

HAYVANSAL ÜRÜNLERDEKİ İNHİBİTÖRLER

Suzan Yalçın*

Inhibitors in animal products

Summary: *Many inhibitors for microorganisms naturally present in animal products. Inhibitors affect microorganisms by acting on the cell, cell wall or cell membranes, by interfering with the enzyme systems, by interfering with the genetic mechanism of the cell or by binding essential nutrients.*

The most important inhibitor in egg white is lysozyme. Conalbumin is the main inhibitor of Gram negative bacteriae. Some of the inhibitors in milk are antibiotics, bacterial viruses (bacteriophages) and various natural inhibitors. There are various inhibitors for microorganisms in animal tissues. Lysozymes, polypeptides, polyamino acids and antimicrobial free fatty acids can be found in animal products.

Özet: *Mikroorganizmalar için bir çok inhibitör, hayvansal ürünlerde doğal olarak mevcuttur. İnhibitörler hücre, hücre duvarı veya hücre membranları üzerine etki ederek, enzim sistemlerine ve hücrenin genetik mekanizmasına zarar vererek veya önemli besin unsurlarını bağlayarak mikroorganizmaları etkiler.*

Yumurta akındaki en önemli inhibitör lizozimdir. Konalbumin gram negatif bakterilerin başlıca inhibitörüdür. Sütteki inhibitörlerin bir kısmı antibiyotikler, bakteriyel viruslar (bakteriofajlar) ve çeşitli doğal inhibitörlerdir. Hayvansal dokularda mikroorganizmalar için çeşitli inhibitörler vardır. Lizozim, polipeptidler, poliamino asitler ve antimikrobiyel serbest yağ asitleri hayvansal ürünlerde bulunabilir.

İnhibitörlerin çoğu, yumurta akı, süt ve çeşitli hayvansal dokularda bulunmaktadır.

Yumurta Akı

Yumurta akında bakterilerin gelişimi, lizozim, enzim inhibitörleri (ovomukoid), avidin, konalbumin ve yüksek bir pH'nın mevcudiyetinden dolayı sınırlandırılır. Yumurta akında bulunan inhibitörler Tablo 1'de gösterilmektedir (2).

*Araş. Gör., A.Ü. Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara.

Tablo 1. Yumurta akındaki inhibitörler

Inhibitör	Mikroorganizmalar üzerine etkisi	Yumurta akı kuru madesindeki miktarı (%)
Lizozim	Hücre duvarlarının lize edilmesi (gram pozitif bakterilerin)	3.5
Ovomukoid	Enzim inhibitörü	11.0
Konalbumin	Demir bağlayıcı	13.0
Avidin	Biotin bağlayıcı	0.05
pH	Gelişimi sınırlayan alkali şartlar	—

Lizozim: 1922 yılında, Fleming, yumurta akında lizozim adında litik bir ajanın bulunduğunu belirtmiştir. Bu enzim muramidaz, N-asetilmuramidaz glikanohidrolaz, glikohidrolaz, mukopeptid glikohidrolaz ve β -glukozaminidaz gibi adlarla da belirtilmektedir (2).

Lizozim; yumurta akında, sütte ve hayvansal dokuların çoğunda ve sekresyonlarında bulunur. Farklı hayvan türlerindeki ve aynı hayvanın değişik organlarındaki lizozimler kimyasal ve immunolojik olarak farklı fakat biyolojik aktiviteleri yönünden aynıdır. Lizozim içeriği, sadece türler arasında değil aynı zamanda aynı türün soyları arasında da değişir. Tavuk yumurtasının akı, yaklaşık % 3.5 (kurumadde üzerinden) lizozim içerir. Lizozim, kullanılmaya hazır bir kaynaktır. Isıtılmış lizozim, alkali solüsyonlarda stabil değildir fakat pH 8.7 ile 9.0'da bile oldukça stabildir. Optimum aktivite, pH 5.3-6.6'da gözlenir (2). Lizozim, gram pozitif bakterilerin hücre zarını eriterek bakterilerin yıkımlanmalarına yol açar (2, 19). Bakterilerin, lizozim tarafından hücre duvarlarının lizisine karşı duyarlılıkları farklıdır. Bazı mikrokoklar, 1 μ g/ml lizozim ile hemen lize edilirler. *B. cereus* ise, 50 μ g/ml lizozimle ancak lize edilir. Gram negatif bakteriler, hücrenin duyarlı mukopolisakkaritlerini koruyucu bir engel olarak rol oynayan lipoprotein-lipopolisakkarit tabakasından dolayı, lizozime oldukça duyarsızdırlar. Eğer bu engel bazı işlemlerle hasara uğratılırsa, enzim, mukopeptid tabakasına tesir edebilir ve hücre duvarının kısmi veya tam lizisine sebep olabilir (2).

