (β -Metildehidroalanin), lantiyonin, β -metillantiyonin] içerdiğinden lantibiyotikler sınıfının bir üyesidir (Klaenhammer, 1988; Hansen, 1994). Şekil 1'de Gross ve Morell tarafından saptanan nisinin yapısı görülmektedir (Liu ve Hansen, 1990).



Şekil 1. Nisinin yapısı (Liu ve Hansen, 1990).

Nisin molekülü 34 amino asit içermektedir ve molekül ağırlığı yaklaşık olarak 3500 Dalton'dur. Doğada bulunan dimer ve tetramerlerinin ise molekül ağırlıkları sırasıyla 7000 ve 14000 Dalton olarak değişmektedir. Aktif nisin molekülü, öncü (precursor) nisin polipeptid molekülündeki sıradan amino asitlerin (serin, treonin, sistein) posttranslasyonel modifikasyonu ile oluşmaktadır (Hansen, 1994). Öncü nisin molekülünün yapısal geninde bir takım mutasyonlar oluşturarak nisine göre bazı avantajları olan nisin analogları oluşturmak mümkündür (Liu ve Hansen, 1990). Ancak bunu gerçekleştirmek için posttranslasyonel mekanizmasının iyi bir şekilde bilinmesi gerekmektedir.

Ender rastlanan amino asitlerin nisin molekülündeki fonksiyonu henüz açıklık kazanmamıştır. Ancak bu amino asitlerin nisinin bir takım yapısal özelliklerinde, örneğin, düşük pH'da otoklavlandıktan sonra stabilitesini kaybetmemesinde önemli olduğu sanılmaktadır (Hansen, 1994). Yapılan bir çalışmada tampon çözeltideki nisinin 121°C'de 15 dakika otoklavlandıktan sonra pH 3'de aktivitesinin tamamını, pH 5'de %35'ini, pH 7'de ise %5'ini koruduğu saptanmıştır (Delves-Broughton, 1990a). Başka bir çalışmada tampon çözeltideki nisinin pH 2'de 115°C'de 20 dakika otoklavlandıktan sonra aktivitesinin kaybolmadığı bulunmuştur (Piard ve diğ., 1990). Yapılan çalışmalar, ısı işlem dikkate alındığında gıdalardaki nisin aktivesi kaybının tampon çözeltilerde görülen kayba göre daha az olduğunu göstermiştir (Delves-Broughton, 1990b).

Nisin molekülü asidik karakterde olup düşük pH'da stabilitesi ve çözünürlüğü yüksektir. Liu ve Hansen (1990) yaptıkları bir denemede nisinin düşük pH'da çözünürlüğünün oldukça yüksek olduğunu (57 mg/ml, pH:2, 25°C), yüksek pH'da ise çözünürlüğünün hızlı bir şekilde azaldığını (0.25 mg/ml, pH:8-

12, 25°C) bulmuşlardır.

Nisin aktivitesi üzerine değişik proteolitik enzimlerin etkisi incelenmiştir. Buna göre nisinin α -kimotripsin enzimi tarafından inaktive edildiği, pepsin, tripsin, proteinaz K enzimlerinin ise nisine etki etmediği saptanmıştır (Klaenhammer, 1988; Piard ve diğ., 1990; Kojic ve diğ., 1991; Uhlman ve diğ., 1992; Zezza ve diğ., 1993).

Nisinin vejetatif hücre ve sporlara karşı etki mekanizması ile çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Yapılan araştırma sonucunda nisinin antimikrobiyal etkisi, nisinin stoplazmik membranın fosfolipid komponentleri ile etkileşime girerek membranın fonksiyonunu kaybetmesi ile açıklanmıştır (Henning ve diğ., 1986). Yapılan başka bir çalışmada nisinin yüzey aktif deterjan gibi davranarak bakterilerin stoplazmik membranı ile etkileşime girip membran yüzeyinde gözenekler oluşturduğu ve böylece iyonların ve küçük moleküllerin hücre dışına sızmasına neden olduğu belirtilmiştir (Bierbaum ve Sahl, 1993; Jack ve diğ., 1995). Nisinin sporlara olan etkisi baktersistal etkiden çok bakteriyostatik etkidir (Delves-Broughton ve Gasson, 1994). Diğer koruyuculardan farklı olarak nisin, sporların çimlenmesi aşamasında etkili olmaktadır (Delves-Broughton, 1990b). Buna göre çimlenen sporların membranlarındaki proteinin yapısında bulunan sülfidril gruplarına nisinin bağlanarak etki gösterdiği belirtilmiştir (Delves-Broughton ve Gasson, 1994).

