



**PASTIRMADAN İZOLE EDİLEN VE TANIMLANAN
LAKTİK ASİT BAKTERİ SUŞLARININ
PROBİYOTİK VE TEKNOLOJİK ÖZELLİKLERİ**

Kübra ÇİNAR TOPÇU

**Doktora Tezi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Prof. Dr. Güzin KABAN
2019**

Her hakkı saklıdır

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**PASTIRMADAN İZOLE EDİLEN VE TANIMLANAN LAKTİK
ASİT BAKTERİ SUŞLARININ PROBİYOTİK VE TEKNOLOJİK
ÖZELLİKLERİ**

Kübra ÇİNAR TOPÇU

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ERZURUM
2019**

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

PASTIRMADAN İZOLE EDİLEN VE TANIMLANAN LAKTİK ASİT
BAKTERİ SUŞLARININ PROBİYOTİK VE TEKNOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Prof. Dr. Güzin KABAN danışmanlığında, Kübra ÇİNAR TOPÇU tarafından hazırlanan bu çalışma ~~03/03/2019~~ tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Gıda Mühendisliği Bilim Dalı'nda Doktora tezi olarak ~~oybirliği / oy çokluğu~~ (S./S.) ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof.Dr. Muhammet ARICI

İmza :

Üye : Prof.Dr. Mükerrerem KAYA

İmza :

Üye : Prof.Dr. Ahmet Hilmi ÇON

İmza :

Üye : Prof.Dr. Güzin KABAN

İmza :

Üye : Prof.Dr. Özlem BARIŞ

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu ~~18.07.2019~~ tarih ve ~~29~~ / ~~89~~ nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet KARAKAN
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP (Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi) projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: FDK-2018-6542

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Doktora Tezi

PASTIRMADAN İZOLE EDİLEN VE TANIMLANAN LAKTİK ASİT BAKTERİ SUŞLARININ PROBİYOTİK VE TEKNOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Kübra ÇİNAR TOPÇU

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Güzin KABAN

Araştırmada, pastirmadan izole edilen ve genotipik olarak tanımlanan 80 laktik asit bakteri suşunun teknolojik ve probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Laktik asit bakteri suşları proteolitik aktivite, asit üretimi, oto-agregasyon ve co-agregasyon yeteneği, farklı pH değerlerinde, farklı sıcaklıklarda ve yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişme, termotolerant kapasite ve biyofilm oluşumu, antibiyotik hassasiyeti, safra tuzuna, düşük pH'ya, simüle mide ve bağırsak sıvısına direnç, hücre yüzey hidrofobisitesi ve ayrıca adhezyon kapasiteleri yönünden incelenmiştir. Suşların önemli bir kısmı proteolitik aktivite göstermemiştir. En yüksek asit üretimini *Lactobacillus plantarum* K73 (4,23) göstermiş bunu sırasıyla *Pediococcus pentosaceus* K66B (4,29), *P. pentosaceus* K55 (4,31), *P. pentosaceus* K56 (4,59) ve *L. sakei* K103 (4,61) takip etmiştir. pH 4'de suşların önemli bir kısmı, pH 8'de ise tümü gelişme göstermiştir. Suşlar, 25°C'de çok iyi bir gelişme gösterirken, diğer sıcaklıklarda suşa bağlı olarak değişimler söz konusu olmuştur. Buna karşın hiçbir suş termololerant özellik göstermemiştir. Biyofilm oluşumu ise sadece 3 suшта gözlemlenmiştir. Suşların önemli bir kısmının vankomisin, kanamisin, gentamisin ve streptomisine karşı dirençli olduğu, sefalotine karşı ise sadece iki suşun (K22 ve K66B) dirençli olduğu tespit edilmiştir. Hem 25°C hem de 37°C'de safra tuzu seviyesi arttıkça suşların gelişim yüzdesi azalmıştır. Hidrofobisite testinde beş *P. pentosaceus* (K7, K41, K44, K51, K81), bir *P. acidilactici* K99 suşu en yüksek değerleri vermiştir. Muhtemel 6 probiyotik suşun, %7 tuz konsantrasyonunda zayıf geliştiği, %10 ve %15 tuz konsantrasyonunda ise gelişemediği belirlenmiştir. En yüksek oto-agregasyon *P. pentosaceus* K41 (%17,62), co-agregasyon ise *P. pentosaceus* K44 suşunda (%26,23) tespit edilmiştir. Suşlar pH 2'de bile yüksek asitliğe tolerans göstermiştir. Simüle mide ve bağırsak ortamında da suşlar önemli oranda canlılıklarını sürdürmüştür. Suşlar, Caco-2 ve HT-29 hücre hatlarında düşük adhezyon yeteneğine sahipken, gastrointestinal sistem koşullarına genellikle dayanıklılık göstermiştir.

2019, 97 sayfa

Anahtar Kelimeler: Probiyotik, Starter, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, Pastırma, Hidrofobisite, Caco-2

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

PROBIOTIC AND TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF LACTIC ACID BACTERIA STRAINS ISOLATED AND IDENTIFIED FROM PASTIRMA

Kübra ÇİNAR TOPÇU

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Güzin KABAN

In this research, it was aimed to determine of technological and probiotic properties of 80 lactic acid bacteria strains identified genotypically and isolated from pastırma. Lactic acid bacteria strains were investigated in terms of proteolytic activity, acid production, auto-aggregation and co-aggregation ability, growth at different pH values, different temperatures and high salt concentrations, thermotolerant capacity and biofilm formation, antibiotic sensitivity, bile salt, resistance to low pH and to simulated gastric and intestinal juice, cell surface hydrophobicity as well as adhesion capacities. Most of the strains not showed proteolytic activity. *Lactobacillus plantarum* K73 (4,23) showed the highest acid production, followed by *Pediococcus pentosaceus* K66B (4,29), *P. pentosaceus* K55 (4,31), *P. pentosaceus* K56 (4,59) ve *L. sakei* K103 (4,61), respectively. A significant number of strains in pH 4 and all strains in pH 8 grew. While the strains showed very good growth at 25 ° C, the changes depending on the strain at other temperatures were observed. In contrast, none of the strains showed thermololerant property. Biofilm formation was observed only in 3 strains. A significant number of strains were founded to be resistant to vancomycin, kanamycin, gentamicin and streptomycin, also only two strains (K22 and K66B) were determined to be resistant to cephalotin. The percentage growth of the strains decreased as increased the bile salt level at both 25 °C and 37 °C. The five *P. pentosaceus* (K7, K41, K44, K51, K81) and one *P. acidilactici* K99 strains gave the highest values for the hydrophobicity test. It was determined that the probable 6 probiotic strains grew poorly at 7% salt concentration and not grew at 10% and 15% salt concentrations. The highest auto-aggregation was observed in *P. pentosaceus* K41 (17.62%) and co-aggregation was detected in *P. pentosaceus* K44 (26.23%). The strains had high acidity tolerance even at pH 2. The strains maintained considerably their viability in the simulated gastric and intestinal juice. While the strains had low adhesion ability in Caco-2 and HT-29 cell lines, they showed resistance generally to gastrointestinal system conditions.

2019, 97 pages

Keywords: Probiotic, Starter, *Pedicoccus*, *Lactobacillus*, Pastırma, Hydrophobicity Caco-2

TEŞEKKÜR

Lisans ve lisansüstü eğitimim sırasında yanımda olan bilgi ve önerileri ile bana yol gösteren, bilimsel çalışma disiplini öğrenmemde ve akademik gelişimimde büyük emeği olan yardım ve desteğini her zaman hissettiğim Sayın Hocam Prof. Dr. Güzin KABAN'a minnettarlığımı bildirir, içtenlikle teşekkür ederim.

Bu çalışmanın her anında destek veren, üstün bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Sayın Hocam Prof. Dr. Mükerrerem KAYA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Başta Pınar ANLAR, Kübra FETTAHOĞLU, Bilge Sayın BÖREKÇİ ve Rahimeh JABERİ olmak üzere yardımlarını esirgemeyen tüm ekip arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitimim süresince “2228-B Yüksek Lisans Öğrencileri İçin Doktora Burs Programı” kapsamında maddi anlamda destek sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Çalışmamı FDK-2018-6542 no'lu proje ile destek sağlayan Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Doktora çalışmamın laboratuvar aşamasını gerçekleştirmem için her türlü imkânı sağlayan Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DAYTAM) Müdürlüğüne ve çalışanlarına teşekkür ederim. Bu esnada yardımlarını esirgemeyen kıymetli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Nihal Şimşek ÖZEK ve Dr. Öğr. Üyesi Ferhunde AYSİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca her anımda yanımda olup, desteklerini benden esirgemeyen, varlıkları ile varlığımı güç veren kıymetli annem, babam ve kardeşlerime sonsuz minnet, şükran ve teşekkürlerimi sunarım.

Kübra ÇİNAR TOPÇU

Haziran, 2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	11
3. MATERYAL ve METOD.....	24
3.1. Materyal.....	24
3.1.1. Bakteri suşları ve kültür koşulları	24
3.2. Yöntem	24
3.2.1. Proteolitik aktivite	24
3.2.2. Asit üretimi.....	25
3.2.3. Farklı pH değerlerinde gelişme	25
3.2.4. Farklı sıcaklıklarda gelişme.....	26
3.2.5. Termotolerant kapasitesinin belirlenmesi	26
3.2.6. Biyofilm oluşumu.....	26
3.2.7. Antibiyotik hassasiyeti	27
3.2.9. Safra tuzuna direnç	27
3.2.10. Hücre yüzey hidrofobisitesi.....	27
3.2.11. Yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişme	28
3.2.12. Düşük pH değerine direnç	28
3.2.13. Oto-agregasyon ve co-agregasyon	29
3.2.14. Simüle mide ve bağırsak sıvısına direnç	29
3.2.15. Adhezyon kapasitesi.....	30
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	38
4.1. Proteolitik aktivite	38
4.2. Asit üretim yeteneği	42

4.3. Farklı pH değerlerinde gelişme	45
4.4. Farklı sıcaklıklarda gelişme.....	48
4.5. Termotolerant kapasite	52
4.6. Biyofilm oluşum kapasitesi	53
4.7. Antibiyotik hassasiyeti	54
4.8. Safra tuzuna direnç	59
4.9. Hücre yüzey hidrofobisitesi.....	64
4.10. Yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişme	67
4.11. Düşük pH değerine direnç	68
4.12. Oto-agregasyon ve co-agregasyon yeteneği	69
4.13. Simüle mide ve bağırsak sıvısına direnç	71
4.14. Adhezyon kapasitesi.....	72
5. SONUÇ	75
KAYNAKLAR	79
EKLER.....	89
EK 1.....	89
ÖZGEÇMİŞ	98

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Santigrat Derece
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
g	Gram
kg	Kilogram
kob	Koloni Oluşturan Birim
L	Litre
log	Logaritmik
M	Molarite
mL	Mililitre
mM	Milimolar
N	Normalite
nm	Nanometre
GRAS	Genel Olarak Güvenilir Kabul Edilen

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Flow sitometrisi ve CytExpert yazılımı ile kullanılan deneysel parametreler	33
Şekil 3.2. <i>P. acidilactici</i> K99 bakterisine ait %50 canlı, %50 ölü bakteri içeren bakteri solüsyonundan elde edilen flow sitometrisi grafikleri.....	34
Şekil 3.3. HT29 hücre hattında <i>P. pentosaceus</i> K7 suşuna ait flow sitometrisi grafiği ve grafikten hesaplanan canlı hücre, mikroküre bölgesine ait olay sayıları	36

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Laktik asit bakteri suşlarının proteolitik aktivitesine ait sonuçlar	40
Çizelge 4.2. Laktik asit bakteri suşlarının asit üretim yeteneğine ait sonuçlar	44
Çizelge 4.3. Laktik asit bakteri suşlarının farklı pH'larda gelişimine ait sonuçlar.....	47
Çizelge 4.4. Laktik asit bakteri suşlarının farklı sıcaklıklarda gelişimine ait sonuçlar ..	50
Çizelge 4.5. Laktik asit bakteri suşlarının antibiyotiklere karşı inhibisyon zonu (mm) .	56
Çizelge 4.6. Laktik asit bakteri suşlarının safra tuzuna direncine ait sonuçlar (% gelişim).....	62
Çizelge 4.7. Laktik asit bakteri suşlarının hücre yüzey hidrofobisitesine ait sonuçlar (% hidrofobisite).....	66
Çizelge 4.8. Seçilen laktik asit bakteri suşlarının tuz toleransı.....	67
Çizelge 4.9. Laktik asit bakteri suşlarının düşük pH değerlerine direnci (log kob/mL) .	69
Çizelge 4.10. Laktik asit bakteri suşlarının oto-agregasyon yeteneği (%oto-agregasyon)	71
Çizelge 4.11. Laktik asit bakteri suşlarının co-agregasyon yeteneği (%co-agregasyon).....	71
Çizelge 4.12. Laktik asit bakteri suşlarının simüle mide ve bağırsak sıvısına direncine ait sonuçlar.....	72
Çizelge 4.13. Laktik asit bakteri suşlarının adhezyon kapasitelerine ait sonuçlar (% adhezyon).....	73

1. GİRİŞ

Fermentasyon ve kurutma işlemleri gıdaların muhafazası ve raf ömrünü uzatmak için kullanılan en eski yöntemlerdendir (Kaya ve Kaban 2010a, Kaban 2013). Fermente gıdalar, dünyanın birçok ülkesinde insan diyetine büyük katkı sağlamaktadır (Owusu-Kwarteng 2013). Fermente gıdaların üretimi ve tüketimi, besleyici, güvenli, doğal, katkı maddesi içermeyen ve iyi korunmuş gıdalara olan talepten dolayı gün geçtikçe artmaktadır (Elmaged *et al.* 2015). Fermentasyon, gıdanın güvenliğini, besin değerini ve duyuşal özelliklerini artıran ve maliyeti oldukça düşük düzeyde olan iyi bir muhafaza yöntemidir. Fermentasyon, biyolojik zenginleştirme yoluyla gıdaların besin kalitesi ve sindirilebilirliğini arttırmakta ve ayrıca aroma ve lezzet üretimi ile diyetin zenginleşmesini sağlamaktadır (Owusu-Kwarteng 2013).

Fermentasyonda yaygın bir şekilde kullanılan bakteriler *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Micrococcus* ve *Bacillus* cinslerine ait türlerdir. *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* ve *Trichothecium* cinslerine ait bazı türler de en sık kullanılan küflerdir. Yaygın fermentasyon mayalarını ise *Saccharomyces* türleri oluşturmaktadır (Owusu-Kwarteng 2013).

Mikroorganizmaların fermente gıdalardaki fonksiyonları, bilim ve teknolojiadaki ilerlemelerle birlikte anlaşılmış ve bu mikroorganizmaların endüstriyel üretimde kullanılabilme yönündeki araştırmalar yoğunlaşmıştır. Fermente et ürünlerinin üretiminde teknolojik açıdan iki önemli mikroorganizma grubu laktik asit bakterileri ve katalaz pozitif koklardır (Kaya ve Kaban 2010a). Et endüstrisinde starter kültür olarak homofermentatif laktobasiller ve/veya pediokoklar gibi laktik asit bakterileri ve Gram pozitif, katalaz pozitif, patojenik olmayan, koagülaz-negatif stafilokok ve/veya *Kocuria'nun* seçilmiş türleri kullanılmaktadır (Rzepakowska *et al.* 2017). Et starter kültürleri ette arzu edilen metabolik aktiviteyi gerçekleştiren mikroorganizmaları içeren preparatlardır (Työppönen *et al.* 2003). Mikroorganizmalardan ürün güvenliğini sağlamak (patojenleri inhibe ederek), ürün stabilitesini iyileştirmek, yeni duyuşal

özellikler kazandırmak ve sağlığa yararlı etkilerde bulunmak (intestinal mikrobiyota üzerine pozitif etki) amacıyla yararlanılmaktadır (Lücke 2000; Kaya ve Kaban 2010a).

Laktik asit bakterileri yüzyıllardır fermente gıdaların üretiminde kullanılmaktadır. Son ürünün aroma, mikrobiyal güvenlik, raf ömrünün arttırılması, tekstür ve duyuşal profillerinin oluşturulması üzerine katkıda bulunmaktadırlar (Salvucci *et al.* 2016). Günümüzde, laktik asit bakterileri gıdalardaki esansiyel rolleri ve antimikrobiyal bileşik üretme yeteneklerine ek olarak probiyotik özellikleri nedeniyle dikkat çekmektedir (Arici *et al.* 2017).