Enzim inhibitörleri: Yumurta akında bulunan enzim inhibitörleri; ovoinhibitörler, ovomukoidler ve bir ficin-papain inhibitörüdür (2). Matsushima (16), yumurta akında ovoinhibitör adını verdiği bir inhibitörün bulunduğunu ve bu inhibitörün fungal proteinazı inhibe ettiğini bildirmiştir. Saflaştırılmış ovomukoid ise, fungal proteinazı inhibe etmemiştir. Ovoinhibitör, ovomukoidden daha etkili bir tripsin inhibitörüdür.

Avidin : Bir mol avidin iki mol biotinle birleşir (2). Böylece, bir besin unsuru olarak biotin için kuvvetli bir gereksinime sahip organizmalar bu bileşik tarafından inhibe edilirler (2, 19).

Konalbumin : Bu protein, yumurta akının total kurumaddesinin yaklaşık % 12'sini kapsar (2). Konalbumin demirle bakterilerin demiri kullanamayacakları bileşikleri oluşturarak bakterilerin yıkımlanmalarına yol açar (2,4,19). Demir tuzları yumurta akına ilave edildikleri zaman, kompleks oluşumundan dolayı pembe bir renklenme meydana gelir (2,4). Konalbumin, aynı zamanda, demir tuzlarına benzer bir şekilde bakır ile de kompleks oluşturur. Konalbumin'in 70-79°C de 3 dk ısıtılması aktivitenin % 80 oranında kaybına yol açar. pH 7,6'da ısıtıldığı zaman, konalbumin presipite olur. Konalbumin ve demir kompleksi, proteolizise ve ısı ile (termal) denatürasyona karşı demirsiz konalbuminden daha fazla dayanıklıdır. Organizmaların çoğu, konalbuminin mevcudiyeti ve demirin yokluğu ile inhibe edilir. Bu organizmalar mayaları, gram negatif ve gram pozitif bakterileri içerir. Konalbumin mikroorganizmaları öldürmez fakat sadece gelişmeyi inhibe eder (2).

pH : Karbon dioksit yumurta akını terkettiği zaman tesbit edilen yüksek pH, çoğu organizmaların gelişimini inhibe eder (2).

Süt ve Ürünleri

Sütte bulunabilen unsurların bir kısmı, mikroorganizmalar üzerine çeşitli etkilere sahiptir. Bu unsurlar; antibiyotikleri, pestisitleri, bakteriyel virusları, sterilize edici veya temizleyici bileşikleri, lizozimi, katyonik proteinleri, laktoferrini, lökositleri (2), laktoperoksidazı (2, 17), laktenin L₁'i, agglutininleri (18), yağ asitlerini, aldehytleri, ketonları, sülfür bileşiklerini, aminleri, etileteri, kloroformu, asetonitrili ve/veya etilendikloridi (14) içerirler.

Antibiyotikler : Antibiyotikler, antimikrobiyel aktiviteye sahip mikrobiyel metabolik ürünler olarak tanımlanabilir (2). Bir antibiyotik olan nisin, *Str. lactis*'in bazı suşları tarafından oluşturulur (2, 6). Nisin, çiğ sütte ve bazı süt ürünlerinde az miktarlarda doğal olarak mevcuttur (2). Nisin, stafilkok ve klostridia gibi bazı gram pozitif bakterileri inhibe eder (17).

Lizozim : Keçi sütü, koyun sütünün veya inek sütünün yaklaşık iki katı kadar lizozim içerir. İnsan sütü yaklaşık 400 mg/kg veya keçi sütünün 1500 katı kadar lizozime sahiptir. Domuz sütü esasen lizozim içermez. Sütte lizozimin nisbeten düşük konsantrasyonundan

dolayı, mikroorganizmalar üzerine etkisi yumurta akı lizozimininki kadar önemli değildir (2).

Lökositler: Lökositler veya fagositler yeni sağılmış sütte mevcuttur. Lökositler özellikle mastitisli sütlerde fazladır (2).