Nisinin Antimikrobiyal Özellikleri ve Balıklarda Kullanımı

Antimikrobiyal Özellikleri

Diğer bakteriyosinler gibi nisinin mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkisi sınırlıdır. Gram-negatif bakterilere, maya ve küflere etki etmediği halde gram-pozitif bakterilere özellikle spor oluşturanlara karşı etkilidir. Yapılan

çalışmalarda nisin gram-pozitif bakteriler arasında Staphylococcus, Micrococcus, Erysipelothrix, Clostridium, Bacillus, Listeria ve çeşitli laktik asit bakteri türleri üzerine etkili olduğu saptanmıştır (Scott ve Taylor, 1981; Magdoub ve diğ., 1984; Henning ve diğ., 1986; Ogden, 1986; Ogden ve diğ., 1988; Splittstoesser ve Stoyla, 1989; Bayoumi, 1991; Daeschel ve diğ., 1991; Kanatani ve diğ., 1992; Zezza ve diğ., 1993, Ariyapitupun ve diğ., 1999).

1990 yılından sonra yapılan çalışmalarda nisin bazı gram-negatif bakterilere karşı etkili olduğu belirtilmiştir. İlk olarak Blackburn ve diğerleri tarafından gram-negatif bakterilerin gelişimini önlemek için nisin kullanılmış ve yapılan çalışmada nisin şelat yapma özelliğine sahip maddeler ile birlikte kullanıldığında, gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı bakterisidal etki gösterdiği saptanmıştır

(Vandenbergh, 1993). Araştırmalar, 0.1-20 mM EDTA varlığında mililitrede 0.1-300 µg nisin konsantrasyonunun *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacterioides gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetescomitans*, *Klebsiella pneumonia* gibi çeşitli gram-negatif bakterilerinin gelişiminin önlenmesinde etkili olduğunu göstermiştir.

Balıklarda Nisin Kullanımı

1969 yılında FAO/WHO ortak komitesi tarafından nisin gıda katkısı olarak kullanılmasına izin verilmiş olup dünyada 50'nin üzerinde ülkede güvenli ve etkili bir şekilde kullanılmaktadır (Roller ve Lusengo, 1997). Tablo 2'de 1989 yılında "Aplin and Barrett Ltd." şirketi tarafından yayınlanan ve bazı ülkelerde izin verilen maksimum nisin miktarları ve kullanıldığı gıdalar gösterilmiştir (Delves-Broughton, 1990b).

Tablo 2. Bazı ülkelerde nisin kullanımına izin verilen gıdalar ve maksimum nisin miktarları (Delves-Broughton, 1990b).

Ülke	Gıda	Maksimum miktar
ABD	Çeşitli işlem görmüş eritme peynirler	10000IU ^a /g
Avustralya	Peynir, konserve domates, konserve domates püresi ve salçası, konserve çorbalar	Sınırsız
Bulgaristan	Peynir, taze balıkları depolamak için buz	200 mg/kg
Çekoslovakya	Hububat ürünleri, mayonez, işlem görmüş peynir, hazır/yanı-hazır gıdalar, konserve sebzeler, bebek gıdaları	500 IU/g
Singapur	Peynir, konserve gıdalar	Sınırsız

^a1 µg nisin 40 IU (International Unit)=40 RU (Reading Unit)

Tablo 2'den de görüldüğü gibi nisin yasal olarak balık ve balık ürünleri için kullanımı, sadece taze balıkları depolamada kullanılan buz ile konserve gıdalarla sınırlıdır. Ancak gerek taze balık ve balık ürünlerinin raf ömrünü uzatmada gerekse çeşitli patojen mikroorganizmaların gelişimini inhibe etmek için nisin kullanımı ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmaktadır.