Laktik asit bakterileri %50'nin altında bir G+C oranına sahiptir. Morfolojik olarak, bunlar kok, kokobasil veya çubuk şekillidir ve tetrad oluşturan cinsler (*Aerococcus*, *Pediococcus* ve *Tetragenococcus*) hariç, zincir oluşumu yaygındır (Narvhus and Axelsson 2003). Laktik asit bakterileri Gram pozitif, katalaz negatif, spor oluşturmeyen, genellikle hareketsiz, fermentasyonda karbonhidratları kullanan ve son ürün olarak laktik asit oluşturan geniş bir mikroorganizma grubudur (Owusu-Kwarteng 2013). Çiğ ve işlenmiş gıdalarda doğal kontaminant olarak bulunabildiği gibi fermente gıdalar için starter kültür olarak ve ayrıca probiyotik kültür olarak da kullanılmaktadır (Vankerckhoven 2009). Laktik asit bakterileri, farklı ortamlarda ve farklı sıcaklıklarda asit üretimi, proteinaz ve peptidaz aktiviteleri, otoliz, uçucu bileşiklerin üretimi, bakteriyofajlara karşı direnç ve inhibitör bileşikler üretme gibi birçok önemli teknolojik özelliğe sahiptir. Bu özellikler, laktik asit bakterilerinin son ürünün besleyici, duyuşal ve güvenlik kalitelerini korumak ve geliştirmek için starter olarak kullanımı ve doğal ortamlardan uygun starter kültürün seçimi için önemlidir (Elmaged *et al.* 2015). Laktik asit bakterileri metabolik ürün olarak (glikoliz yoluyla) glukoz ve laktoz gibi heksozlardan laktik asit üreten fakültatif heterofermentatif/homofermentatif suşlardır (Työppönen *et al.* 2003). *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* ve bazı *Lactobacillus*'lar homofermentatif olup glukoz fermentasyonunun ana veya tek son ürünü olarak laktik asit üretmektedir. *Weisella*, *Leuconostoc* ve bazı *Lactobacillus*'lar ise heterofermentatif olup glukozdan laktat, CO₂ ve etanol üretmektedir (Owusu-Kwarteng 2013). Laktik asit bakterilerinin asetik asit, etanol, aromatik bileşikler,

bakteriyosinler, ekzopolisakaritler ve çeşitli enzimler gibi metabolitleri bu mikroorganizmaların fermente gıdaların üretiminde kullanılmasında önemli rol oynamaktadır. Son ürün olarak laktik ve asetik asit gibi organik asit üreterek pH değerini düşüren laktik asit bakterileri gıda güvenliğini arttırabilmektedir. Ayrıca bazı laktik asit bakterileri ribosomal olarak sentezlenen, hücre dışı serbest bırakılmış kısa peptitler veya yakından ilişkili türlerde bakterisidal veya bakteriyostatik aktiviteye sahip proteinler içeren bakteriyosinler veya bakteriyosin benzeri maddeler üretebilmektedir. Laktik asit bakterileri gıda kaynaklı patojenlerin gelişmesini önleme kapasiteleri nedeniyle de gıda güvenliği konusunda büyük ilgi görmektedirler (Salvucci *et al.* 2016). Laktik asit bakterileri karbonhidratları fermente ederek tat üzerinde önemli etki gösterirken, asetik asit üreterek aroma gelişimine az da olsa katkıda bulunmaktadır. Diğer taraftan et ürünlerinde kullanılan bazı laktik asit bakteri suşları zayıf peptidaz ve lipaz aktivitesine sahiptir (Leroy *et al.* 2006). Ticari et starter kültürleri içerisinde en çok kullanılan laktik asit bakteri suşları, *Lactobacillus casei*, *L. curvatus*, *L. pentosus*, *L. plantarum*, *L. sakei*, *Pediococcus acidilactici* and *P. pentosaceus*'dur (Työppönen *et al.* 2003).

Starter kültür olarak kullanılacak suşların seçiminde, suşların teknolojik karakterizasyonu, özellikle gelişme, asidifikasyon ve proteolitik aktivite açısından incelenmesi büyük önem arz etmektedir (Nespolo and Brandelli 2010). Proteolitik aktivite, laktik asit bakterilerinin peptitleri ve proteinleri parçalaması ve lezzet, antimikrobiyal aktivite ve farklı gıdaların yapısına katkıda bulunan farklı metabolitler üretmesine imkân vermektedir (Salvucci *et al.* 2016). Laktik asit bakterileri genellikle zayıf proteolitik aktiviteye sahip olmasına rağmen, oligopeptidleri küçük peptidlere ve amino asitlere hidrolize edebilen çok kapsamlı bir proteinaz/peptidaz sistemine sahiptir (Nespolo and Brandelli 2010; Turhan and Öner 2014).

Fermente et kaynaklı laktik asit bakterileri, et fermentasyonunun ekolojisine özel olarak adapte edilmektedir (Rzepakowska *et al.* 2017). Laktik asit bakteri suşları tarafından asidifikasyon oranı ve derecesi laktik asit fermentasyonları için starter kültürlerin seçiminde önemli bir kriterdir (Owusu-Kwarteng 2013). Laktik asit bakterilerinin

karbonhidrat metabolizmasının son ürünleri olan asetat ve laktat gibi organik asitler, Gram-negatif bakterileri ve bu bakterilerin bağırsak hücrelerine invazyon kabiliyetlerini inhibe etmektedir (Tabasco *et al.* 2014). Asidifikasyon, fermantasyon zamanının azalması ve organoleptik nitelikler gibi fermente ürünün çeşitli kalite özelliklerini de etkileyebilmektedir (Owusu-Kwarteng 2013; Rzepkowska *et al.* 2017). Birçok durumda, laktik asit fermantasyonunda en belirgin değişiklik, asitliğin artmasına sebep olan asit üretimi ve pH düşüştür. Fermantasyon sonucu üretilen asidin çoğu şeker metabolizmasının sonucu olduğu için asitlik arttıkça tatlılık azalmaktadır (Owusu-Kwarteng 2013).

Genel olarak, çoğalmak ve canlılıklarını sürdürmek için bakteriler 4 ile 8 arasında pH değerlerine ihtiyaç duyarken, maya ve küfler 2 ile 11 arasında geniş bir pH aralığında gelişebilmektedir. Bununla birlikte mikroorganizmalar düşük pH koşullarında hayatta kalabilmekte ve gelişme durmuş olsa da hücreler metabolik olarak aktif olabilmektedir. Diğer taraftan pH dengesi sağlanamaz ise hücre normal hücresel bileşenlerini sentezleyememekte, bölünememekte ve çoğalamamaktadır (Owusu-Kwarteng 2013).

Tuz (NaCl), gıdaların muhafazasında kullanılan en önemli ingrediyeentlerden biri olduğundan yüksek tuz konsantrasyonunda gelişme yeteneği, starter kültürler için arzu edilen bir başka özelliktir. Yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişme yeteneği, laktik asit bakterilerinin tuz varlığında gelişemeyen zararlı veya istenmeyen bakterilerin varlığında fermentatif süreçlere katılmasına izin vermektedir (Salvucci *et al.* 2016).

Laktik asit bakterileri, insanların ve hayvanların bağırsak ve üreme kanallarının mukoza zarlarında yaşamaktadır (Narvhus and Axelsson 2003). Bu bakteri grubu insan ve hayvanların sindirim sisteminde önemli rol oynamaktadır (Vankerckhoven 2009). Starter kültürler için asitleşme oranı ve aroma oluşturma özellikleri genel olarak kriter alınmasına karşın probiyotik kültürler için bu durum, sağlık üzerine yararlı etkiye dayandırılmaktadır (Vélez *et al.* 2007).

İnsanların gıda taleplerindeki değişim, yeterli beslenmenin ötesinde sağlığa faydaları olan gıdaların gelişmesine yol açmıştır (Työppönen *et al.* 2003). İnsan sağlığı üzerine laktobasillerin önemi ilk kez 20 yüzyılın başlangıcında Metchnikoff tarafından bir hipotez olarak verilmiştir (Holzapfel *et al.* 1998). Antimikrobiyal, antioksidan, probiyotik, kolesterol düşürücü ve insanlarda sağlığa faydalı bileşiklere sahip olan fermente ürünlerin fonksiyonel ve terapötik etkileri olduğu kabul edilmektedir (Karaçıl ve Acar Tek 2013). Verimli çalışan bir bağırsak ekosistemi olan mikrobiyom (çeşitli mikroorganizmaların nicel ve nitel bileşimi) kişinin sağlığının korunmasında büyük bir etkiye sahiptir. İnsan bağırsağında bulunan mikroorganizmalar, türler bakımından yeryüzündeki en çeşitli ekosistem (100-1000 tür) (Zielińska and Kolożyn-Krajewska 2018) olup, genellikle *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Butyrivibrio*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium* ve *Lactobacillus* cinslerine ait türlerden oluşmaktadır. Ayrıca *Enterococcus* ve *Escherichia coli*, tüm bağırsak mikroorganizmalarının %1'inden daha azını oluşturmaktadır (Herich and Levkut 2002). Mikrobiyom, bağışıklık veya zihinsel durumları içeren birçok fizyolojik sistemi etkilemektedir. Bağırsak mikroflorasının insan sağlığını koruduğu konusundaki artan farkındalık nedeniyle 20 yılı aşkın bir süredir dünya genelinde insan mikrobiyomunu zenginleştirme ve pozitif değişiklik yapma ile ilgili araştırmalar yapılmaktadır. Bunun nedeni, bağırsak mikroflorasının hem nicel hem de nitel kompozisyonunun normdan farklılaşmasıdır. Bu değişikliklere insan sindirim sistemiyle bağlantılı olmayan doğrudan sayısız rahatsızlıkla sonuçlanan birçok endojen faktör (doğrudan kişiye, yani viral veya bakteriyel enfeksiyonlara bağlı) ve eksojen faktör (gıda maddeleri, steroidler, müshiller, antibiyotikler ve kemoterapötikler, doğum kontrol ilaçları vb.) neden olmaktadır. Diğer taraftan beslenmede uygun şekilde seçilmiş probiyotik kültürlerin kullanılmasının bağırsak mikrobiyotası bileşimini yararlı bir şekilde modüle ettiğine inanılmaktadır (Zielińska and Kolożyn-Krajewska 2018).

Endotel hücreleri ve tek çekirdekli fagositler arasındaki etkileşimin sonucu olarak bazı laktik asit bakterileri konakçının özel bağışıklık düzenleyicileri olarak kabul edilmektedir. Laktik asit bakterilerinin özel antikor tepkisi uyarımıyla yardımcı özelliklere sahip olduğu, yine bazı laktik asit bakterilerinin bağırsak mukozal bariyeri

sağlamlaştırabildiği ve buna bağlı olarak bağırsak mukozal geçirgenliğini ve ishali etkileyebildiği belirtilmektedir (Holzapfel *et al.* 1998). Laktik asit bakterilerinin bakteriyosin ve/veya düşük molekül ağırlıklı antimikrobiyal bileşenler (H₂O₂, reuterin, diasetil vb.) gibi farklı antimikrobiyal bileşenler üretme yeteneği, konakçıya probiyotik etkiyi sağlamak için bağırsakta canlılığını sürdürmek, patojenleri saf dışı bırakmak ve etkili rekabet için kritik karakteristiklerden biri olarak düşünülmektedir (Työppönen *et al.* 2003).

Probiyotik terimi literatürde ilk kez “for life” anlamında kullanılmış ve diğer organizmaların gelişimini stimüle etmek için protozoolar tarafından üretilen maddeleri tanımlamak için kullanılmıştır (Argyri *et al.* 2013). Probiyotikler sağlığa faydalı olan yaşayan mikrobiyal gıda ingrediyeentleridir (Tuomola and Salminen 1998; Klingberg *et al.* 2005). Ayrıca probiyotikler insan sağlığı üzerine faydalı mikrobiyal hücre preparatları veya mikrobiyal hücrelerin bileşenleri olarak da tanımlanabilmektedir (Ouweland *et al.* 2001). Probiyotiklerin tanımı, onlar hakkında bilginin gelişimi ile değişmektedir. Schrezenmeir and De Vrese (2001) probiyotikleri “konakçı kompartmanında mikroflorayı implantasyon veya kolonizasyonla değiştiren ve konakçı sağlığı üzerine faydalı etkiler gösteren yeterli sayıda canlı, tanımlanmış mikroorganizma içeren bir ürün veya preparat” olarak tanımlamıştır. FAO (Food and Agriculture Organization) ve WHO (World Health Organization) uzmanları 2002 yılında, “yeterli miktarlarda uygulandığında konakçının sağlığı üzerine yarar sağlayan canlı mikroorganizmalar” olduğuna karar veren probiyotik tanımını kabul etmişlerdir (Zielińska and Kolożyn-Krajewska 2018). Gastrointestinal mikroflora ("microbiota"), konakçı ile dengede bulunan son derece karmaşık bir ekosistemdir. Bu denge bozulduğunda, klinik bozukluklar ortaya çıkabilmektedir (Owusu-Kwarteng 2013). Gıda veya gıda katkısı olarak canlı mikroorganizmaları içeren probiyotikler, yeterli miktarda sindirildiğinde sindirim sisteminde doğal olarak bulunan mikrobiyotanın özelliklerini geliştirerek konakçıyı pozitif yönde etkilemektedir (Holzapfel *et al.* 1998; Leroy *et al.* 2006). Bunların yanısıra bazı intoleransların (laktoz intoleransı gibi) hafifletilmesi, besinlerin biyoyararlılığının artırılması ve hassas bireylerde alerji yaygınlaşmasının önlenmesi veya azaltılması üzerine de etkili oldukları bildirilmiştir.

Ayrıca antimutajenik, antikarsinojenik, hipokolesterolemik, antihipertansif, anti-osteoporoz ve immünomodülatör etkileri olduğu da belirtilmektedir. Probiyotiklerin inflamatuvar bağırsak hastalıkları, bağırsak sendromu, kolit, alkolik karaciğer hastalığı, kabızlık semptomlarını giderdiği ve kolon, karaciğer ile meme kanseri riskini azalttıkları da saptanmıştır (Argyri *et al.* 2013).

Genel olarak *Lactobacillus*, *Bifidobacteria*, *Lactococcus*, *Streptococcus* ve birkaç maya suşu probiyotik olarak kullanılmaktadır. Bu cinslerin çok sayıda türü, FDA (ABD gıda ve ilaç dairesi) tarafından “Generally Recognized As Safe” (GRAS) olarak kabul edilmiş veya EFSA (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi) tarafından “Qualified Presumption of Safety” statüsüne alınmıştır (Rajoka *et al.* 2017). Laktik asit bakterileri GRAS statüsüne sahip olmasına rağmen, antibiyotiklere direnç ve zararlı metabolitlerin üretimi açısından dikkatli bir şekilde incelenmelidir (Rzepakowska *et al.* 2017).

Antibiyotik direnci, dünya çapında büyümeye devam eden bir halk sağlığı problemidir. Antibiyotik direnç genlerinin ilişkisiz patojen veya fırsatçı bakterilere geçişini sınırlandırmak önemlidir. Gıda zinciri, hayvan ve insan popülasyonları arasında antibiyotiğe dirençli bakterilerin taşınması için ana yollardan biri olarak kabul edilmiştir (Ammor and Mayo 2007). Antibiyotik direnci bakteri cinsi veya türüne özgü olabildiği gibi mutasyonlar yoluyla veya genetik madde aktarımı yoluyla elde edilebilmektedir (Vankerckhoven 2009). Bu nedenle, starter kültür veya probiyotik ürünü kullanmadan önce ilave edilen bakteri suşlarının aktarılabilir direnç genleri içermediğini doğrulamak önemlidir (Ammor and Mayo 2007).

Probiyotik suşların seçiminde temel kriterler, asit ve tuza tolerans, gastrointestinal sistem boyunca canlılığı sürdürme, bağırsak yüzeyine tutunma, geçici kolonizasyon, patojenlere karşı antagonistik aktivite ve iyi teknolojik özelliklerdir (Ouweland *et al.* 2001; Rajoka *et al.* 2017).

Probiyotik kültürün diğer önemli bir kriteri yararlı bağışıklık etkilerine aracılık etmek için bağırsak epitelyum hücrelerine tutunma yeteneğidir (Tuomola and Salminen 1998;

Ouwehand *et al.* 2001; Klingberg *et al.* 2005). Laktobasillerin bağırsak hücrelerine tutunması farklı bakteriyel yüzey özelliklerine bağlıdır (Tuomola *et al.* 2000). Bakteriyel hücre yüzeyinin fiziksel ve kimyasal özellikleri temel olarak hidrofobisitesine bağlıdır. Mikroorganizmalar hücre yüzeylerinde proteinler, daha az yaygın olarak polisakkaritler, teikoik asit ve yağ asitleri gibi adezinler olarak adlandırılan ve bağırsak epitelinin ve musinin yüzeyine kovalent olarak bağlanmalarını sağlayan bir dizi hidrofobik bileşen geliştirmektedir. Hidrofobik rezidüer, mikroorganizmalar ve uygun bir substrat arasındaki yapışkan reaksiyona katkıda bulunmaktadır. Örneğin bakteriyel adezinler, epitel yüzeyindeki glikoproteinlerin ve glikolipidlerin karbonhidrat rezidülerini (mannoz, galaktoz ve fruktoz) tanımaktadır (Grajek *et al.* 2016). Bakteriyel yapışma başlangıçta iki yüzey arasındaki spesifik olmayan fiziksel etkileşimlere dayanmakta, bu daha sonra adezinler (genellikle proteinler) ve tamamlayıcı reseptörler arasında spesifik etkileşimleri mümkün kılmaktadır (Kirjavainen *et al.* 1998). Diğer taraftan proteazlarla muamele adhezyon yeteneğini düşürdüğünden bazı suşların adhezyonunda bakteriyel protein yapılarının etkili olduğu belirtilmektedir. Benzer şekilde karbonhidratların metaperiyodatlar tarafından oksidasyonu adhezyonu azalttığından bazı suşların tutunması için karbonhidratların da esansiyel olduğu gösterilmiştir (Tuomola *et al.* 2000). *In vivo* adhezyonu değerlendirmedeki zorluklardan dolayı, bakterilerin adhezyon özellikleri genellikle *in vitro* olarak incelenmektedir. Bu amaçla intestinal hücre hatları, immobilize intestinal mukus veya ekstraselüler matriks proteinleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Vankerckhoven 2009). İnsan bağırsak hücrelerine adhezyon, probiyotik etki mekanizmasındaki ilk adımdır. Adhezyon moleküler mekanizması anlaşılmamış olmasına rağmen, hidrofobik bakteriyel hücreler doku yüzeylerine adhezyonda verimlidir. Diğer taraftan probiyotik olarak alınan bakterilerin bağırsakta çoğalması ve koloni oluşturması gerekmektedir (Gismondo *et al.* 1999). Aynı zamanda, konakçı dokularına adhezyon birçok mide-bağırsak patojeni için zorunlu olduğundan, tutunma bölgeleri için rekabet yoluyla rekabetçi dışlama paradigması gelişmiştir. Bu nedenle, probiyotik izolatların adhezyon potansiyelinin değerlendirilmesi, bağırsak sağlığını geliştirmek için probiyotiklerin uygulanmasına dayanan fonksiyonel gıdalar ve nutrasötikler geliştirirken büyük önem taşımaktadır (Gupta and Sharma 2015). Ayrıca,

bağırsaklara ulaşmak ve koloni oluşturmak için bakterilerin asit pH'ya ve safra asitlerine karşı dayanıklı olması da gerekmektedir (Gismondo *et al.* 1999).