Laktoperoksidaz: İnhibisyon için laktoperoksidaz yanında, tiyosiyanat ve hidrojen peroksidin bulunması da gereklidir (2). Hidrojen peroksit sütün laktoperoksidazı ve tiyosiyanat ile birlikte bir kompleks oluşturur. Bu kompleks, çeşitli gram pozitif ve *E. coli*'yi içeren gram negatif bakterileri inhibe eder (17). Süte hidrojen peroksit ilavesi, antimikrobiyel aktiviteyi arttırır. Hidrojen peroksit, mikroorganizmaların metabolik bir ürünüdür (2).

Laktenin L₁: Özel olarak *Str. pyogenes*'in gelişmesini durduran maddedir. Özellikleri ve yapısı tam olarak bilinmiyor. 70°C'de 20 dakikalık ısıtma işleminde yıkıma uğrar (18).

Agglutininer: Duyarlı mikroorganizmaları özel tarzda agglutine edebilen antikorlardır. Streptokok ve laktobasillerin birçok türü üzerinde etkilidirler. Agglutininer, duyarlı mikroorganizmaları kümeleştirerek hareketsiz hale geçirirler. Mikrop kümeleri ya yağ globülleri ile yüzeye sürüklenirler yada yağsız sütte kabın dibine çökerler. Bu son durumda mikroorganizma kümeleri koagüle kazein içinde hap-solurlar ve böylelikle inhibisyona uğrarlar. Dayanıklı mikroorganizmalar ise agglutine olmazlar, süt içinde serbest halde kalarak aktivite-lerini sürdürürler ve çoğalmaya devam ederler (18).

Yağ asitleri: Yağ asitlerinin mikroorganizmalar üzerine etkisi; inhibe edici ve/veya stimüle edici olabildiği gibi, hiç bir etkiye de sahip olmayabilir. Etki; organizmanın çeşidine, yağ asitlerine ve konsantrasyonuna, besinin pH'sına veya diğer bazı bileşiklerin mevcudiyetine bağlıdır. Altı veya daha fazla karbon atomuna sahip yağ asitlerinin gram pozitif mikroorganizmalar üzerine inhibe edici etkileri, gram negatif mikroorganizmalar üzerine olduğundan daha fazladır. Daha kısa zincirli yağ asitleri, gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerine eşit etkilere sahiptir. Uzun zincirli yağ asitleri, gram negatif hücrelerin lipopolisakarit tabakasını geçemez (2).

İnhibisyonun çeşidi ve etki şekli, yağ asidine ve konsantrasyonuna bağlıdır. Düşük konsantrasyonlarda, bazı yağ asitleri organizmayı stimüle ederler. Daha yüksek konsantrasyonlarda ise, aynı organizma için inhibe edicidirler. Genelde, toksik etki bakteriostatiktir, fakat yüksek konsantrasyonlarda bazı bakteriler için, bakterisid olabilir.

Bakteriostatik etki, önemli besin unsurlarının adsorpsiyonunun blokajından dolayıdır. Yağ asitleri, hücre membranlarının permeabilitesini etkileme ve transfer mekanizmasını inhibe etmeleri yanında, enzim sistemlerinin etkisini de inhibe ederler (2).

Bazı unsurlar yağ asitlerinin inhibe edici etkisine müdahale ederler. Bu unsurlar; lesitin, kolesterol, alfa-tokoferol, serum albumini, nişasta, safra tuzları ve saponin'dir (2).

Serbest yağ asitlerinin miktarı, peynirin olgunlaşması süresince artar. Yağ asitlerindeki bu artış nedeniyle, peynirde gram pozitif mikroorganizmaların gelişmesi inhibe edilir (2).

Bazı araştırmacılar; yağ asitlerinin, aldehitlerin, ketonların, sülfür bileşiklerinin, aminlerin, etileterin, kloroformun, asetonitrilin ve etilendikloridin, *E. coli* (8), *S. typhimurium* (9), *Staph. aureus* (10), *Str. lactis* (11), *L. citrovorum* (12) ve *Str. thermophilus* (13) üzerine çeşitli derecelerde inhibe edici etkilere sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Hayvansal Dokular

Hayvanlar, mikroorganizmaların invazyonunu inhibe etmek için savunma mekanizmalarına sahiptirler. Bunlar, doğal ve immun antikorlarla birlikte çeşitli antibakteriyel unsurları da içerir. Hayvanın kesilmesinden sonra, bu unsurların oluşumu için mekanizmalar durur ve oluşan unsurlar dokuda kalır (2).