El-Bedaway ve diğerleri (1985) yaptıkları bir çalışmada, bir çeşit tatlı su balığının (*Tilapia nilotica*) raf ömrünün

uzatılmasında nisin etkili olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmada, yakalanan balıklar temizlendikten sonra balığın gramında 500 ve 1000 RU nisin olacak şekilde 20'şer ve 30'ar dakika süreyle nisin çözeltilerine daldırılmıştır. Daha sonra kontrol örnekle (herhangi bir çözeltiliye daldırılmamış) birlikte bütün örnekler polietilen torbalar içerisinde sızdırmaz olarak paketlenerek 4°C'de 12 gün depolanmıştır. Örnekler depolandıktan 3 saat, 3, 6, 9 ve 12 gün sonra analize alınarak toplam canlı, koliform bakteri,

laktik asit bakteri ve küf-maya sayımları yapılmıştır. Buna göre 1000 RU/g (30 dakika) konsantrasyonuna ait nisin çözeltilisi ile muamele edilen örneklerde depolamanın 3. gününde toplam canlı, koliform bakteri ve laktik asit bakteri sayılarında kontrol örneklerle kıyasla yaklaşık %90 oranında azalma saptanmıştır (yaklaşık olarak toplam canlı sayısı 10^6 /g; koliform bakteri sayısı 10^3 /g; laktik asit bakteri sayısı 10^3 /g olarak bulunmuştur). Nisinin gram-negatif bakterilere karşı etkili olmadığı belirtilmesine rağmen, bu çalışmada koliform bakteriler üzerinde nisinin etkili bulunması şaşırtıcıdır. İlk 3 günden sonra yapılan sayımlarda nisin aktivitesindeki azalmaya bağlı olarak depolama süresi sonuna kadar artış gözlenmiştir ancak bu artış kontrol örneğin artışından daha düşük olmuştur. Küf ve maya sayımları üzerine ise nisinin etkili olmadığı bulunmuştur. Araştırmacılar bu çalışmanın sonucunda, nisin uygulaması ile ilk 3 gün içerisinde mikrobiyal yükteki azalmaya dikkat çekmişler ve soğutulmuş balıkların uzak mesafelere taşınması sırasında bu uygulamanın etkili olabileceğini belirtmişlerdir.

Vakum paketlenmiş veya modifiye atmosferde paketlenmiş ve özellikle de tütsülenmiş balıklarda botulizm potansiyel bir tehlike oluşturmaktadır. Bu şekildeki paketlenme, balığın bozulmasına neden olan normal aerobik floranın gelişmesini önlemektedir. Aerobik floranın gelişmesinin önlenmesiyle bozulmaya neden olmadan balıklarda *Cl. botulinum*'un gelişmesi ve toksin üretme riski ortaya çıkmaktadır (Delves-Broughton, 1987).

Taylor ve diğerleri (1990), 3 çeşit balık örneğinde *Cl. botulinum* Tip E sporlarının toksin üretimi üzerine nisinin etkisini 10 ile 26°C depolama sıcaklıklarında araştırmışlardır. Bunun için fileto halde morina ve ringa balıkları ile sıcak tütsülenmiş fileto halde uskumru balıkları kullanılmıştır. Balıkların