Probiyotik bakterinin günlük alınması gereken minimum dozu bilinmemektedir. Ancak insan dışkıının gramında yaklaşık 10^{6-8} kob canlı mikroorganizma bulunduğundan sağlıklı bir etki ve geçici kolonizasyon açısından 10^{9-10} kob/g canlı mikroorganizma olabileceği tahmin edilmektedir (Työppönen *et al.* 2003; Klingberg *et al.* 2005).

Laktik asit bakterileri, içerisinde özellikle laktobasiller temel gruplardan biridir (Argyri *et al.* 2013). *Lactobacillus* cinsi bakterilerin bazı suşları, intestinal mikrobiyotanın doğal bileşeni olduğundan ve *in vivo* şartlarda sağlığı olumlu yönde etkilediğinden probiyotik kültürler için iyi bir adaydır (Perdigón *et al.* 2001; Leroy *et al.* 2006). Laktobasillere ek olarak *Enterococcus*, *Lactococcus* ve *Pediococcus* gibi cinslerin bazı suşları da probiyotik olarak kullanılmaktadır (Vankerckhoven 2009). Ancak kültür seçiminde ürün formülasyon ve üretim koşulları dikkate alınması gerekmektedir. Örneğin pediokoklar yüksek sıcaklıkta hızlı fermentasyon arzu edildiğinde laktobasilden daha uygun olmaktadır. Bazı ürünlerde, örneğin Amerikan tipi fermente sosislerde 27–38°C gibi yüksek fermentasyon sıcaklıklarında, laktobasillerden ziyade pediokoklar kullanılmaktadır (Leroy *et al.* 2006). Diğer taraftan bazı ticari et starter kültürlerinin (*Lactobacillus sakei* Lb3 ve *Pediococcus acidilactici* PA-2) stimüle edilmiş gastrointestinal koşullar altında canlılıklarını sürdürme kapasitelerinden dolayı potansiyel probiyotik kültürler olarak kabul edilebileceği belirtilmektedir (Leroy *et al.* 2006; Radulović *et al.* 2011).

Yapılan birçok çalışmada probiyotiklerin seçiminde fermente süt, yoğurt gibi süt ürünlerinin en iyi gıda matriksi olduğu ortaya konmuştur. Ancak günümüzde yeni ve süt ürünü olmayan gıda matrikslerinin kullanılması gerektiği de belirtilmektedir. Özellikle geleneksel fermente gıdaların probiyotik-tip fonksiyonel gıdalar için çok iyi bir çalışma alanı oluşturacağı düşünülmektedir (Argyri *et al.* 2013). Bununla birlikte fermente süt ürünlerine kıyasla sınırlı olsa da et ve et ürünlerinde de probiyotikler üzerine

arařtırmalar bařlamıřtır (Papamanoli *et al.* 2003; Pennacchia *et al.* 2004; De Vuyst *et al.* 2008; Rivera-Espinoza and Gallardo-Navarro 2010; Radulović *et al.* 2011).

Geleneksel bir Türk et ürünü olan pastırmada laktik asit bakterileri mikrobiyotanın önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Bu mikroorganizmalar arasında insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan probiyotik suşların da bulunabileceği dşnlmektedir. Bugüne kadar pastırma üzerinde yürütülen araştırmalar laktik asit bakterilerinin izolasyonu/identifikasyonundan ileriye taşınmamıştır (zdemir ve Siriken 1997; Dinçer and Kıvanç 2012; Sınmaz 2013; Çınar *et al.* 2019). İzole edilen suşların probiyotik ve teknolojik özelliklerine yönelik herhangi bir araştırma yrtlmemiştir. Mevcut bu çalışmada pastırmadan izole edilen ve genetik olarak tanımlanan laktik asit bakteri suşlarının (Çınar *et al.* 2019) probiyotik ve teknolojik özellikleri yönünden incelenerek, probiyotik kültür olarak kullanılabilme potansiyellerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Et fermentasyon koşullarına iyi adapte edilmiş, olgunlaşma işlemlerini kontrol eden ve fonksiyonel özelliklere sahip yerel laktik asit bakterilerinin elde edilmesi dikkat çeken konular arasında yer almaktadır. Fermente et ürünleri genellikle ısıl işleme tabi tutulmadan üretildiklerinden, starter kültür ve/veya probiyotik kültürlerin kullanımı açısından uygun ürünlerdir (Rzepakowska *et al.* 2017). Mevcut araştırmada Türkiye’de geleneksel olarak üretilen popüler kuru kür edilmiş et ürünü olan pastırmadan izole ve tanımlanmış laktik asit bakterisi suşları, teknolojik ve probiyotik özellikler yönünden incelenmiştir.

Özdemir ve Siriken (1997) tarafından pastırmadan laktik asit bakterisi izolasyonu ve tanımlanmasına yönelik yürütülen bir çalışmada, 40 izolat *Lactobacillus sakei*, 9 izolat *L. carnis*, 8 izolat *L. curvatus*, 8 izolat *L. divergens*, 7 izolat *L. alimentarius*, 6 izolat *L. casei* spp. *rhamnosus*, 6 izolat *L. confusus*, 5 izolat *L. plantarum* ve 5 izolat *L. viridescens* (*Weissella viridescens*) olarak tanımlanmıştır.

Eskişehir piyasasından temin edilen pastırma örneklerinden izole edilen 92 laktik asit bakterisi izolatının fenotipik (API 50CH) ve genotipik olarak otomatik *EcoRI* ribotiplendirmesi kullanılarak tanımlanmış bir çalışmada, fenotipik tanımlama neticesinde dominant mikrobiyotayı *Lactobacillus plantarum*’un oluşturduğu belirlenirken genotipik karakterizasyonda ayrıca *L. sakei*, *Enterococcus faecium* and *Pediococcus acidilactici* türleri de belirlenmiştir (Dinçer and Kıvanç 2012).

On dört farklı firmadan temin edilen pastırma örneklerinden laktik asit bakterilerinin izolasyonu/tanımlanmasına yönelik olarak yürütülen bir çalışmada, 106 laktik asit bakterisi izole edilmiş ve 16S rDNA dizisi analizi ile izolatlar tanımlanmıştır. İzolatların %27,4’ü *Lactobacillus sakei*, %24,5’i *Weissella cibaria* ve %19,8’i *W. confusa* olarak tanımlanmıştır. Ayrıca pastırma örneklerinden *Pediococcus pentosaceus* (%5,7), *P. acidilactici* (%4,7), *Leuconostoc carnosum* (%3,77), *Weissella hellenica*

(%2,83), *Lactobacillus plantarum* (%1,88), *L. paraplantarum* (%1,88), *L. curvatus* (%1,88), *Weissella halotolerans* (%1,88), *L. graminis* (%0,94), *L. carnosus* (%0,94), *Leuconostoc citreum* (%0,94), *Leuconostoc mesenteroides* (%0,94) türleri de izole edilmiştir (Öz *et al.* 2017).

Farklı kürlenme ajanı ve kürlenme sıcaklığı kullanılarak üretilen pastırmalardan laktik asit bakterilerinin izolasyonu/identifikasyonuna yönelik yapılan bir çalışmada, örneklerden toplam 87 laktik asit bakteri izolatu elde edilmiş ve izolatlar fenotipik olarak tanımlanmıştır. İdentifikasyon sonucunda 63 izolat *Pediococcus pentosaceus*, 13 izolat *P. acidilactici*, 3 izolat *Lactococcus lactis*, 2 izolat *Lactobacillus brevis*, 2 izolat *L. plantarum*, 2 izolat *L. curvatus* ssp. *curvatus*, 1 izolat *L. collinoides*, 1 izolat *Leuconostoc mesenteroides* olarak tanımlanmıştır (Çinar 2014). Aynı suşlar genotipik (16S rDNA) olarak da identifikasyona tabi tutulmuştur. İdentifikasyon sonucunda 87 izolatın 68'inin (%78,16) *Pediococcus pentosaceus* olduğu ve bu türü sırasıyla *P. acidilactici* (%14,94), *Lactobacillus sakei* (%4,60) ve *L. plantarum* (%2,30) türlerinin takip ettiği rapor edilmiştir. Aynı çalışmada tüm kürlenme uygulamalarında (4°C/nitrat veya nitrit veya 10°C/ nitrat veya nitrit), *P. pentosaceus* türünün dominant olduğu ve tüm uygulamalarda *P. acidilactici*'nin tespit edildiği, buna karşın *L. plantarum*'un yalnız nitrat (4°C veya 10°C) ile üretilen örneklerde, *L. sakei*'nin ise yalnızca nitrit (4°C veya 10°C) kullanılarak üretilen örneklerde tanımlandığı rapor edilmiştir. Araştırmada pastırmada laktik asit bakterilerinin biyoçeşitliliği üzerinde kürlenme ajanının, kürlenme sıcaklığına göre daha etkili olduğu da vurgulanmıştır (Çinar *et al.* 2019).

Pastırmadan izole/identifiye edilen laktik asit bakterilerinin probiyotik özelliklerine yönelik literatürde bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bununla beraber farklı kaynaklardan izole edilen laktik asit bakterilerinin teknolojik ve probiyotik özelliklerinin araştırıldığı çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Molina and Toldra (1992) tarafından yürütülen bir çalışmada, kuru kür edilmiş hamden (kurutulmuş jambon) izole edilen *Pediococcus pentosaceus* ve *Staphylococcus xylosum*'un proteolitik aktivitesinin belirlenmesi için farklı testler uygulanmış ve

sarkoplazmik ve miyofibriller proteinlerin substrat olarak kullanıldığı ortamlarda endopeptidaz aktivitesinin gözlemlenmediği rapor edilmiştir.

Cogan *et al.* (1997) tarafından fermente süt ürünleri ve geleneksel peynirleri de içeren 35 farklı süt ürünüde starter olarak kullanılacak suşları belirlemek amacıyla yürütülen bir çalışmada, 4379 izolat elde edilmiş ve izolatların %38'i *Lactococcus*, %17'si *Enterococcus*, %14'ü *Streptococcus thermophilus*, %12'si mezofilik *Lactobacillus*, %10'u *Leuconostoc* ve %9'u termofilik *Lactobacillus* olarak tanımlanmıştır. Araştırmada izolatlar arasında asit üretiminin önemli ölçüde farklılık gösterdiği, test edilen 1582 *Lactococcus* ve 482 mezofilik *Lactobacillus* izolatından sırasıyla sadece %8 ve %2'sinin süt pH'sını 30°C'de 6 saatte <5,3'e düşürmek için yeterli asit ürettiği, buna karşın *Str. thermophilus*, termofilik *Lactobacillus* ve *Enterococcus* izolatlarının sırasıyla %53, %32 ve %13'ünün pH değerini <5,3'e düşürdüğü ve 2469 izolat içerisinde en yüksek proteolitik aktiviteyi *Str. thermophilus*'un gösterdiği tespit edilmiştir.

Tuomola and Salminen (1998), 2 farklı *Lactobacillus* suşunun adhezyon yeteneğini, intestinal epitel için *in vitro* bir model olarak Caco-2 hücre hattı kullanarak incelemişlerdir. Analizler neticesinde *Lactobacillus casei*'nin (Fyos) en adheziv suş ve *L. casei* var. *rhamnosus*'un (Lactophilus) en az yapışkan suş özelliği gösterdiği, eklenen bakterilerin sırasıyla %14 ve %3'ünün Caco-2 hücre kültürlerine tutunduğu, en adhesiv dört suşun *L. casei* (Fyos), *L. acidophilus* 1 (LC1), *L. rhamnosus* LC-705 ve *Lactobacillus* GG (ATCC 53103) olduğu ancak suşlar arasında yapışma yüzdesinde anlamlı bir farklılığın görülmediği, bakterilerin canlılığının *L. acidophilus* 1 (%74) hariç yüksek değerler (%90) verdiği ve mikroskopik değerlendirmelerde de radyoaktif işaretli bağlanma ile uyumlu sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir.

Kirjavainen *et al.* (1998) yapmış oldukları çalışmada, yenidoğan, iki ve altı aylık bebekler ile yetişkinlerin fekal örneklerinden izole ettikleri insan mukusunu, *in vitro* şartlar altında laktik asit bakterilerinin adhezyonu açısından test etmişlerdir. Sonuç olarak yaş grubuna bağlı olarak, uygulanan *Lactobacillus* GG'nin %44-46'sı,

Bifidobacterium lactis Bb-12'nin %23-30'u, *Lactobacillus johnsonii* LJ-1'nin %9-14'ü, *Lactobacillus salivarius* LM2-118, *Lactobacillus crispatus* M247, *Lactobacillus paracasei* F19'nin %3-10'u, *L. crispatus* Mu5'in %2'sinin tutunduğu gözlenmiş ve bütün suşların erişkinlerin mukusuna, bebeklerinkinden daha iyi tutunduğu belirlenmiştir.

Aside ve safraya dirençli *Bifidobacterium* suşlarının önemli bir kaynağı olarak insan fekal örneklerinin kullanıldığı bir çalışmada, test edilen tüm suşların, safra yokluğunda veya 5,0 veya 7,0 gibi başlangıç pH değerlerinde benzer gelişme oranlarına sahip oldukları rapor edilmiştir (Chung *et al.* 1999).

Bir kültür koleksiyonundan seçilen 200'den fazla suş üzerinde yapılan bir çalışmada, dört suş, muhtemel probiyotik suşlar olarak değerlendirilmiş ve seçilen suşların üçünün süt kaynaklı, birinin ise insan kaynaklı olduğu, suşların düşük pH ve nispeten yüksek safra konsantrasyonlarında canlı kalabildikleri belirlenmiştir. İncelenen 200 suştan insan kaynaklı suşun süt orijinli suşlara kıyasla hem düşük pH değerinde hem de yüksek safra konsantrasyonlarında daha yüksek oranda dirençli olduğu tespit edilmiştir. Muhtemel dört probiyotik suşun ise *Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lactobacillus rhamnosus* HN067, *Lactobacillus acidophilus* HN017 ve *Bifidobacterium lactis* HN019 olarak tanımlandığı bildirilmiştir (Prasad *et al.* 1998).

Lactobacillus spp. suşlarının probiyotik potansiyelinin incelendiği bir çalışmada, suşlar, model sistemlerde pH 2,5 ve %0,3 safra tuzuna direnç, Caco-2 hücrelerine adhezyon ve enterik patojenik bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite açısından incelenmiştir. *In vitro* olarak elde edilen sonuçlardan, beş suş (*Lactobacillus rhamnosus* 19070-2, *L. reuteri* DSM 12246, *L. rhamnosus* LGG, *L. delbrueckii* subsp. *lactis* CHCC 2329 ve *L. casei* subsp. *alactus* CHCC 3137) *in vivo* çalışmalar için seçilmiş ve değişik özellikler açısından incelenmiştir. Yapılan analizler sonucunda adhezyon yetenekleri açısından suşlar arasında önemli farklılıkların olduğu, test edilen 44 suşun 29'unun pH 2,5'te 4 saatlik inkübasyonun ardından canlılığını sürdürdüğü, ancak bu şartlarda hiçbir suşun çoğalamadığı, suşların safra tuzlarına karşı nispeten yüksek direnç gösterdiği rapor edilmiştir (Jacobsen *et al.* 1999).

Erkkilä and Petäjä (2000) yapmış oldukları çalışmada, et ürünlerinde starter kültür olarak kullanılan sekiz laktik asit bakteri suşunun gastrointestinal kanala benzer koşullarda canlı kalma kapasitelerini incelemişler ve canlılık kapasitesinin pH 3'te suşa bağlı olduğunu ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar %0,3 safra tuzu konsantrasyonunda pH 6'nın safra tuzuna toleranslı suşların belirlenmesi için önemli bir kriter olduğunu ve *Lactobacillus sakei* (RM10) ve *Pediococcus acidilactici* (P2) suşlarının asidik koşullar altında ve daha yüksek safra tuzu konsantrasyonunda yüksek canlılık kapasiteleri gösterdiğini de tespit etmişlerdir.