Sığırların bazı dokuları (beyin, kalp, böbrek, karaciğer ve dalağın), antistafilokokal unsurlara sahiptir. Antibakteriyel özelliklere sahip polipeptidler bazı dokulardan (timus, dalak ve tiroid'in) ekstrakte edilmiştir. Bazı sentetik poliamino asitler hem bakteriler hem de virüslere karşı aktiftir. Poliamino asitlerin antibakteriyel etkisinin, hücre duvarının unsurları ile birleşmesinden dolayı normal hücre fonksiyonlarını bozması sonucu olduğu düşünülür (2).

Bachrach ve Weinstein (1), doğal olarak bulunan poliaminlerin (spermin ve spermidin'in) antibakteriyel etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Primer amino gruplarının sayısı ve alifatik zincirin uzunluğu, bakteriyel gelişmenin inhibe edilmesinde rol oynar. Bir hidroksil grubunun primer bir amino grubunun yerine geçmesi, antibakteriyel aktiviteyi önemli bir oranda azaltır. Bununla birlikte, triamin molekülünde sekonder bir amino grubunun mevcudiyeti gelişmenin inhibisyonu için önemli değildir. İkinci bir aminin metilasyonu antimikrobiyel aktivitede sadece çok az bir değişikliğe neden olur. Yedi karbon atomlu bir alifatik zincir, *E. coli*'nin gelişiminin inhibisyonu için optimaldir.

Staph. aureus, poliaminlerin inhibe edici etkisine *E. coli*'den daha fazla duyarlıdır. Poliaminlerin antibakteriyel aktivitesi, ortamın pH'sına bağlıdır. Aktivite, alkali pH değerlerinde maksimaldir (2).

Lenf düğümlerinde, gram pozitif organizmalara karşı aktif bir unsurun hasara uğratılmış lökositlerden türetildiği düşünülür (2).

Bazı hormonlar mikroorganizmalar üzerine antibakteriyel etkiye sahiptir. Steroidler, gram negatif organizmaların gelişmesini geciktirmez. Minimum progesteron konsantrasyonu (15 µg/ml), *Staph. aureus*'un gelişiminin inhibisyonu için gereklidir. Hormonun konsantrasyonunun artması ile inhibisyon da artmaktadır. Epiandrosteron 20 µg/ml veya daha fazla konsantrasyonda bulunduğu stafilokokal gelişmeyi önemli derecede geciktirir (2). Pregnenolon, 4-pregnen-20 β -ol-3-on ve 5 α-pregnan da antistafilokokal özelliklere sahiptirler. Pregnanolon, pregnandion, 11 α-hidroksiprogesteron ve 17 α-hidroksiprogesteron ise antibakteriyel aktivite göstermezler (20). Deoksikortikosteron, gram pozitif bakterilerin, mayaların ve küflerin gelişimini önemli derecede inhibe eder. Gram negatif bakteriler ise genel olarak, deoksikortikosterona karşı dirençlidir (15). Gram pozitif bakteriler, 1-100 µg/ml dimetoksiprogesteron konsantrasyonunda inhibe edilirler. Dimetoksiprogesteron, gram negatif bakteriler ve mayalar üzerine ise inhibe edici etkiye sahip değildir (3).

Konowalchuk ve Speirs (7), sığır kıymasının ekstraktlarında viral bir inhibitör bulunduğunu belirtmişlerdir. Cocksackievirus B5'in bir inhibitörü, sığır kıyması ekstraktlarında bulunmuştur. İnhibitör, kimyasal ve fiziksel özellikleri ile bir antikora benzer. Sığır kıymasının ekstraktına deneysel olarak katılan virus ile inhibitörler arasındaki kimyasal bağlar, 4°C'de muhafaza süresince oluşturulur. Bağlar, hidroklorik asit ile pH 3.0'de 1 saatlik uygulama ile açılır ve virus serbest bırakılır. Bu bulgular, sığır eti kıymasından virusun uzaklaştırılmasında önemli olabilir. Poliovirus, et ekstraktlarının çoğunda inaktive edilir. Çiğ etteki ajan, coxsackievirus B5'e karşı aktiftir.

Antimikrobiyel serbest yağ asitleri, hayvansal ürünlere (özellikle fermente sucuklarda) bulunabilir (2).