gramında 250, 500 ve 1000 IU konsantrasyonlarına ulaşabilmek için örneklerle sırasıyla mililitrede 8000, 16000, 32000 IU nisin içeren çözeltiler sprey edilmiştir. 26°C'de depolanan balıklar için mililitrede 16000 ve 32000 IU nisin içeren çözeltiler, 10°C'de depolanan balıklar için ise mililitrede 8000 ve 16000 IU nisin içeren çözeltiler kullanılmıştır. Örnekler anaerobik ortamda (%100 CO₂) paketlenerek daha sonra *Cl. botulinum* Tip E sporları inoküle edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre her 3 balık türü için de nisinin toksin oluşumunu geciktirdiği bulunmuştur. 26°C'de depolanan örneklerdeki toksin oluşumunun kontrol örneklerle (deiyonize suyla muamele edilmiş) kıyasla en çok 2 gün (yüksek nisin konsantrasyonu ile muamele edilmiş tütsülenmiş uskumru filetosu), 10°C'de depolanan örneklerdeki toksin oluşumunun ise kontrol örneklerle kıyasla en az 4 gün (yüksek nisin konsantrasyonu ile muamele edilmiş ringa filetosu) geciktiği saptanmıştır. Yapılan çalışma dikkate alındığında, nisinin toksin oluşumunu önlemediği görülmektedir. Bu konu ile ilgili daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Chen ve diğerlerinin (1997) çalışmalarında ise uskumru (*Scomber australasicus*) filetoları, %3 tuzlu su (sıvı 1), % 0.1 sodyum benzoat içeren %3 tuzlu su (sıvı 2), %3 tuz içeren ve 100°C'de 5 dakika ısı işlem uygulanmış nisin üreticisi *L. lactis* CCRC 14016 kültür filtratı (190 IU nisin/ml; sıvı 3) ve %3 tuz içeren *L. lactis* CCRC 14016 kültürü (10^8 - 10^9 CFU/ml; sıvı 4) olmak üzere 4 farklı sıvıya daldırılmış (4°C'de 24 saat) ve filetolar polietilen torbalara konularak 4°C'de 20 gün depolanmıştır. Depolama sonunda sıvı 3'e daldırılan örneklerde toplam aerobik canlı sayısı (6.2 log CFU/g), 1 ve 2 nolu sıvılara daldırılan örneklerdeki sayımlara göre daha az bulunmuştur (*L. lactis* CCRC 14016 inokülasyonu olduğu için sıvı 4'e ait

sayım dikkate alınmamıştır). Toplam uçucu bazik azot (TVB-N) ve histamin (H) miktarları da sıvı 3 (TVB-N: 238.28 ppm; H: 29.30 ppm) ve sıvı 4'e (TVB-N: 224.29 ppm; H: 17.79 ppm) daldırılan örneklerde diğer sıvılara daldırılan örneklerle kıyasla daha az saptanmıştır. Buna göre araştırmacılar, az tuzlu uskumru fileto işleminde koruyucu olarak nisin üreticisi *L. lactis* CCRC 14016 kültürünün pratikte uygulanabilirliğini tavsiye etmişlerdir.

Soğuk tütüleme tekniği günümüzde işlenmiş balık ürünü üretiminde sıklıkla kullanılan yöntemlerden birisidir. Bu tür ürünlerde mikrobiyal gelişmeyi önleyen faktörler tuz, düşük su aktivitesi, soğuk depolama ve vakum paketlemeye bağlı olarak sınırlı oksijen konsantrasyonudur (Nykanen ve diğ., 1999). Tüketicilerin artık "doğal" ürünleri tercih etmeleri sebebiyle bu ürünlerde nitrit veya diğer koruyucuların çoğunlukla kullanılması istenmemektedir. Bundan dolayı laktik asit bakterileri ya da metabolitleri koruyucu olarak kullanılabilir.

Nykanen ve diğerlerinin (1999) yaptığı bir çalışmada soğuk tütülenmiş gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) mikrobiyolojik ve duyu kalitesi üzerine laktik asit (448 g/kg) ve nisin içeren ticari peyniraltı suyunun (4000-6000 IU nisin/ml) etkisi incelenmiştir. Buna göre, alabalık fileto örneklerinin kilogramında 2.5 g laktik asit, 30 g peyniraltı suyu (nisin içeren) ve 20 g tuz (NaCl) olacak şekilde örnekler test çözeltileriyle enjekte edilmiştir. Kontrol örnekleri için sadece tuz çözeltisi kullanıldığı halde, laktik asitle muamele edilen örnekler için laktik asit içeren tuz çözeltisi, laktik asit ve nisin ile muamele edilen örnekler için ise içerisinde laktik asit ve nisin içeren peyniraltı suyu bulunan tuz çözeltisi kullanılmıştır. Çözelti enjekte edilen örnekler 28°C'de 6 saat tütüleme işleminden sonra dilimlenerek vakum halde paketlenmiş ve