İki doğal fermente kuru sosisin dört farklı olgunlaşma aşamasından izole edilen 147 laktik asit bakterisi üzerinde yürütülen bir çalışmada, izolatların %90'ı *Lactobacillus*, %4'ü *Enterococcus*, %3'ü *Pediococcus* sp. Olarak tanımlanmıştır. Ayrıca tüm izolatların 15°C'de, önemli bir kısmının ise %6,5 NaCl varlığında geliştiği, %0,1 safra tuzunu tolere edebilen suş sayısının yüksek olduğu, *L. curvatus* ve *L. plantarum* suşlarının %58'inin %0,3 safra tuzuna direnç gösterdiği rapor edilmiştir (Papamanoli *et al.* 2003)

İnsan veya hayvan kullanımında iyi adhezyon özelliğine sahip potansiyel probiyotik enterokok suşlarını seçmek için yürütülen bir çalışmada, test edilen suşların insan bağırsak mukusuna adhezyonunun 3,8 ile 8,6 log kob/kuyu aralığında bulunduğu, köpek ve insan bağırsak mukusuna adhezyon arasında güçlü bir korelasyonun olduğu ve test edilen mukus tiplerinin hiçbirinde *Enterococcus faecium* ve *E. faecalis* adhezyonu açısından önemli bir farklılığın olmadığı bildirilmiştir (Laukova *et al.* 2004).

Martín *et al.* (2005) tarafından yürütülen bir çalışmada iki *Lactobacillus gasseri* ve bir *Lactobacillus fermentum* suşunun probiyotik potansiyelini değerlendirmek amacıyla suşlar simüle gastrointestinal sistemde canlı kalma, antimikrobiyal bileşik üretme yeteneği, intestinal hücrelere adhezyon, biyojen amin üretimi, münin degradasyonu, enzimatik profil ve antibiyotik direnç yönünden incelenmiştir. Elde edilen sonuçlardan sağlıklı anne sütünden izole edilen laktobasillerin probiyotik potansiyelinin, ticari

probiyotik ürünlerde yaygın olarak kullanılan suşlara benzer özellikler gösterdiği kanatine varılmıştır.

Süt kaynaklı yirmi dokuz *Lactobacillus* suşunun probiyotik potansiyellerinin incelendiği *in vitro* bir çalışmada sadece birkaç suşun pH 1'de veya pepsin varlığında canlı kalabildiği, tüm suşların pH 3, pankreatin ve safra tuzları varlığında canlılığını sürdürdüğü, suşların çoğunun vankomisin ve teicoplanin'e direnç gösterirken kloramfenikol ve tetrasikline karşı ise hassas oldukları ve birkaç suşun Caco-2 hücrelerine adhezyon özelliği gösterdiği rapor edilmiştir. (Maragkoudakis *et al.* 2006).

Geleneksel Mısır Ras peynirleri üzerinde yapılan bir çalışmada, incelenen *Lactococcus lactis* (subsp. *lactis* ve *cremoris*) suşlarının tümünün, 40°C'de ve %4 NaCl varlığında çoğalabildiği, 6 *L. lactis* subsp. *lactis*, 1 *L. lactis* subsp. *cremoris* suşu ile *Lactobacillus* suşlarının %95'inin, %6,5 NaCl varlığında gelişebildikleri, laktokokların %20'sinin, laktobasillerin %21'inin ve enterokokların %43'ünün orta dereceli asidifikasyon oranı gösterdiği ve *L. delbrueckii* subsp. *lactis* ile *E. faecium*'un bir suşunun hızlı bir asitlendirme yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir (Ayad *et al.* 2006).

Victoria-León *et al.* (2006) tarafından pişirilmiş sosisten izole edilen laktik asit bakterisi suşlarının ısı dirençlerini belirlemek amacıyla yürütülen bir çalışmada 30-60 dakika boyunca su banyosunda 50, 60 ve 70°C'de ısı işlem uygulanmıştır. Çalışmada canlı kalan dört suş, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactococcus lactis*, *L. piscicola* (*Carnobacterium piscicola*) ve *Enterococcus* sp. olarak tanımlanmıştır.

Guglielmotti *et al.* (2007) tarafından *Lactobacillus delbrueckii*'nin ticari faj duyarlı üç suşu ve bunlardan izole edilen kendiliğinden faj dirençli mutantları, biyolojik ve probiyotik özelliklerine odaklanarak incelenmiştir. Çalışmada, simüle edilmiş gastrik ortamda (pH 2,0) inkübasyonun ardından, canlı hücre sayılarının orta derecede azaldığı, ancak süt ilavesinin suşlar üzerinde koruyucu bir etki gösterdiği, safraya karşı sınırlı bir direncin söz konusu olduğu, bazı suşların yüksek hidrofobisite değerleri ve β -galaktosidaz aktivitesi sergilediği, patojenlere karşı gösterilen güçlü antibakteriyel

aktivitenin laktik asit üretiminden kaynaklandığı, hassas suşlar ve faja dirençli varyantların Caco-2 / TC-7 mono tabakalarına yapışabildiği bildirilmiştir.

Szekér *et al.* (2007) *Lactobacillus casei* subsp. *pseudoplantarum* 2750, *Lactobacillus sakei* DSM 20017 ve *Bifidobacterium bifidum* B3.2 suşlarının Caco-2 hücre hattına adhezyonunu üç yöntemle *in vitro* olarak incelemişlerdir. Analizler neticesinde tutunan bakteri sayısı açısından iyi bir korelasyonun söz konusu olduğu, ancak agregasyon oluşumunun *L. casei* subsp. *pseudoplantarum* 2750 açısından petri sayım sonuçları ile önemli korelasyon vermediği ve kapsama yüzdesinin hücre boyutlarının benzer olması koşuluyla suşların adhezyon yeteneklerini karşılaştırmak için uygun bir yöntem olduğu kanaatine varılmıştır.

Laktik asit bakterilerinin bazı balık patojenlerine karşı rekabetçi adhezyon yeteneğini ve antagonistik aktivitesini belirlemek üzere yürütülen bir çalışmada, üç laktik asit bakteri suşunun (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CLFP100, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* CLFP102 ve *Lactobacillus curvatus* CLFP150) test edilen patojenik suşların adhezyonunu azalttığı ortaya konulmuştur (Balcázar *et al.* 2007).

Pérez-Chabela *et al.* (2008) tarafından pişirilmiş sosisler üzerinde yapılan bir çalışmada laktik asit bakterilerinin termotolerant kapasitesi incelenmiştir. Araştırmada 70°C'de 60 dakikalık bir ısıl işlemde sonra canlı kalan laktik asit bakterilerinin *Lactobacillus plantarum*, *L. curvatus*, *Pediococcus pentosaceus* ve *P. acidilactici* olduğu bildirilmiştir.

Yuksekdag ve Aslim (2010) tarafından yapılan bir çalışmada beş *Pediococcus* spp. suşu değişik özellikler açısından incelenmiştir. Analizler sonucunda *Pediococcus* spp. suşları tarafından üretilen laktik asit seviyelerinin 2,5-5,6 mg/mL aralığında olduğu, *P. pentosaceus* Z13P suşunun maksimum (0,25 mg/mL proteolitik aktivite gösterdiği, tüm suşların amoksisilin, gentamisin ve vankomisine karşı dirençli olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada suşlar düşük pH değerine tolerans, safra tuzlarına karşı direnç ve *L.*

monocytogenes ile agregasyon ve co-agregasyon yetenekleri açısından da değerlendirilmiştir.

Both *et al.* (2010) *Lactobacillus casei* 01 ve *Lactobacillus acidophilus* La-5s suşlarının pH (2 ve 4) ve safra tuzu (%0,3 ve 1) direnci ile IEC-6 hücre hattına adhezyonunu *in vitro* olarak incelemiştir. Test edilen suşların adhezyon yeteneği, Gram boyama yöntemiyle belirlenmiş ve *L. casei* 01'nin, gastrik asitliğe duyarlılığı *L. acidophilus* La-5'ten daha fazla olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca *L. casei* 01'in safra tuzlarına çok hassas olduğu ve her iki suşun epitelyal hücrelere iyi yapışma yeteneği sergilediği de rapor edilmiştir.

Radyoaktif işaretli bakterilerin adhezyon yeteneğinin kantitatif bir analiz yöntemi ile incelendiği bir çalışmada, 10 *Enterococcus* suşunun %2 ile 4 arasında adhezyon yeteneği sergilediği, en yüksek adhezyon yeteneğini (%4,0- 0,4) *E. faecium* EF2019 suşunun verdiği, tüm suşların %0,3 safra tuzu ve HCl'e (pH 3,0) karşı iyi direnç göstererek canlılıklarını sürdürdüğü ve düşük adhezyon özelliklerine rağmen suşların gastrointestinal sistemden geçişe dayanıklılık gösterdiği bildirilmiştir (Marciňáková *et al.* 2010).

Ramírez-Chavarín *et al.* (2010) piyasadan temin edilen pişirilmiş sosislerden toplam 68 laktik asit bakteri izolatu elde etmişler ve biyokimyasal testlerle tanımladıkları 22 suşu ısı direnç açısından incelemiştir. İncelemeler neticesinde sadece 10 suşun ısı işleminden sonra (30 dakikada 70°C) canlı kalabildiğini ve bu suşların (*Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Aerococcus* ve *Enterococcus*) bu özelliğinden dolayı termotolerant olarak kabul edilebileceğini belirtmişlerdir.

Ertekin ve Çon (2011) tarafından farklı gıdalardan izole edilen muhtemel probiyotik 26 izolatu endüstriyel ve probiyotik özelliklerinin incelendiği çalışmada, izolatların laktik asit üretim yeteneklerinin %1,07-2,47 arasında değiştiği ve pH'yı 3,30-4,41 aralığına düşürdüğü, hidrofobisite değerlerinin izolata bağlı olarak değişkenlik gösterdiği, safra tuzu ve yüksek tuz konsantrasyonuna dayanıklı oldukları ve ayrıca pH 3,5 ve 9,6'da

gelişebilme bakımından *Lactobacillus plantarum* ve *Pediococcus pentosaceus*'un diğer izolatlardan daha fazla toleransa sahip oldukları tespit edilmiştir.

Lim and Ahn (2012), hardal yaprağı kimchi'sinden izole edilen yedi suşu simüle edilmiş mide ve safra sıvılarına toleransları, Caco-2 hücrelerine adhezyon özellikleri ve *Salmonella* Typhimurium ATCC 29631 yapışmasını inhibe etme kabiliyetleri açısından incelemiştir. Araştırmacılar *Lactobacillus acidophilus* GK20, *L. paracasei* GK74 ve *L. plantarum* GK81'in gastrik sıvının yanı sıra safraya direnç gösterdiğini, en güçlü *in vitro* adhezyonu $53,96 \pm 4,49$ ile *L. plantarum* GK81'in verdiğini ve bunu $40,72 \pm 9,46$ ile *L. acidophilus* GK20'nin izlediğini rapor etmişlerdir.

Doğal fermente zeytinlerden izole edilen laktik asit bakterilerinin probiyotik potansiyelini belirlemek üzere yürütülen bir araştırmada örneklerden izole edilen yetmiş bir laktik asit bakteri suşu (17 *Leuconostoc mesenteroides*, 1 *Ln. pseudomesenteroides*, 13 *Lactobacillus plantarum*, 37 *L. pentosus*, 1 *L. paraplantarum* ve 2 *L. paracasei* subsp. *paracasei*) probiyotik potansiyeli açısından incelenmiştir. Araştırmada simüle edilmiş gastrointestinal sistem koşullarında canlı kalma, antimikrobiyal aktivite, Caco-2 yüzey adhezyonu, antibiyotiğe direnç ve hemolitik aktivite olmak üzere farklı *in vitro* testler uygulanmıştır. Sonuç olarak 3 *L. pentosus*, 4 *L. plantarum* ve 2 *L. paracasei* subsp. *paracasei* suşunun düşük pH'da 3 saatten sonra en yüksek popülasyonu (>8 log kob/mL) verdiği, test edilen suşların çoğunun safra tuzlarına karşı 4 saatlik muameleden sonra dahi dirençli olduğu, Caco-2 hücrelerine adhezyon açısından farklı sonuçlar ile karşılaştığı, suşların farklı antibiyotiklere karşı benzer hassasiyet gösterdiği ve 4 *L. pentosus* suşu, 3 *L. plantarum* suşu, ve 2 *L. paracasei* subsp. *paracasei* suşunun referans probiyotik suşlara (*L. casei* Shirota ve *L. rhamnosus* GG) benzer veya daha iyi *in vitro* probiyotik özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir (Argyri *et al.* 2013).

Ramirez-Chavarin *et al.* (2013) pişirilmiş et ürünlerinden izole ettikleri 10 termotolerant laktik asit bakterisinin (*Pediococcus pentosaceus* (4 suş), *Lactobacillus plantarum* (3 suş), *Enterococcus faecium* (2 suş) ve *Aerococcus viridans* (1 suş) probiyotik özelliklerini incelemiştir. Suşların %50'sinin düşük pH ve simüle edilmiş mide

sıvısını tolere edemediği, tüm suşların taurokolik asit varlığı ve %0,3'ten daha fazla safra konsantrasyonlarında gelişebildiği, suşların %20'sinden daha azının *E. coli* ile %30'unun ise *Salmonella* ile co-agregasyon gösterdiği, 8 suşun 24 saatte iyi agregasyon kapasitesi sergilediği ve incelenen suşların tümünün HEp-2 hücrelerine yüksek adhezyona sahip olduğu rapor edilmiştir.

García-Ruiz *et al.* (2014) tarafından *Lactobacillus* spp., *Pediococcus* spp. ve *Oenococcus oeni* suşlarının probiyotik özellikleri araştırılmış ve çalışmada iki probiyotik suş (*Lactobacillus plantarum* CLC 17 ve *Lactobacillus fermentum* CECT5716) referans olarak kullanılmıştır. Araştırma sonucunda *Lactobacillus* ve *Pediococcus* suşlarının, lizozime karşı yüksek direnç gösterdiği ve düşük pH değerleri (pH 1,8) ile safra tuzlarında canlılıklarını sürdürdüğü, suşların Caco-2 hücrelerine adhezyon seviyelerinin suşa bağlı olarak %0,37 ile %12,2 arasında değiştiği, özellikle, *Pediococcus pentosaceus* CIAL-86'nın bağırsak hücrelerine (>%12), probiyotik referans suşlara göre daha yüksek bir adhezyon yüzdesi gösterdiği tespit edilmiştir.

Federici *et al.* (2014) tarafından Ciauscolo salami olarak adlandırılan kuru kür edilmiş bir fermente kuru sosis çeşidinden izole edilen laktik asit bakterileri ile laboratuvar koleksiyonuna ait laktik asit bakteri suşlarının düşük pH ve safrada canlılığını sürdürme, Caco-2 hücrelerine adhezyon kabiliyetleri ve antibiyotik direncinin incelendiği araştırmada, tüm laktik asit bakteri suşlarının mide sıvısına iyi adaptasyon sağladığı ve safraya orta derecede tolerans gösterdiği ve adhezyon açısından suşlar arasında farklılıkların olduğu bildirilmiştir.

Jeotgal (tuzlanmış ve fermente edilmiş geleneksel Kore'ye özgü bir deniz ürünü) örneklerinden izole edilen *Pediococcus pentosaceus* suşlarının probiyotik özelliklerinin incelendiği bir araştırmada, suşlar 2 saat pH 3,0'e maruz bırakıldıktan sonra *P. pentosaceus* F66'nın canlılık oranının %32,6, *P. pentosaceus* D56'nın canlılık oranının %17,2 ve *P. pentosaceus* A24'ün canlılık oranının %7,5 olduğu, *P. pentosaceus* F66 suşunun %0,3 safra tuzlarına 2 saat maruz kaldıktan sonra *P. pentosaceus* A24'ten (%13,7) ve *P. pentosaceus* D56'dan (%5,8) daha iyi geliştiği, %15 NaCl içeren MRS

sıvı besiyerinde üç suşun da yavaş bir gelişim gösterdiği ve suşların Caco-2 hücrelerine (10,9-13,9 kob/ hücre) pozitif kontrol (*Lactobacillus rhamnosus* GG (12,8±0,5 kob/hücre) ile benzer bir tutunma derecesine sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Lee *et al.* 2014).

Fermente edilmiş sebzelerden izole edilen 82 laktik asit bakterisi suşunun incelendiği bir çalışmada, suşların önemli bir kısmının oto-agregasyon kabiliyeti, hücre yüzeyi hidrofobisitesi ve gıda kaynaklı patojenlere (*Escherichia coli* O157: H7 DMST 12743 ve *Salmonella* Typhimurium ATCC 1331) karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Araştırmada probiyotik özellikler gösteren suşların antibiyotik direnci, *E. coli* O157: H7 DMST 12743 ve *S. Typhimurium* ATCC 13311 ile co-agregasyon kabiliyeti, ısı direnci (65°C'de 60 dakika) ve pH 2,0-8,0 gastrointestinal sistem koşulları altında canlı kalma kabiliyeti dahil diğer probiyotik özellikleri de incelenmiştir. 16S rDNA dizi analizi ile *Pediococcus pentosaceus* olarak tanımlanan suşların tüm kriterleri karşıladığı ve potansiyel probiyotik olarak kabul edilebileceği bildirilmiştir (Sayedboworn *et al.* 2014).