Sonuç olarak, besinlerde bir çok doğal antimikrobiyel inhibitör vardır. Bu doğal bileşiklerin çoğu, gram pozitif organizmaları gram negatif organizmalardan daha fazla inhibe eder. Belki de, besinlerin bozulmasının daha çok gram negatif organizmalarla ilgili olmasının tek nedeni bu durum olabilir.

Kaynaklar

1. **Bachrach, U. and Weinstein, A.** (1970). *Effect of aliphatic polyamines on growth and macromolecular syntheses in bacteria.* J. Gen. Microbiol., 60: 159-165.
2. **Banwart, G.J.** (1983). "Basic Food Microbiology". AVI Publ. Comp., Inc. Westport, Connecticut.
3. **Casas-Campillo, C., Balandrano, D. and Galarza, A.** (1961). *Steroids clix. Antimicrobial properties of 21,21-dimethoxy progesterone and other progesterone analogues.* J. Bacteriol., 81 (3): 366-375.
4. **Feeney, R.E. and Nagy, D.A.** (1952). *The antibacterial activity of the egg white protein conalbumin.* J. Bacteriol., 64 (5): 629-643.
5. **Fitzgerald, T. and Yotis, W.W.** (1971). *Interference with cellular incorporation of substrates into Staphylococcus aureus by hormones.* J. Med. Microbiol., 4: 97-106.
6. **Galesloot, E.** (1959). *The propagation of nisin-producing starters.* XV Int. Dairy Cong., Vol. 2, Sec. 3, 547-551.
7. **Konowalchuk, J. and Speirs, J.I.** (1973). *Identification of a viral inhibitor in ground beef.* Can. J. Microbiol., 19: 177-181.
8. **Kulshrestha, D.C. and Marth, E.H.** (1974). *Inhibition of bacteria by some volatile compounds associated with milk. I. Escherichia coli.* J. Milk Food Technol., 37 (10): 510-516.
9. **Kulshrestha, D.C. and Marth, E.H.** (1974). *Inhibition of bacteria by some volatile compounds associated with milk. II. Salmonella typhimurium.* J. Milk Food Technol., 37 (11): 539-544.
10. **Kulshrestha, D.C. and Marth, E.H.** (1974). *Inhibition of bacteria by some volatile compounds associated with milk. III. Staphylococcus aureus.* J. Milk Food Technol., 37 (11): 545-550.
11. **Kulshrestha, D.C. and Marth, E.H.** (1974). *Inhibition of bacteria by some volatile compounds associated with milk. IV. Streptococcus lactis.* J. Milk Food Technol., 37 (12): 593-599.
12. **Kulshrestha, D.C. and Marth, E.H.** (1974). *Inhibition of bacteria by some volatile compounds associated with milk. V. Leuconostoc citrovorum.* J. Milk Food Technol., 37 (12): 600-605.
13. **Kulshrestha, D.C. and Marth, E.H.** (1974). *Inhibition of bacteria by some volatile compounds associated with milk. VI. Streptococcus thermophilus.* J. Milk Food Technol., 37 (12): 606-611.
14. **Kulshrestha, D.C. and Marth, E.H.** (1975). *Some volatile and nonvolatile compounds associated with milk and their effects on certain bacteria. A review.* J. Milk Food Technol., 38 (10): 604-620.
15. **Lester, G. and Hechter, O.** (1958). *Effect of deoxycorticosterone on the growth of microorganisms.* J. Bacteriol., 76 (4): 365-367.
16. **Matsushima, K.** (1958). *An undescribed trypsin inhibitor in egg white.* Science, 127 (3307): 1178-1179.
17. **Northolt, M.D.** (1984). *Growth and inactivation of pathogenic microorganisms during manufacture and storage of fermented dairy products. A review.* Neth. Milk Dairy J., 38 (3):135-150.

18. **Özalp, E. ve Kaymaz, Ş.** (1985). "Süt. Kimyasal Bileşim ve Mikroflora". Teksir 84-85/17. A.Ü. Vet. Fak.-Ankara.
19. **Tekinşen, O.C.** (1980). "Yumurta". Tav. Der. Yay. No.: 1, Ogun Kardeşler Matbaacılık Sanayii-Ankara.
20. **Yotis, W. and Stanke, R.** (1966). *Bacteriostatic action of progesterone on Staphylococci and other microorganisms.* J. Bacteriol., 92 (5): 1285-1289.

31.7. 1985 günü gelmiştir.