3°C'de depolanmıştır. Böylece aerobik sayımlar ile birlikte anaerobik/fakültatif anaerobik sayımlar depolamanın 1, 8, 15, 22 ve 29. günlerinde yapılmıştır. Buna göre, laktik asit ve nisin içeren peyniraltı suyu kombinasyonuna ait örneklerdeki bakteri sayımlarının diğer örneklerdeki sayımlara göre daha az olduğu saptanmıştır. Depolamanın 22. gününde en düşük bakteri sayılarının laktik asit ve nisin içeren peyniraltı suyu kombinasyonuna ait örneklerde (6.3 log CFU/g) olduğu saptanmıştır. 29. günde bütün uygulamalara ait örneklerin bakteri sayılarında bir artış gözlenmiştir. Yapılan duyu değerlendirme (üçgen testi) sonucunda, 15 gün sonunda bütün uygulamalara ait örneklerin hiçbirisinde fark tespit edilmemiştir. 29 gün sonra ise kontrol ve laktik asitle muamele edilen örnekler koku açısından bozulmuş, ekşi, hoş olmayan, hidrojen sülfür kokusu olarak tanımlandığı halde, laktik asit ve nisin ile muamele edilen örnekler sadece yoğun tütüsü kokulu olarak tanımlanmıştır. Soğuk tütülenmiş balıklarda diğer önemli bir konu da *Listeria monocytogenes* varlığıdır. Nykanen ve diğerleri (2000) çalışmalarında soğuk tütülenmiş gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) *L. monocytogenes*'in gelişimini inhibe etmek için nisin, sodyum laktat ve ikisinin kombinasyonunu kullanmışlardır. Bu çalışmada alabalık filetoları tuz çözeltisiyle enjekte edildikten sonra (son konsantrasyon 20 g/kg olacak şekilde) soğuk tütüleme işlemine tabi tutulmuştur. İşletmede dilimlenmiş ve vakum paketlenmiş örnekler açılarak, üzerlerine sodyum laktat (%60), nisin çözeltisi (4000-6000 IU nisin/ml) veya (1:1) oranında her iki çözelti enjekte edilmiştir. Böylece katkıların son konsantrasyonları yaklaşık olarak sodyum laktat için 36 g/kg, nisin için 240-360 IU/g veya iki kombinasyon için 18 g laktat/kg ve 120-180 IU nisin/g olarak belirlenmiştir. Bütün örneklerde gramda

10^3 *L. monocytogenes* olacak şekilde inokülasyon yapılmış ve örnekler tekrar vakum paketlenerek 8°C'de 17 gün depolanmıştır. Buna göre, nisin ve laktat ayrı ayrı *L. monocytogenes* sayısını azaltmada kontrol örneğe (sadece tuz çözeltisi enjektde edilmiş) kıyasla etkili olmasına karşılık, nisin ve laktat kombinasyonu *L. monocytogenes* sayısını 17 gün sonunda 3.33 log CFU/g'dan 1.8 log CFU/g'a düşürerek *L. monocytogenes* gelişimini inhibe etmede en etkili bulunmuştur. Araştırmacılar, daha güvenli ve iyi kalitede soğuk işlem görmüş balık ürünleri üretimi için laktat ve nisin kombinasyonu kullanımının mümkün olabileceğini belirtmişlerdir.