Arici *et al.* (2017) tarafından hardaliye üzerinde yapılan bir çalışmada dominant laktik asit bakterileri türleri belirlenmiş ve izolatların probiyotik ve teknolojik özellikleri ile hardaliye üretimi için starter kültür olarak potansiyelleri incelenmiştir. Araştırmada izolatların hiçbirinin pH 1'de 180 dakikalık inkübasyonundan sonra canlılığını koruyamadığı, pH 3'te ise canlılık oranının %37,39 ile %90 arasında değiştiği, tetrasiklin hidroklorüre karşı izolatların %18'inin direnç, %78'inin orta hassasiyet ve %6'sının ise hassasiyet gösterdiği, izolatların hiçbirinin kloramfenikole karşı bir direnç sergilemediği tespit edilmiştir. Ayrıca penisiline karşı izolatların %38'inin dirençli olduğu, %38'inin orta hassasiyet, %24'ünün hassasiyet gösterdiği, tüm suşların kanamisin ve streptomisine karşı direnç sergilediği, izolatların %0,3 safra tuzuna orta derecede tolerans gösterirken %0,5 ve %1 safra tuzu içeren ortamda yavaş gelişme gösterdiği, altı izolatın ise %1 safra tuzunda gelişemediği rapor edilmiştir. İzolatların hidrofobisite değerinin %1,01 ile %15,82, laktik asit üretiminin ise inkübasyon periyodunun sonunda (24 saat) 0,949 ile 3,901 g/L arasında değiştiği de bildirilmiştir.

Lee *et al.* (2016) Kimchi'den asit ve safra tuzu toleransları ve safra tuzu hidrolaz aktiviteleri esas alınarak izole ettikleri 3 *Leuconostoc mesenteroides* ve 1 *Lactobacillus plantarum* suşununun bazı özelliklerini belirledikleri çalışmada, *L. plantarum* C182'nin pH 3,0'de 3 saat sonunda en yüksek canlılık oranını gösterdiğini, ayrıca bu suşun %0,3 safra tuzuna oldukça dayanıklı olduğunu ve bu suşu sırasıyla *Ln. mesenteroides* C10, F27 ve C4 suşlarının izlediğini belirlemişlerdir. İncelenen suşların ampisilin, kloramfenikol, sikloheksamid, eritromisin, neomisin, streptomisin, tetrasiklin ve rifampisin'e karşı hassas iken vankomisine direnç gösterdiği, her 3 *Leuconostoc* suşunun da HT-29 hücrelerine (16,3-29,6 kob / hücre), *L. rhamnosus* GG (17,1 ± 0,6 kob / hücre) ile benzer veya daha iyi bir şekilde tutunduğu ve elde edilen sonuçlara göre 4 suşun da probiyotik olarak kullanılabilceği vurgulanmıştır.

Sharma *et al.* (2016) tarafından geleneksel süt ürünleri üzerinde yapılan bir çalışmada, *Pediococcus acidilactici* KM0 ve *Lactobacillus casei* KL14 olarak tanımlanan suşların asitliğe ve safra tuzuna karşı dirençli olduğu, her iki izolatında 5 saat sonra %40'dan daha fazla agregasyon kapasitesi ve ksilene karşı güçlü hidrofobisite gösterdiği ve bu suşların potansiyel probiyotikler olarak kullanılabilceği rapor edilmiştir.

Kimchi'den izole edilen ve 16S rDNA sekans analizi ile tanımlanan *Lactobacillus plantarum* Ln4 ve G72 ve *L. rhamnosus* KCTC 12202BP suşlarının yapay mide koşullarında (pH 2,5 olan %0,3 pepsin ve %0,3 safra tuzu varlığında) canlılıklarını sürdürdüğü, *L. plantarum* Ln4'ün en yüksek HT-29 hücrelerine adhezyon ve betagalaktosidaz aktivitesi gösterdiği ve *L. plantarum* Ln4'ün probiyotik kültür olarak fonksiyonel gıdaların üretiminde kullanılabilceği bildirilmiştir (Son *et al.* 2017).

Polonya'ya özgü çiğ fermente et ürünlerinden izole edilen *Lactobacillus* ve *Pediococcus* cinslerine ait 21 suşun potansiyel probiyotik özelliklerinin incelendiği bir çalışmada, suşların mide enzimlerine, düşük pH'ya, bağırsak enzimlerine ve safra tuzlarına direnç gösterdiği, suşların önemli bir kısmının gentamisin, streptomisin, vankomisin, tetrasiklin, siprofloksasin ve kanamisine dirençli olduğu, *L. brevis* SCH6, *P. pentosaceus* BAL6 ve KL14'ün diğer suşlara göre gastrointestinal koşullara direnç,

güvenlik değerlendirmesi ve antimikrobiyal özellikler açısından daha iyi sonuçlar verdiği tespit edilmiştir (Rzepkowska *et al.* 2017).

Piştirilmiş et ürünlerinden izole edilen 6 termotolerant laktik asit bakteri suşunun probiyotik özelliklerinin incelendiği bir çalışmada, suşlardan biri *Enterococcus faecium* (UAM1) ve 52'si ise *Pediococcus pentosaceus* (UAM2-UAM6) olarak tanımlanmıştır. Araştırmada gastrik stres koşulları altında *E. faecium* suşunun *Pediococcus* suşlarına göre canlılığını sürdürebilme açısından daha iyi sonuçlar verdiği, ince bağırsak stres koşullarında ise suşların canlılığında önemli derecede bir farklılık olmadığı, her 6 suşun da %0,3 safra tuzu varlığında gelişebildiği ve yüksek seviyede oto-agregasyon ve co-agregasyon yeteneği gösterdiği, *E. faecium* UAM1'un insan Caco-2 hücrelerine adhezyonunun *P. pentosaceus* suşlarının adhezyonundan (%2-5) önemli derecede daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Hernández-Alcántara *et al.* 2018).

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Bakteri suşları ve kültür koşulları

Araştırmada farklı kürlenme ajanları ve kürlenme sıcaklıkları uygulanarak üretilen pastırma örneklerinden izole edilen ve genetik olarak tanımlanan 80 laktik asit bakterisi suşu kullanılmıştır (Çınar *et al.* 2019). Suşlar, MRS broth (De Man Rogosa Sharpe, Merck) ve MRS agar (De Man, Rogosa Sharpe, Merck) besiyerlerinde geliştirilmiş ve -80°C'de saf gliserol içerisinde muhafaza edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Proteolitik aktivite

Suşların sarkoplazmik ve miyofibriler proteinler üzerindeki proteolitik aktivitesinin belirlenmesinde Bonomo *et al.* (2008) tarafından verilen metot kullanılmıştır. Sarkoplazmik ve miyofibriler proteinlerin ekstraksiyonunda ise Wu *et al.* (2014) tarafından verilen metot uygulanmıştır. Ekstraksiyonda kıyma haline getirilmiş pastırma, 1:10 (w/v) oranında 30 mM fosfat tamponu (pH:7,4) ile soğuk şartlarda ultraturax (IKA, T25 D, Germany) kullanılarak homojenize edilmiştir. Daha sonra homojenizat 10000 g'de 20 dakika 4°C'de santrifüj (Thermo Fisher Scientific, Centrifuge MR23İ, Germany) edilmiştir. Bu işlem üç kez tekrarlanmıştır. Santrifüj işleminden sonra elde edilen sarkoplazmik protein fraksiyonu kullanılmaya kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir. Kalan pelet 9 mL 100 mM fosfat tamponu (pH:7,4) (0,7 M potasyum iyodür ve %0,02 sodyum azit içeren) ile tekrar soğuk şartlarda ultraturax kullanılarak homojenize edilmiştir. Bu şekilde elde edilen homojenizat 10000 g'de 20 dakika 4°C'de santrifüj edilmiştir. Miyofibriler protein fraksiyonunu oluşturan bu süpernatant da kullanılmaya kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir (Wu *et al.* 2014).

Elde edilen sarkoplazmik ve miyofibriler protein fraksiyonlarında suşların proteolitik aktivitesinin belirlenmesi için %0,5 (w/v) tripton (Fluka), %0,25 (w/v) yeast extract (Fluka), %0,1(w/v) glukoz (Merck) ve %1,5 (w/v) agar (Merck) içeren ortama (pH 6,9) son konsantrasyonu %20 (v/v) olacak şekilde sarkoplazmik veya miyofibriller protein fraksiyonu ilave edilmiştir. Suşların 18-24 saatlik MRS kültürlerinden 30 µL alınarak agar plakları üzerine açılan 6 mm yarı çapındaki kuyulara inoküle edilmiştir. 30°C'de 48 saat inkübasyondan sonra agar içeren ortam petri plaklarından ayrılmış ve 5 dakika %50 (v/v) metanol ve %10 (v/v) asetik asit su solüsyonu içerisinde %0,05 (w/v) Coomassie Brilliant Blue (R250, Merck) ile boyanmıştır. Daha sonra %25 (v/v) metanol ve %5 (v/v) asetik asit solüsyonu içerisinde boya uzaklaştırılmıştır. İnoküle edilen kuyular etrafındaki zonların yarı çapları (mm) ölçülmüştür (Bonomo *et al.* 2008). Sonuçlar negatif ve çok zayıf (Negatif: Zon yok; Çok zayıf≤0,5mm) olarak değerlendirilmiştir.

3.2.2. Asit üretimi

Suşların asit üretimi %10'luk yağsız süt tozunda (Oxoid) belirlenmiştir. Ortama suşların 18-24 saatlik kültürlerinden %2 oranında inoküle edilmiş ve 35°C'de 42 saatlik inkübasyondan sonra yüzde asit üretimi 0,1 N NaOH ile titrasyon yapılarak belirlenmiştir. Ayrıca örneklerin pH değerleri de pH metre (Mettler-Toledo AG, 8603 Schwerzenbach, Switzerland) kullanılarak saptanmıştır (Arıcı *et al.* 2004).

3.2.3. Farklı pH değerlerinde gelişme

Suşların farklı pH'larda gelişiminin incelenmesi için farklı pH değerlerine (4, 5, ve 8) sahip MRS sıvı besiyeri hazırlanmıştır. Besiyeri pH'sının ayarlanmasında 5N NaOH ve 5N HCl kullanılmıştır. Hazırlanan besiyerlerine 24 saatlik kültürden 0,1 mL inoküle edilmiş ve 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda spektrofotometrede (Aquamate 9423 AQA 2000E, Thermo Scientific, England) 600 nm'de köre karşı absorbans ölçümü ile gelişim üzerine pH'nın etkisi belirlenmiştir

(Sifeeldein *et al.* 2018). Sonuçlar absorbans değerlerine göre zayıf, iyi ve çok iyi (Zayıf \leq 1,0 İyi=1,1-1,5 Çok İyi \geq 1,5) olarak değerlendirilmiştir.

3.2.4. Farklı sıcaklıklarda gelişme

Suşların farklı sıcaklıklarda gelişiminin incelenmesi için hacmi 5 mL'lik MRS sıvı besiyerleri hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyerlerine 24 saatlik kültürden 0,1 mL inoküle edilmiş ve besiyerleri 4°C'de 7 gün, 15°C'de 3 gün, 25°C'de 2 gün ve 45°C'de 3 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda spektrofotometrede 600 nm'de köre karşı absorbans ölçümü ile gelişim üzerine sıcaklığın etkisi belirlenmiştir (Drosinos *et al.* 2005). Sonuçlar absorbans değerlerine göre zayıf, iyi ve çok iyi (Zayıf \leq 1,0 İyi=1,1-1,5 Çok İyi \geq 1,5) olarak değerlendirilmiştir.

3.2.5. Termotolerant kapasitesinin belirlenmesi

İzole edilen laktik asit bakteri suşlarının her biri Pérez-Chabela *et al.* (2008) tarafından belirlenen metoda göre termotolerant kapasitesi açısından incelenmiştir. Öncelikle her bir kültür 10 mL MRS sıvı besiyerinde çoğaltılıp 24 \pm 2 saat boyunca 35°C'de optik yoğunluk 650 nm'de yaklaşık 1 oluncaya kadar inkübe edilmiştir. Daha sonra tüpler dik bir şekilde 70°C'de 60 dk boyunca su banyosunda tutulmuştur. Bu işlemden sonra 1 mL alınarak MRS agar plaklarına ekim yapılmış 35°C'de 24 saat süre boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra >300 kob/mL seviyesinde laktik asit bakterisi içeren petri plaklarındaki suşlar "termotolerant" olarak kabul edilmiştir.

3.2.6. Biyofilm oluşumu

Biyofilm oluşumunun belirlenmesinde Congo red agar (CRA) kullanılmış ve Landeta *et al.* (2013) tarafından verilen yöntem uygulanmıştır. CRA MRS sıvı besiyeri (37 g/L), sükröz (Merck) (0,8 g/L), agar-agar (Merck) (10 g/L) ve Congo red boya (C6767-Sigma) (0,8 g/L) kullanılarak hazırlanmıştır. Congo red boya konsantre sulu çözelti halinde hazırlanmış ve sterilize edilmiştir. Daha sonra 55°C'lik agar ortamına ilave

edilmiştir. Mikroorganizmalar agar plaklar üzerine çizim usulü ekim yapılmıştır. Agar plaklar 37°C'de 24 saat inkübasyonun ardından değerlendirilmiştir. Siyah koloniler üreten suşlar pozitif, pembe koloni oluşturan suşlar negatif olarak değerlendirilmiştir. Analizde kontrol suşu olarak biyofilm pozitif *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) kullanılmıştır.

3.2.7. Antibiyotik hassasiyeti

Ampisillin (AMP, 10µg), penisilin (P, 10U), vankomisin (VA, 30µg), kanamisin (K, 30µg), gentamisin (CN, 10µg), tetrasiklin (TE, 30 µg), streptomisin (S, 10µg), klindamisin (DA, 2 µg), sefalotin (KF, 30 µg), eritromisin (E, 15 µg) (Oxoid)'e karşı suşların hassasiyeti belirlenmiştir. Mueller-Hinton Agar (Merck, Germany) plakları üzerine hazır diskler yerleştirilmiş ve suşu içeren yarı katı MRS ile yüzeyi kapatılmıştır (Landeta *et al.* 2013). İnkübasyondan sonra zon oluşumlarına bakılarak antibiyotik hassasiyetleri CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) standartlarına göre belirlenmiştir (CLSI, 2015).

3.2.9. Safra tuzuna direnç

Safra tuzu (Bile Bovine, B3883, Sigma) varlığında suşların gelişme yeteneği Vinderola and Reinheimer (2003) tarafından verilen yöntem esas alınarak belirlenmiştir. Her bir suş % 0, 0,3-0,5-1 oranında safra tuzu içeren MRS sıvı besiyerine 1/10 oranında inoküle edilmiştir. Kültürler iki farklı sıcaklıkta (37°C'de ve 25°C) 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra suşların gelişimi 600 nm'de kontrole (safra tuzu içermeyen MRS sıvı besiyeri) karşı okuma yapılarak belirlenmiştir. Sonuçlar yüzde gelişim olarak hesaplanmıştır.

3.2.10. Hücre yüzey hidrofobisitesi

Bakteri hücre yüzey hidrofobisitesi hidrokarbonlara mikrobiyal adhezyon ölçümü ile belirlenmiştir (Kotzamandis *et al.* 2010). Suşlar 12000 g'de 10 dakika santrifüj edilmiş

ve sabit fazda bakteri hücreleri 2 kez yıkanmıştır. Daha sonra optik yoğunluk (600 nm'de) 0,6-0,7'ye ulaşması için (5 mL) PBS (Fosfat Tamponu Solüsyonu, pH:7,2)'de yeniden süspansiyon edilmiştir (10^8 kob/mL bakteri içeren PBS) (A_0). Yıkanan hücre süspansiyonununun 3 mililitresine 1 mL hidrokarbon eklenmiştir. 23°C'de 10 dk ön inkübasyondan sonra 2 fazlı sistem 2 dk vortekslenmiştir. Daha sonra 23°C'de 20 dk bekletilmiştir. Sulu faz dikkatli bir şekilde ayrılmış ve 600 nm'de absorbansı ölçülmüştür (A_1). Analizde hidrokarbon olarak n-hekzadekan ve toluen kullanılmıştır. Hücre yüzey hidrofobisitesi aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Hücre yüzey hidrofobisitesi (\%H)} = (1 - A_1 / A_0) * 100$$

3.2.11. Yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişme

Suşların NaCl'e karşı toleransını belirlemek için %7, 10 ve 15 oranında NaCl içeren MRS sıvı besiyerleri (10 mL) hazırlanmıştır. Hazırlanan MRS sıvı besiyerlerine 20 µL kültür eklenmiş ve 35°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra 96 kuyucuklu plakalara 200 µL kültür eklenmiş ve mikroplate okuyucuda (BioTek Instruments Inc, Highland Park, Box 998, Winooski, VT 05404-0998, USA) 550 nm'de absorbans okunmuştur (Escamilla-Montes *et al.* 2015). Analizde kör olarak kültür eklenmiş, inkübe edilmemiş örnek kullanılmıştır.

3.2.12. Düşük pH değerine direnç

Düşük pH değerine karşı direncin belirlenmesi için 18-24 saatlik kültürler hazırlanmıştır. Hazırlanan kültürler 10000 g'de 4°C'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Bu işlemde sonra suşlar PBS (Fosfat Tamponu Solüsyonu, pH:7,2) ile iki kez yıkanmıştır. Hazırlanan peletler pH'sı 2 veya 3'e ayarlanan PBS ile tekrar süspansiyon edilmiştir. Hazırlanan süspansiyonlar 37°C'de 0, 1, 2 ve 3 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda MRS agar plaklara yayma plak yöntemi ile ekim yapılmıştır. Ekim sonunda sonuçlar canlı mikroorganizma sayısı olarak verilmiştir (Plessas *et al.* 2017).

3.2.13. Oto-agregasyon ve co-agregasyon

Oto-agregasyon ve co-agregasyon yeteneğinin belirlenmesi için suşlar MRS sıvı besiyerinde 37°C'de 18 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra kültürler 5000 g'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Pelet PBS (pH:7,2) ile yıkanmıştır. Pelet tekrar kültür süpernatant sıvısı veya PBS ile 10⁸ kob/mL olacak şekilde süspanse edilmiştir. 4 mL bakteri süspanسیونu 10 saniye boyunca vortekslenmiş ve UV spektrofotometre ile 600 nm'de absorbansı ölçülmüştür (A₀). Süspanسیون 37°C'de 5 saat inkübe edilmiştir. Her saat başı 0,1 mL en üst faz 3,9 mL PBS içeren tüpe aktarılmış ve her saat başı absorbansı ölçülmüştür. Oto-agregasyon aşağıda belirtildiği gibi yüzde olarak belirlenmiştir (Kos *et al.* 2003).

$$\text{Oto-agregasyon (\%)} = (1 - A_{(1-2-3-4-5)} / A_0) * 100$$

Co-agregasyon için eşit hacimde (2 mL) laktik asit bakteri suşu (A_x) ve kontrol suşu (*E. coli* ATCC-25922) (A_y) karıştırılmış ve 10 saniye vortekslenmiştir. Daha sonra karışım 37°C'de 5 saat inkübe edilmiştir. Oto-agregasyonda belirtildiği gibi her saat başı 0,1 mL en üst faz 3,9 mL PBS içeren tüpe aktarılmış ve her saat başı absorbansı ölçülmüştür (A_{miks}). Co-agregasyon aşağıda belirtildiği gibi yüzde olarak belirlenmiştir (Kos *et al.* 2003).

$$\text{Co-agregasyon (\%)} = [((A_x + A_y) / 2) - A_{(x+y)}] / (A_x + A_y) / 2 * 100$$

3.2.14. Simüle mide ve bağırsak sıvısına direnç

Suşların simüle mide ve bağırsak sıvısına direnci Grimoud *et al.* (2010) ve Shukla ve Goyal (2014)'e göre belirlenmiştir. Suşlar 30 mL MRS sıvı besiyerinde geliştirildikten sonra 6000 g'de 4°C'de 20 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant ayrıldıktan sonra 10 ml PBS (K₂HPO₄) (50mM, 6,5pH) ile iki kez yıkanmıştır. Pelet, 3 mL PBS ile yeniden süspanse edilmiştir. Direnci incelenecek suşun 1 mL'lik kültürü (1x10⁹ kob/mL) son pH'sı 1N HCl ile 2,5'e ayarlanan 9 mL simüle mide sıvısına (NaCl 125 mM, KCl

(Sigma) 7 mM, NaHCO₃ (Isolab, Germany) 45 mM, pepsin (Chemcruz, sc-476554A) 3g/L) inoküle edilmiştir. Hazırlanan süspansiyon 200 rpm'de 37°C'de 3 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda süspansiyon 3800 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant ayrıldıktan sonra PBS (K₂HPO₄) (50mM, 6,5 pH) ile yıkanmıştır. Pelet simüle bağırsak sıvısında (pankreasin %0,1 w/v (Pancreasin from Porcine Pancreas Powder, P3292, Sigma), safra tuzu %0,15 w/v, 1N NaOH ile pH:8,0 ayarlanmış) yeniden süspansiyon edilmiş ve 200 rpm'de 37°C'de 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra sonuçlar canlı hücre sayısı olarak verilmiştir. Analizler üç kez tekrarlanmıştır. Sonuçlar log kob/mL olarak verilmiştir.

3.2.15. Adhezyon kapasitesi

Kolon hücrelerinde tutunan canlı bakteri sayısını belirlemek amacıyla literatürdeki çalışmalarda en çok kullanılan Caco-2 (ATCC HTB-37) ve HT-29 (ATCC HTB-38) insan kolon kanseri hücre hattı modelleri kullanılmıştır.

a) Kolon kanseri hücre hatlarının büyütülmesi

Caco-2 insan kolon kanseri hücre hattı %10 fetal sığır serumu (F9665, Sigma) %1 penisilin-streptomisin (P4458, Sigma) içeren Dulbecco's Modified Eagle's (DMEM) (DMEM-HA, CP18-2108, Capricorn) besiyeri içerisinde, HT-29 hücre hattı ise %10 fetal sığır serumu, %1 penisilin-streptomisin içeren McCoy's 5A(MCC-A, CP17-1977, Capricorn) modifiye besiyerinde, 37°C'de %5 CO₂ ve %90 nemde inkübatörde (Nuair, NU-425-500E, USA), yoğunluk olarak %85-90'ı flaskta tutunacak (konfluent) duruma gelinceye kadar büyütülmüştür.

b) Adhezyon deneyleri için hücrelerin 12 kuyucuklu plakalara ekimi

T25 hücre kültür kabında %85 yoğunluğa ulaşan hücreler, fosfat tamponu solüsyonu (PBS) ile yıkandıktan sonra %0,25 tripsin (Gibco) enzimi ile muamele edilerek yüzeyden kaldırılmıştır. Hücrelerden kaldırıldıktan sonra, tripsinin aktivitesini önlemek

amacıyla hücelere büyüme besiyeri ilave edilerek, 1300 rpm'de 5 dak. santrifüj edilmiştir. Hücre peleti besiyeri eklenerek çözdürülmüş ve Neubaer hemositometresi ile kuyucuklara ekilecek olan hücre sayısı hesaplanmıştır. Her bir bakteri için 3 paralelli 125.000 hücre/kuyucuk olacak şekilde 12 kuyucuklu plakalara hücre ekilmiştir ve hücreler %90 yoğunluğa gelinceye kadar inkübatörde geliştirilmiştir.

c) Plakalara ekilmiş hücelere bakteri ekimi

MRS sıvı besiyerinde 18-24 saat geliştirilen suşlar hücre ortamına inoküle edilmeden önce 5000 g'de 15 dakika 4°C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra süpernatant dökülmüş ve hücre peleti PBS (pH:7,2) ile iki kez yıkanmıştır. Yıkanan hücre peleti 10⁸ log kob/mL olacak şekilde PBS ile tekrar süspanse edilmiştir. Hazırlanan bakteri süspanسیونu hücre ortamına ekilmiş ve 37°C'de %5 CO₂ ve %90 nemde inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır.

d) Canlı bakteri sayısının plak sayım yöntemi ile belirlenmesi

İnkübasyon sonrası 12 kuyucuklu plakalar DPBS (Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline, pH:7,2) (D1283, Sigma) ile üç kez yıkanmıştır. Yıkanan plakalara 100µL Triton-X-100 (T8787, Sigma) eklenmiş ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra plakalara 900µL MRS sıvı besiyeri eklenerek pipetleme yapılmıştır. Hazırlanan solüsyondan dilüsyonlar hazırlanmış ve plak sayım yöntemi ile uygun dilüsyonlardan ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petri kapları 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda petri kapları sayılmış ve sonuçlar log kob/mL olarak hesaplanmıştır.

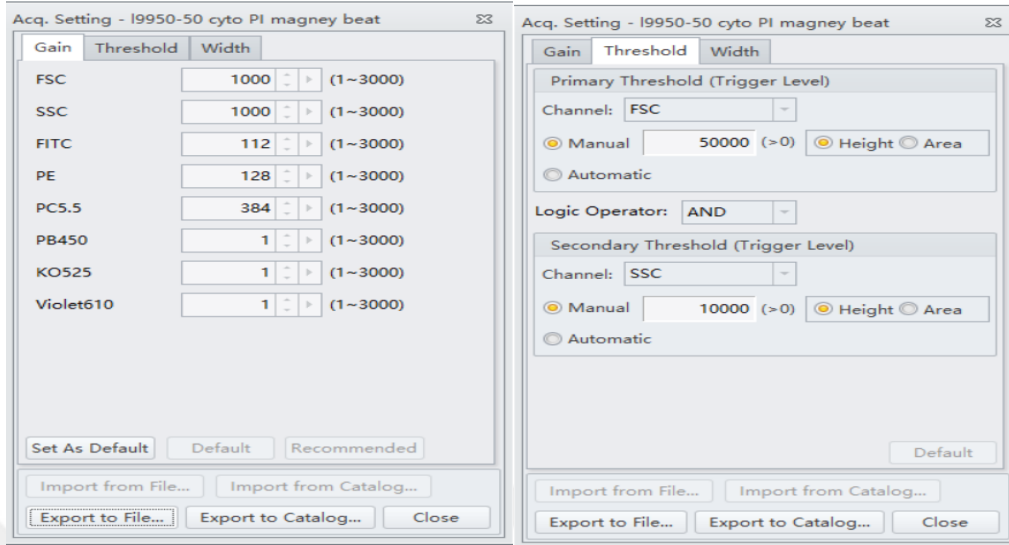
e) Canlı bakteri sayısının flow (akım) sitometrisi ile belirlenmesi

Hücelere tutunan canlı bakteri sayısı flow sitometrisi ile LIVE/DEAD® BacLight™ Bacterial Viability Kit (Thermo Fisher Scientific, L34856, Germany) kiti kullanılarak belirlenmiştir. Söz konusu kit nükleik asitleri boyayan SYTO9 ve propidium iodide (PI)

boyalarını içermektedir. SYTO9 hücre zarından geçen bir boya olup sağlam ve zarar görmüş hücre zarlarını boyamaktadır. PI ise hücre zarından geçmeyen bir boya olup canlı hücreler tarafından atılmakta dolayısıyla sadece ölü hücreleri boyamaktadır. Her iki boya örneğe eklediğinde canlı bakteriler yeşil renk flöresan verirken, ölü hücreler kırmızı renkte flöresan ışımaya vermektedir.

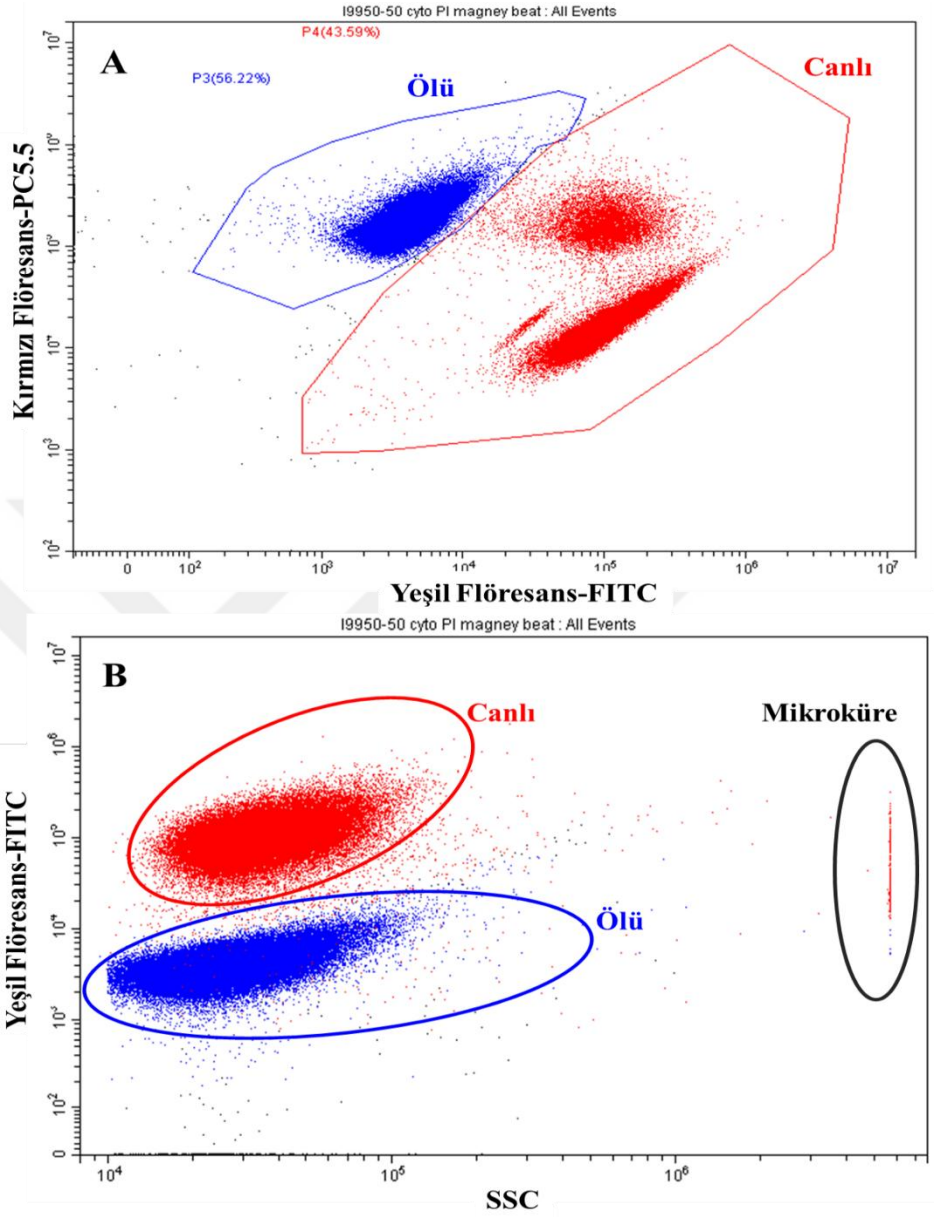
Kitin çalışma prensibine göre suşların boyama protokolünü optimize etmek amacıyla %100 canlı, %100 ölü ve %50 canlı-%50 ölü bakteri karışımı içeren bakteri solüsyonları hazırlanmıştır. Söz konusu örnekleri hazırlamak için aktive edilmiş büyüme fazında olan suşlardan 10^8 - 10^9 /mL olacak şekilde 1 mL bakteri solüsyonları ependorf tüplere konulmuş, 10 000 g'de 3 dakika santrifüj (Hettich, 0006271-09, Germany) edilerek hücre peleti elde edilmiştir. Sonrasında pelet 1 mL %0,85 NaCl çözeltisi eklenerek çözündürülmüştür. Ölü bakteriler, bakterilerin 121°C 'de 15 dak otoklavlanması ile elde edilmiştir. Elde edilen canlı ve ölü bakteri solüsyonlarından 250 μL alınarak %50 ölü-canlı bakteri karışımı elde edilmiştir. Hazırlanan ölü, canlı ve ölü-canlı bakteri solüsyonlarından 500 μL hacimde ependorf tüplerine konularak üzerilerine 0,5 μL SYTO9 ve PI boyalarından eklenerek karanlıkta oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilmiştir. Süre sonunda 5 μL standart mikroküre solüsyonundan eklenerek, flow sitometride (CtyoFLEX, A00-1-1102, China) analiz edilmek üzere her bir örnekten 250 μL alınarak 96 kuyucuklu plakaya konulmuştur. Her bir bakteri türü için 2 ayrı kuyucuk okutulmuştur.

Boyalı bakteri örneklerine ait akım sitometrisi verileri Atatürk Üniversitesi- Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yer alan Beckman Coulter Cytotflex Flow sitometrisi ve CytExpert yazılımı ile aşağıda belirtilen deneysel parametreler (Şekil 3.1) kullanılarak elde edilmiştir.



Şekil 3.1. Flow sitometrisi ve CytExpert yazılımı ile kullanılan deneysel parametreler

Şekil 3.2’de %50 canlı, %50 ölü bakteri karışımı içeren örnekten alınan akım sitometrisi grafikleri görülmektedir. Şekilden de görüleceği üzere hem canlı hem de ölü bakteriler birbirinden belirgin bir şekilde ayrılmaktadır ki, bu da kullanılan kitin etkinliğini ortaya koymaktadır.