Sonuç

Nisin, şu anda "Nisaplin" ticari isim adı altında Aplin and Barrett (İngiltere) firması tarafından üretilmektedir. Çeşitli gıdalarda başarıyla kullanımına ait çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda, nisin ile birlikte şelat yapıcı maddelerin (EDTA, laktat, vb.) ve ısıtma/soğutma gibi yöntemlerin kullanılmasıyla sinerjistik etkinin ortaya çıktığı belirtilmiş böylece sadece nisine duyarlı gram-pozitif bakterilerin değil diğer bakteri gruplarının da inhibe olabileceği vurgulanmıştır. Nisinin bazı gıdalarda ısıtma işlemi ile birlikte kullanılması, ısıtma işleminin azaltılmasına bağlı olarak işlem masraflarının azaltılmasına, gıdaların lezzet, görüntü ve besin değerinin iyileşmesine yardımcı olmaktadır. Nisin, katkı maddesi olarak balık ve diğer su ürünleri dikkate alındığında pratikte kullanılmamaktadır. Ancak yapılan çalışmalarla nisinin pratik hayata geçirilmesinde yarar olacaktır. Nisinin gelecekte de koruyucu olarak kullanılmasına devam edilecektir. Özellikle genetik yöntemler sayesinde daha geniş mikrobiyal spektruma ve daha fazla aktiviteye sahip olan modifiye nisin molekülleri elde etmek mümkün olacaktır.

Kaynakça

- Anon, 1997. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. T.C. Resmi Gazete, 16 Kasım 1997, Sayı: 23172, Ankara.
- Ariyapitipun, T., Mustapha, A. and Clarke, A.D. 1999. Microbial shelf-life determination of vacuum-packaged fresh beef treated with polylactic acid, lactic acid and nisin solutions. *Journal of Food Protection*. 62(8): 913-920.
- Bayoumi, S. 1991. Nisin and yoghurt manufacture. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* 13: 65-69.
- Bierbaum, G. and Sahl, H. 1993. Lantibiotics-unusually modified bacteriocin-like peptides from gram-positive bacteria. *Zbl. Bakt.* 278: 1-22.
- Chen, H., Chen, M. and Chang, Y. 1997. Processing of low-salted mackerel filets using biopreservative, p. 297-306. In: M. Üçüncü, U. Güvenç, M. Serdaroglu, M. Çetin and Y. Göksungur [eds], *The Sixth International Congress on Food Industry 'New Aspects on Food Processing'*. E.Ü. Basımevi, Bornova, İzmir.
- Daeschel, M.A. 1989. Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. *Food Technology*. January: 164-167.
- Daeschel, M.A., Jung, D. and Watson, B.T. 1991. Controlling wine malolactic fermentation with nisin and nisin-resistant strains of *Leu. oenos*. *Applied and Environmental Microbiology*. 57(2): 601-603.
- Delves-Broughton, J. 1987. Nisin in food preservation. *North-European-Dairy-Journal*. 53(1): 1-8.
- Delves-Broughton, J. 1990a. Nisin and its application as a food preservative. *Journal of the Society of Dairy Technology*. 43(3): 73-76.
- Delves-Broughton, J. 1990b. Nisin and its uses as a food preservative. *Food Technology*. November: 100, 102, 104, 106, 111-112, 117.
- Delves-Broughton, J. and Gasson, M. J. 1994. Nisin, p. 99-131. In: V.M. Dillon and R.G. Board [eds], *Natural Antimicrobial Systems and Food Preservation*. CAB International, Wallingford, Oxon.
- Delves-Broughton, J., Williams, G. C. and Wilkinson, S. 1992. The use of the