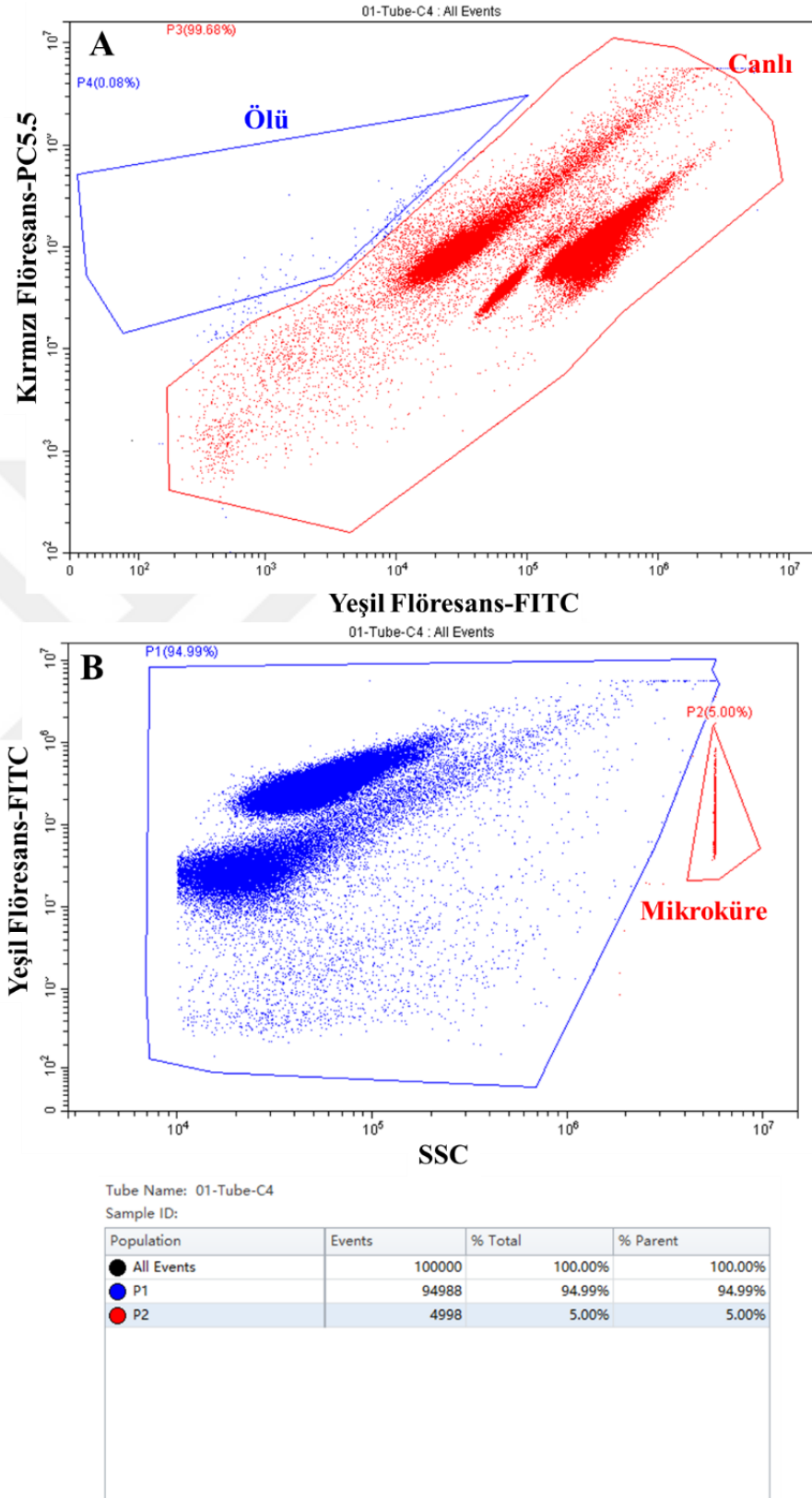
Şekil 3.2. *P. acidilactici* K99 bakterisine ait %50 canlı, %50 ölü bakteri içeren bakteri solüsyonundan elde edilen flow sitometrisi grafikleri

Caco-2 ve HT-29 hücrelerinde çalışılan bakteri suşlarına ait flow sitometri verileri aynı deneysel koşullarda toplam 100.000 olay (event) olacak şekilde toplanmış, grafikte verilen canlı bakterilerin yer aldığı bölgeye karşılık gelen grafiklerde kaplama yapılmıştır. Elde edilen grafiklere dayalı bakteri sayısını hesaplamak amacıyla canlı hücre kısmında ve mikroküre kısmında yer alan olay sayıları hesaplanmıştır.

$$\text{Canlı Bakteri Sayısı/mL} = \frac{\text{Bakteri Bölgesindeki Olay Sayısı}}{\text{Mikroküre Bölgesindeki Olay Sayısı} \times 10^{-6}}$$

Şekil 3.2’de HT29 hücre hattından elde edilen *P. pentosaceus* K7 suşuna ait olay sayıları verilmiştir. Bu olay sayıları belirtilen formülde kullanılarak çalışan hücre hattında tutunan canlı bakteri sayısı log kob/mL olarak hesaplanmıştır.





Şekil 3.3. HT29 hücre hattında *P. pentosaceus* K7 suşuna ait flow sitometrisi grafiği ve grafikten hesaplanan canlı hücre, mikroküre bölgesine ait olay sayıları

Plak sayım yöntemi ve flow sitometri analizinde elde edilen canlı sayım sonuçlar adhezyon yüzdesi olarak hesaplanmıştır.

f) Bakteri adhezyonunun Gram boyama ile incelenmesi

İnkübasyon sonunda plakalara ekimi gerçekleştirilen suşların Gram boyama ile tutunmaları incelenmiştir. Plakalar PBS ile 3 kez yıkanmıştır. Daha sonra %3'lük paraformaldehit ile oda sıcaklığında 30 dakika boyunca hücreler ve hücrelere tutunan suşlar fikse edilmiştir. Fiksasyondan sonra 3 kez PBS ile yıkanmış ve kurutulmuştur. Kurutulan plakalara Gram boyama uygulanmış ve invert mikroskopta (Carl Zeiss, 3842003382, Germany) görüntüleri alınmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Proteolitik aktivite

Bir seri reaksiyonlar dizisini içeren proteoliz, kür edilmiş fermente et ürünlerinin karakteristik aromasının gelişimde önemli rol oynamaktadır (Sanz *et al.* 1999a). Kür edilmiş ve fermente edilmiş et ürünlerinde proteolizin ağırlıklı olarak endojen kas proteazlarından kaynaklandığı ve mikroorganizmaların kuru kür edilmiş et ürünlerindeki proteolize spesifik katkılarının nispeten daha az olduğu bildirilmektedir (Toledano *et al.* 211). Proteolizde proteinlerin parçalanmasından sorumlu proteinazlar, küçük peptidlerin oluşumundan sorumlu peptidazlar ve serbest amino asit oluşumundan sorumlu aminopeptidazlar ve karboksipeptidazlar önemli rol oynamaktadır (Toldra 2002). Proteoliz sonucu oluşan protein tabiatında olmayan azotlu bileşikler tat üzerinde etkili olabildikleri gibi uçucu bileşiklerin prokürsörleri olarak da etkili olmaktadır (Kaya ve Kaban 2010b). Proteoliz sonucu oluşan düşük molekül ağırlıklı bileşikler aroma gelişiminin yanı sıra tekstür üzerinde de etkili olmaktadır (Gao *et al.* 2016).

Mevcut çalışmada suşların proteolitik aktivitesini incelemek için substrat olarak pastırma örneklerinden ekstrakte edilen sarkoplazmik ve miyofibriler proteinler kullanılmıştır. Çizelge 4.1.'de görüldüğü gibi suşların çoğunun proteolitik aktivitesi bulunmamaktadır. 63 *P. pentosaceus*'dan sadece 5 suş (K38, K45, K86, K124 ve K127) sarkoplazmik proteinler üzerinde çok zayıf bir proteolitik aktivite göstermiştir. Ancak söz konusu bu suşların miyofibriler proteinler üzerinde aktivitesi gözlenmemiştir. Miyofibriler proteinler üzerinde ise bu türe ait K4, K6, K10, K13, K23, K39, K66B, K76, K102, K104, K107, K112, K115, K117, K118 ve K128 suşları yine çok zayıf bir aktivite sergilemiştir. Myofibriler proteinler üzerinde çok zayıf etki gösteren bu suşlar sarkoplazmik protein fraksiyonu üzerinde etkili olmamıştır (Çizelge 4.1). Molina and Toldra (1992) ise kuru kür edilmiş hamden izole ettikleri suşların proteolitik aktivitelerini inceledikleri çalışmalarında *Pediococcus pentosaceus*'un sarkoplazmik ve miyofibriler proteinler üzerine endopeptidaz aktivitesinin olmadığını tespit etmişlerdir. Diğer taraftan *Pediococcus acidilactici* suşlarından sadece ikisi (K58 ve K62)

myofibriler preoteinler üzerinde çok zayıf proteolitik aktivite göstermiştir. Myofibriler proteinler üzerinde proteolitik aktivite gösteren diğer bir suş *Lactobacillus sakei* K103'tür. *L. plantarum* K73 suşu ise ne sarkoplazmik ne de miyofibriler protein fraksiyonlarında proteolitik aktivite göstermiştir (Çizelge 4.1). Bu sonuçlara göre pastırmadan izole edilen suşların genellikle proteolitik aktivite göstermediği ve zayıf pozitif suşların ise pastırma üretim koşullarında aktivite gösterecek özellikte olamayacağı düşünölmektedir.



Çizelge 4.1. Laktik asit bakteri suşlarının proteolitik aktivitesine ait sonuçlar

Suş	Sarkoplazmik Proteinler	Miyofibriler Proteinler	Suş	Sarkoplazmik Proteinler	Miyofibriler Proteinler	Suş	Sarkoplazmik Proteinler	Miyofibriler Proteinler	Suş	Sarkoplazmik Proteinler	Miyofibriler Proteinler
<i>P.pentosaceus</i> K4	Negatif	Çok Zayıf	<i>P.pentosaceus</i> K41	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K76	Negatif	Çok Zayıf	<i>P.pentosaceus</i> K116	Negatif	Negatif
<i>P.pentosaceus</i> K5	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K42	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K81	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K117	Negatif	Çok Zayıf
<i>P.pentosaceus</i> K6	Negatif	Çok Zayıf	<i>P.pentosaceus</i> K44	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K82	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K118	Negatif	Çok Zayıf
<i>P.pentosaceus</i> K7	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K45	Çok Zayıf	Negatif	<i>P.acidilactici</i> K83	Negatif	Negatif	<i>P.acidilactici</i> K119	Negatif	Negatif
<i>P.pentosaceus</i> K8	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K51	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K85	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K120	Negatif	Negatif
<i>P.pentosaceus</i> K9	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K52	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K86	Çok Zayıf	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K121	Negatif	Negatif
<i>P.pentosaceus</i> K10	Negatif	Çok Zayıf	<i>P. acidilactici</i> K53	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K87	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K123	Negatif	Negatif
<i>P.pentosaceus</i> K13	Negatif	Çok Zayıf	<i>P.pentosaceus</i> K54	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K97	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K124	Çok Zayıf	Negatif
<i>P.pentosaceus</i> K14	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K55	Negatif	Negatif	<i>P.acidilactici</i> K98	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K127	Çok Zayıf	Negatif
<i>P.pentosaceus</i> K15	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K56	Negatif	Negatif	<i>P.acidilactici</i> K99	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K128	Negatif	Çok Zayıf
<i>P.pentosaceus</i> K21	Negatif	Negatif	<i>P.acidilactici</i> K57	Negatif	Negatif	<i>P.acidilactici</i> K100	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K129	Negatif	Negatif
<i>P.pentosaceus</i> K22	Negatif	Negatif	<i>P.acidilactici</i> K58	Negatif	Çok Zayıf	<i>P.pentosaceus</i> K101	Negatif	Negatif			
<i>P.pentosaceus</i> K23	Negatif	Çok Zayıf	<i>P.acidilactici</i> K59	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K102	Negatif	Çok Zayıf			
<i>P.pentosaceus</i> K24	Negatif	Negatif	<i>P.acidilactici</i> K60	Negatif	Negatif	<i>L. sakei</i> K103	Negatif	Çok Zayıf			
<i>P.pentosaceus</i> K31	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K61	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K104	Negatif	Çok Zayıf			
<i>P. acidilactici</i> K32	Negatif	Negatif	<i>P.acidilactici</i> K62	Negatif	Çok Zayıf	<i>P.pentosaceus</i> K105	Negatif	Negatif			
<i>P. acidilactici</i> K33	Negatif	Negatif	<i>P.acidilactici</i> K63	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K106	Negatif	Negatif			
<i>P.pentosaceus</i> K34	Negatif	Negatif	<i>P.acidilactici</i> K64	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K107	Negatif	Çok Zayıf			
<i>P.pentosaceus</i> K35	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K66B	Negatif	Çok Zayıf	<i>P.pentosaceus</i> K110	Negatif	Negatif			
<i>P.pentosaceus</i> K37	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K67	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K112	Negatif	Çok Zayıf			
<i>P.pentosaceus</i> K38	Çok Zayıf	Negatif	<i>L.plantarum</i> K73	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K113	Negatif	Negatif			
<i>P.pentosaceus</i> K39	Negatif	Çok Zayıf	<i>P.pentosaceus</i> K74	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K114	Negatif	Negatif			
<i>P.pentosaceus</i> K40	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K75	Negatif	Negatif	<i>P.pentosaceus</i> K115	Negatif	Çok Zayıf			

Negatif: Zon yok; Çok zayıf $\leq 0,5$ mm (zon çapı)

Et endüstrisinde yaygın olarak starter kültür olarak kullanılan laktik asit bakterilerinin ve geleneksel ürünlerden izole edilen suşların proteolitik aktivitelerinin ürün kalitesini etkileyecek derecede olmadığı diğer araştırmalarda da ortaya konulmuştur. Nitekim Landeta *et al.* (2013) substrat olarak jelatin ve kalsiyum kazeinat agar kullandıkları bir çalışmada hiçbir laktik asit bakteri suşunun proteolitik aktivite göstermediğini bildirmişlerdir. Ammor and Mayo (2007) ise laktik asit bakterilerinin miyofibriller proteinler üzerinde sadece zayıf bir proteolitik aktivite sergilediğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte bazı *L. casei*, *L. plantarum*, *L. curvatus* ve *L. sakei* suşlarının, sarkoplazmik proteinlerin hidrolizine katkıda bulunabileceğini gösteren araştırmalar da mevcuttur (Fadda *et al.* 1999; Sanz *et al.* 1999b). Fadda *et al.* (1999) peptidlerin amino asitlere parçalanmasına sosislerden izole edilen *L. sakei*, *L. curvatus* ve *L. plantarum* suşlarının sahip olduğu peptidazların yol açtığını belirtmişlerdir. Papamanoli *et al.* (2003) bazı *L. sakei*, *L. curvatus* ve *L. plantarum* suşlarının proteinlerin ve peptitlerin katabolizmasına yol açan lösin ve valin amino-peptidaz aktivitelerine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Toledano *et al.* (2011) ise proteolitik aktivitede substratın önemli bir faktör olduğunu ve substrata bağlı olarak değişiklik gösterdiğini belirtmişlerdir.

Süt ürünleri üzerinde yapılan çalışmalarda da benzer sonuçların yanı sıra proteolitik aktivite gösteren suşlar da tespit edilmiştir. Nespolo and Brandelli (2010) Brezilya'nın Güney Bölgesinde üretilen küçükbaş sütlerinden ve peynirlerden izole ettikleri 59 laktik asit bakteri suşunun %21'inin skim milk agarda proteolitik aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Carafa *et al.* (2015) ise geleneksel dağ Malga peynirinden izole edilen 70 biyotipin (baskın türler *Pediococcus pentosaceus* ve *Lactobacillus paracasei*) hiçbirinin ekzoproteolitik aktivite göstermediğini ancak *L. paracasei* en iyi aminopeptidaz aktivitesine sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Konu ile ilgili diğer bir çalışmada ise *P. pentosaceus* Z13P suşunun, süt tozunda 0,25 mg/mL düzeyinde bir proteolitik aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Yuksekdag and Aslim 2010).

4.2. Asit üretim yeteneği

Laktik asit bakterilerinin optimum sıcaklığı ve asidifikasyon yeteneğinin belirlenmesinde pH ve asit oluşumuna dayalı indirekt metodlar sıklıkla kullanılmaktadır (Spinnler and Corrieu 1989; Torrestiana *et al.* 1994; Adamberg *et al.* 2003). Laktik asit bakterilerinin asit üretim yeteneği suşların endüstriyel açıdan kullanımını konusunda önem arz etmektedir (Adamberg *et al.* 2003). Laktik asit ilk olarak 1780'de Scheela tarafından bozulmuş sütte keşfedilmiş ve 1789'da Lavosier tarafından "asit laktik" olarak tanımlanmıştır. Laktik asit gıda katkısı, kozmetik, ilaç, tıbbi implantasyon amacıyla FDA tarafından GRAS (Generally Recognized As Safe) olarak kabul edilmiştir (Nikita and Hemangi 2012). Laktik asit fermantasyonunda asit üretimi ve pH düşüşü asitliğin artmasına sebep olan önemli değişikliklerdir (Toksoy vd 1999). Laktik asit bakterileri laktik asit ve asetik asit benzeri organik asitler üreterek üründe patojenlere karşı güçlü antibakteriyel etki sağlamaktadır (Yaman *et al.* 1998; Guglielmotti *et al.* 2007). Ayrıca oluşan laktik asit ürünün yapısal nitelikleri, kıvam, renk ve tadı üzerine de etki etmektedir (Toksoy vd 1999).

Mevcut çalışmada suşların yağsız süt tozunda asit üretim yetenekleri incelenmiştir. Neticede, en yüksek asit üretimi sırasıyla *L. plantarum* K73 (4,23), *P. pentosaceus* K66B (4,29), *P. pentosaceus* K55 (4,31), *P. pentosaceus* K56 (4,59) ve *L. sakei* K103 (4,61) izolatlarında belirlenmiştir. Ayrıca *P. pentosaceus* suşlarının önemli bir kısmı da 5,5'in altında pH değerleri vermiştir (Çizelge 4.2). Cogan *et al.* (1997) 24 geleneksel peynir ve 35 üründen ticari süt fermantasyonlarında starter olarak kullanılabilecek suşları belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada 1582 *Lactococcus* ve 482 mezofilik *Lactobacillus* izolatından sadece sırasıyla %8 ve %2'si süt pH'ını 30°C'de 6 saatte <5,3'e düşürmek için yeterli asit üretmiştir. Buna karşılık *S. termophilus*, termofilik *Lactobacillus* ve *Enterococcus* izolatlarının sırasıyla %53, %32 ve %13'ü pH'ı <5,3'e düşürmüştür. Ayad *et al.* (2006) geleneksel Mısır Ras peynirlerinden izole ettikleri *Lactococcus* (15), *Lactobacillus* (95), *Enterococcus* (77) ve *Pediococcus* (1) içeren laktik asit bakteri suşlarını (188 suşları), teknolojik performansları açısından inceledikleri çalışmada 95 *Lactobacillus* suşunun %21'inin orta dereceli asidifikasyon

oranı gösterdiğini belirlemişlerdir. Ertekin ve Çon (2011) farklı gıdalardan izole ettikleri muhtemel probiyotik 26 izolat üzerinde yürüttükleri çalışmada izolatların asit üretim yeteneklerini %1,07-2,47 ve pH 3,30-3,41 aralığında tespit etmişlerdir. Arici *et al.* (2017) hardaliyede bulunan baskın laktik asit bakterileri türlerinin teknolojik özelliklerini ve starter kültür olarak potansiyel kullanımlarını inceledikleri çalışmada laktik asit bakteri izolatlarının 30°C'de inkübasyon süresi sonunda (24 saat) toplam laktik asit üretiminin 0,949 ile 3,901 g/L aralığında olduğunu bildirmişlerdir. Chen *et al.* (2017) ise yoğurttan izole ettikleri 57 laktik asit bakteri suşundan 5 suşun yüksek asit üretimine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Yüksekdağ and Aslim (2010) ise 5 *Pediococcus* spp. suşu tarafından üretilen laktik asit miktarının 2,5-5,6 mg/mL aralığında olduğunu rapor etmişlerdir.