- bacteriocin, nisin, as a preservative in pasteurized liquid whole egg. Letters in Applied Microbiology. 15: 133-136.
- El-Bedaway, A. El-F., Zaki, M.S., El-Sherbiney, A.M. and Khalil, A.H. 1985. The effect of certain antibiotics on boliti fish (*Tilapia nilotica*) preservation. Die Nahrung. 29(3): 303-308.
- Hansen, J.N. 1994. Nisin as a model food preservative. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 34(1): 69-93.
- Henning, S., Metz, R. and Hammes, W.P. 1986. Studies on the mode of action of nisin. International Journal of Food Microbiology. 3: 121-134.
- Jack, R.W., Tagg, J.R. and Ray, B. 1995. Bacteriocins of Gram-positive bacteria. Microbiological Reviews. June: 171-200.
- Kanatani, K., Tahara, T., Yoshida, K., Yamada, K., Miura, H., Sakamoto, M. and Oshimura, M. 1992. Inhibition of hiochi-bacteria by nisin. J. of Fermentation and Bioengineering. 74(3): 194-195.
- Klaenhammer, T.R. 1988. Bacteriocins of lactic acid bacteria. Biochemie. 70: 337-349.
- Kojic, M., Svircevic, J., Banina, A. and Topisirovic, L. 1991. Bacteriocin-producing strain of *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* S50. Applied and Environmental Microbiology. 57(6): 1835-1837.
- Liu, W. and Hansen, J.N. 1990. Some chemical and physical properties of nisin, a small-protein antibiotic produced by *Lactococcus lactis*. Applied and Environmental Microbiology. 56(8): 2551-2558.
- Magdoub, M.N.I., Shehata, A.E., El-Samragy, Y.A. and Hassan, A.A. 1984. Interaction of heat shock, manganese, L-alanine, B-alanine and nisin in spore germination of some psychrotrophic *Bacillus* strains in milk. Milchwissenschaft. 39(3): 159-162.
- Nykanen, A., Lapvetelainen, A., Hietanen, R. and Kallio, H. 1999. Applicability of lactic acid and nisin to improve the microbiological quality of cold-smoked rainbow trout. Z Lebensm Unters Forsch A. 208: 116-120.
- Nykanen, A., Weckman, K. and Lapvetelainen, A. 2000. Synergistic inhibition of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked rainbow trout by nisin and sodium lactate. Int. J. Food Microb. 61: 63-72.
- Ogden, K. 1986. Nisin: a bacteriocin with a potential use in brewing. J. Inst. Brew. 92: 379-383.
- Ogden, K., Waites, M.J. and Hammond, J.R.M. 1988. Nisin and brewing. J. Inst. Brew. 94: 233-238.
- Ouwehand, A.C. 1998. Antimicrobial components from lactic acid bacteria, p. 139-159. In: S. Salminen and A. von Wright [eds.], Lactic Acid Bacteria. Marcel Dekker Inc., New York.
- Piard, J.C., Delorme, F., Giraffa, G., Commisaire, J. and Desmazeaud, M. 1990. Evidence for a bacteriocin produced by *L. lactis* CNRZ 481. Neth. Milk Dairy J. 44: 143-158.
- Radler, F. 1990. Possible use of nisin in winemaking. II. Experiments to control lactic acid bacteria in the production of wine. Am. J. Enol. Vitic. 41(1): 7-11.
- Roller, S. and Lusengo, J. 1997. Developments in natural food preservatives. Agro-Food-Industry Hi-Tech. July/August: 22-25.
- Scott, V.N. and Taylor, S.L. 1981. Effects of nisin on the outgrowth of *Cl. botulinum* spores. J. Food Sci. 46: 117-120, 126.
- Splittstoesser, D.F. and Stoyla, B.O. 1989. Effects of various inhibitors on the growth of lactic acid bacteria in a model grape juice system. Journal of Food Protection. 52(4): 240-243.
- Taylor, L.Y., Cann, D.D and 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.
- Uhlman, L., Schillinger, U., Rupnow, J.R. and Holzapfel, W.H. 1992. Identification and characterization of two bacteriocin-producing strains of *L. lactis* isolated from vegetables. Int. J. Food Microbiology. 16(2): 141-151.
- Vandenbergh, P.A. 1993. Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. FEMS Microbiology Reviews. 12: 221-237.
- Zeza, N., Pasini, G., Lombardi, A., Merceiner, A., Spettoli, P., Zamorani, A. and Nuti, M.P. 1993. Protection of a bacteriocin active on lactate-fermenting Clostridia by *L. lactis* subsp. *lactis* immobilized in coated alginate beads. Journal of Dairy Research. 60: 581-591.