Çizelge 4.2. Laktik asit bakteri suşlarının asit üretim yeteneğine ait sonuçlar

Suş	Asit Üretim Yeteneği pH	Titre Edilebilir Asitlik (%)	Suş	Asit Üretim Yeteneği pH	Titre Edilebilir Asitlik (%)	Suş	Asit Üretim Yeteneği pH	Titre Edilebilir Asitlik (%)	Suş	Asit Üretim Yeteneği pH	Titre Edilebilir Asitlik (%)
<i>P.pentosaceus</i> K4	5,84	0,32	<i>P.pentosaceus</i> K41	5,67	0,32	<i>P.pentosaceus</i> K76	5,49	0,36	<i>P.pentosaceus</i> K116	5,66	0,34
<i>P.pentosaceus</i> K5	5,60	0,32	<i>P.pentosaceus</i> K42	5,65	0,32	<i>P.pentosaceus</i> K81	5,64	0,31	<i>P.pentosaceus</i> K117	5,59	0,32
<i>P.pentosaceus</i> K6	5,47	0,34	<i>P.pentosaceus</i> K44	5,62	0,32	<i>P.pentosaceus</i> K82	5,92	0,29	<i>P.pentosaceus</i> K118	5,64	0,34
<i>P.pentosaceus</i> K7	5,63	0,32	<i>P.pentosaceus</i> K45	5,56	0,32	<i>P.acidilactici</i> K83	5,82	0,29	<i>P.acidilactici</i> K119	6,01	0,27
<i>P.pentosaceus</i> K8	5,57	0,34	<i>P.pentosaceus</i> K51	5,65	0,32	<i>P.pentosaceus</i> K85	5,41	0,34	<i>P.pentosaceus</i> K120	5,65	0,32
<i>P.pentosaceus</i> K9	5,41	0,40	<i>P.pentosaceus</i> K52	5,44	0,36	<i>P.pentosaceus</i> K86	5,47	0,34	<i>P.pentosaceus</i> K121	5,85	0,29
<i>P.pentosaceus</i> K10	5,62	0,36	<i>P. acidilactici</i> K53	5,60	0,34	<i>P.pentosaceus</i> K87	5,47	0,34	<i>P.pentosaceus</i> K123	5,57	0,36
<i>P.pentosaceus</i> K13	5,63	0,34	<i>P.pentosaceus</i> K54	5,41	0,36	<i>P.pentosaceus</i> K97	5,72	0,32	<i>P.pentosaceus</i> K124	5,82	0,29
<i>P.pentosaceus</i> K14	5,59	0,34	<i>P.pentosaceus</i> K55	4,31	0,74	<i>P.acidilactici</i> K98	5,93	0,27	<i>P.pentosaceus</i> K127	5,68	0,34
<i>P.pentosaceus</i> K15	5,82	0,29	<i>P.pentosaceus</i> K56	4,59	0,59	<i>P.acidilactici</i> K99	5,60	0,32	<i>P.pentosaceus</i> K128	5,91	0,29
<i>P.pentosaceus</i> K21	5,45	0,36	<i>P.acidilactici</i> K57	5,44	0,38	<i>P.acidilactici</i> K100	5,69	0,29	<i>P.pentosaceus</i> K129	5,54	0,38
<i>P.pentosaceus</i> K22	5,44	0,36	<i>P.acidilactici</i> K58	5,72	0,31	<i>P.pentosaceus</i> K101	5,70	0,32			
<i>P.pentosaceus</i> K23	5,55	0,38	<i>P.acidilactici</i> K59	5,52	0,34	<i>P.pentosaceus</i> K102	5,74	0,34			
<i>P.pentosaceus</i> K24	5,48	0,36	<i>P.acidilactici</i> K60	5,85	0,27	<i>L. sakei</i> K103	4,61	0,59			
<i>P.pentosaceus</i> K31	5,42	0,36	<i>P.pentosaceus</i> K61	5,51	0,34	<i>P.pentosaceus</i> K104	5,56	0,36			
<i>P. acidilactici</i> K32	5,50	0,36	<i>P.acidilactici</i> K62	5,37	0,40	<i>P.pentosaceus</i> K105	5,60	0,31			
<i>P. acidilactici</i> K33	5,57	0,34	<i>P.acidilactici</i> K63	5,88	0,23	<i>P.pentosaceus</i> K106	5,71	0,31			
<i>P.pentosaceus</i> K34	5,47	0,36	<i>P.acidilactici</i> K64	5,92	0,27	<i>P.pentosaceus</i> K107	5,69	0,32			
<i>P.pentosaceus</i> K35	5,40	0,35	<i>P.pentosaceus</i> K66B	4,29	0,74	<i>P.pentosaceus</i> K110	5,63	0,34			
<i>P.pentosaceus</i> K37	5,47	0,34	<i>P.pentosaceus</i> K67	6,05	0,27	<i>P.pentosaceus</i> K112	5,68	0,34			
<i>P.pentosaceus</i> K38	5,47	0,37	<i>L.plantarum</i> K73	4,23	0,76	<i>P.pentosaceus</i> K113	5,65	0,32			
<i>P.pentosaceus</i> K39	5,47	0,36	<i>P.pentosaceus</i> K74	5,44	0,29	<i>P.pentosaceus</i> K114	5,68	0,32			
<i>P.pentosaceus</i> K40	5,47	0,45	<i>P.pentosaceus</i> K75	5,47	0,34	<i>P.pentosaceus</i> K115	5,68	0,34			

Mevcut bu araştırmada elde edilen sonuçlara göre *L. plantarum* K73 ve *L. sakei* K103 ile *P. pentosaceus* K66B, *P. pentosaceus* K55 ve *P. pentosaceus* K56 asit üretim yeteneği açısından önemli suşlardır. Sucuk ve benzeri fermente sosislerde asit oluşum hızı ve derecesi hem kuruma dolayısıyla hem de tekstür ve ürün güvenliği açısından önemli bir faktördür (Lücke 1985). Bu suşların sucuk ve ısıt ışlem görmüş sucuk gibi fermente sosisler için iyi birer starter kültür adayı olabileceği düşünölmektedir.

4.3. Farklı pH değerlerinde gelişme

Laktik asit bakterileri fermente gıdaların üretiminde uzun zamandan beri kullanılmaktadır. Seçilmiş suşlar endüstriyel gıda fermantasyonlarında starter kültür olarak kullanılmaktadır. Ancak ürün ve prosese uygun suş seçimi, starter kültürlerden beklenen etkiler açısından oldukça önemli bir faktördür. Probiyotik suş seçiminde ise mide ortamına dirençlilik önemli bir kriterdir (Succi *et al.* 2005). İzole edilen suşların mide ve bağırsak boyunca özellikle zayıf çoğalma ve düşük canlılık göstermesi probiyotik olarak daha yüksek potansiyele sahip yeni suşların arayışına da yol açmaktadır (Rajoka *et al.* 2017).

Mikroorganizmaların gelişebildiği minimum, optimum ve maksimum pH aralığı değişebilmektedir. Ancak ortam pH'sı sadece mikroorganizmaların gelişimi değil canlılığı üzerine de oldukça önemlidir (Temiz 1999). Mide pH'sı (2,5) çok düşük olduğu için canlılık farklılık gösterebilmektedir. Çizelge 4.3'de göröldüğu üzere tüm suşlar zayıf da olsa düşük ve yüksek pH aralığında (pH 4-8) gelişim göstermektedir. Bununla beraber araştırmada test edilen 15 *P. acidilactici* suşundan 13'ü pH 4'de çok iyi bir gelişme göstermiştir. Buna karşın aynı pH değerinde 63 *P. pentosaceus* suşundan sadece 10'u çok iyi bir gelişme göstermiştir. *L. plantarum* K73 suşu her üç pH değerinde çok iyi bir gelişme gösterirken, *L. sakei* K103 suşu pH 4, 5 ve 8'de sırasıyla zayıf, iyi ve çok iyi bir gelişme sergilemiştir. Diğer taraftan *P. pentosaceus* K15 dışındaki tüm suşlar pH 5'de iyi veya çok iyi bir gelişme göstermiştir (Çizelge 4.3.).

Davis *et al.* (1988) şaraptan izole edilen laktik asit bakterilerinin (81 *L. oenos* (*O. oeni*), 23 *P. parvulus* ve 22 *Lactobacillus* spp.) *L. oenos* (*O. oeni*)'un bir suşu hariç pH 3,4 ile 7,5 arasında geliştiğini, pediokokların ve laktobasillerin 3,4'ün altındaki pH seviyelerine daha az tolerans gösterdiğini, hiçbir pediokok suşunun pH 3,0'de gelişemediğini rapor etmişlerdir. Diğer taraftan *Pediococcus* türlerinin karakterize edildiği bir çalışmada, *P. acidilactici*'nin pH 3,5'un altında ve 50°C'de gelişebildiği ancak *P. pentosaceus*'un pH 4,0'ün altında ve yaklaşık 45°C'de gelişemediği belirlenmiştir (Cai *et al.* 1999). Mevcut araştırmada elde edilen sonuçlar, incelenen suşların fermentasyon koşullarında çoğalabileceği veya canlılığını sürdürebileceğinden teknolojik açıdan önemli mikroorganizmalar olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.3. Laktik asit bakteri suşlarının farklı pH'larda gelişimine ait sonuçlar

Suş	pH4	pH5	pH8	Suş	pH4	pH5	pH8	Suş	pH4	pH5	pH8	Suş	pH4	pH5	pH8
<i>P.pentosaceus</i> K4	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K41	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K76	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K116	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi
<i>P.pentosaceus</i> K5	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K42	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K81	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K117	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi
<i>P.pentosaceus</i> K6	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K44	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K82	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K118	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi
<i>P.pentosaceus</i> K7	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K45	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K83	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K119	İyi	Çok İyi	Çok İyi
<i>P.pentosaceus</i> K8	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K51	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K85	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K120	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi
<i>P.pentosaceus</i> K9	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K52	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K86	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K121	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi
<i>P.pentosaceus</i> K10	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P. acidilactici</i> K53	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K87	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K123	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi
<i>P.pentosaceus</i> K13	Çok iyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K54	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K97	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K124	Çok iyi	Çok İyi	Çok İyi
<i>P.pentosaceus</i> K14	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K55	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K98	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K127	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi
<i>P.pentosaceus</i> K15	Zayıf	Zayıf	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K56	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K99	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K128	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi
<i>P.pentosaceus</i> K21	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K57	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K100	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K129	İyi	Çok İyi	Çok İyi
<i>P.pentosaceus</i> K22	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K58	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K101	İyi	Çok İyi	Çok İyi				
<i>P.pentosaceus</i> K23	Çok iyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K59	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K102	İyi	Çok İyi	Çok İyi				
<i>P.pentosaceus</i> K24	Çok iyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K60	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>L. sakei</i> K103	Zayıf	İyi	Çok İyi				
<i>P.pentosaceus</i> K31	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K61	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K104	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi				
<i>P. acidilactici</i> K32	Çok iyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K62	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K105	İyi	Çok İyi	Çok İyi				
<i>P. acidilactici</i> K33	Çok iyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K63	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K106	İyi	Çok İyi	Çok İyi				
<i>P.pentosaceus</i> K34	İyi	Çok İyi	İyi	<i>P.acidilactici</i> K64	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K107	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi				
<i>P.pentosaceus</i> K35	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K66B	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K110	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi				
<i>P.pentosaceus</i> K37	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K67	İyi	Çok İyi	İyi	<i>P.pentosaceus</i> K112	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi				
<i>P.pentosaceus</i> K38	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>L.plantarum</i> K73	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K113	İyi	Çok İyi	Çok İyi				
<i>P.pentosaceus</i> K39	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K74	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K114	İyi	Çok İyi	Çok İyi				
<i>P.pentosaceus</i> K40	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K75	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K115	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi				

Zayıf≤1,0 İyi=1,1-1,5 Çok İyi≥1,5 (Absorbans)

4.4. Farklı sıcaklıklarda gelişme

Sıcaklık, hem fermentasyon ve hem de mikroorganizmanın metabolik fonksiyonları açısından önemli bir parametredir. Laktik asit bakterileri geniş bir sıcaklık aralığında gelişebilmektedir (Axelsson 1998; Kaya ve Kaban 2010a). Genellikle termofil ve mezofil özellik gösteren laktik asit bakterilerinin gelişme sıcaklıkları 10-45°C arasında değişmektedir (Evren vd 2011).

Laktik asit bakterilerinin farklı sıcaklık optimumları teknolojik açıdan önem arz etmektedir. *Pediococcus acidilactici* 40°C'nin üzerinde, *P. pentosaceus* ve *L. plantarum* 30-35°C'de daha iyi gelişirken, *L. sakei* ve *L. curvatus*'un 20-22°C gibi daha düşük sıcaklıklarda gelişebildiği bildirilmektedir (Lücke and Hechelmann 1987). Geniş bir sıcaklık aralığında gelişebilme özelliğine sahip pediokoklar gıda mikrobiyolojisi açısından önemli mikroorganizmalardır (Turantaş 1999; Ayhan 2000). Pediokokların optimum gelişme sıcaklıkları 35°C olup pastörizasyon sıcaklığında canlılıklarını sürdürebilmektedir (Özlu 2015). Araştırmada laktik asit bakteri suşlarının 4°C, 15°C, 25°C ve 45°C'de canlılık gösterdiği ancak bu sıcaklıklar içerisinde en iyi gelişimin 25°C de gerçekleştiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.4). İncelenen tüm suşlar arasında 4°C'de *P. pentosaceus*'un 4 suşu (K4, K7, K51 ve K55) sadece çok iyi bir gelişme, 15°C'de ise *P. pentosaceus*'un 4 suşu (K67, K82, K121 ve K124) ve *P. acidilactici*'nin 6 suşu (K60, K63, K64, K83, K98 ve K119) hariç diğer tüm suşlar çok iyi bir gelişme göstermiştir. Tüm suşlar 25°C'de çok iyi gelişirken 45°C'lik sıcaklık uygulamasında suşa bağlı olarak farklılıklar gözlenmiştir. 45°C'lik sıcaklıkta 15 *P. acidilactici* suşundan yalnızca bir suş iyi gelişme, diğer 14 suş ise çok iyi gelişme göstermiştir (Çizelge 4.4). Bu sonuçlara göre 4°C, 15°C ve 45°C'lik sıcaklıklarda suşa göre farklılıklar söz konusu olmakla birlikte, 25°C'de tüm suşlar çok iyi bir gelişme göstermektedir.

Carafa *et al.* (2015) baskın türlerin *Pediococcus pentosaceus* ve *Lactobacillus paracasei* olduğu 70 biyotipin 56'sının 15°C'de, 14'ünün 45°C'de geliştiğini, *L. rhamnosus*'un ise her iki sıcaklıkta gelişebildiğini belirlemiştir. Papamanoli *et al.* (2003) iki doğal

fermente kuru sosisin dört farklı olgunlaşma aşamasından izole ettikleri 147 laktik asit bakteri izolatının teknolojik özelliklerini inceledikleri çalışmada, laktik asit bakterileri izolatlarının tümünün ((*Lactobacillus sakei* (49 izolat), *Lactobacillus curvatus* (24 izolat) ve *Lactobacillus plantarum* (7 izolat)) 15°C'de geliştiğini bildirmişlerdir. Drosinos *et al.* (2005) geleneksel Yunan tipi bir fermente sosisten izole ettikleri *Lactobacillus plantarum* suşlarının tümünün 15°C ve 37°C de gelişim gösterdiğini, 45°C'de ise suşların ancak %32,72'sinin bu özelliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir. Mevcut bu araştırmada elde edilen sonuçlara göre incelenen dört türe ait suşların tümünün fermente sosis üretim koşullarında kolaylıkla çoğalabileceğini göstermektedir. Ayrıca bu sıcaklık aralıklarında çoğalabilmelerinin parça halde işlenen kurutulmuş çiğ et ürünü üretim prosesleri için de uygun olacağı düşünülmektedir. Diğer taraftan bazı suşların 4°C gibi düşük sıcaklıklarda gelişmesi, bu suşların pastırma gibi et ürünlerinin kütleme aşamasında da etkin olabileceğini göstermektedir.

Çizelge 4.4. Laktik asit bakteri suşlarının farklı sıcaklıklarda gelişimine ait sonuçlar

Suş	4°C	15°C	25°C	45°C	Suş	4°C	15°C	25°C	45°C	Suş	4°C	15°C	25°C	45°C	Suş	4°C	15°C	25°C	45°C
<i>P.pentosaceus</i> K4	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K41	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K76	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K116	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	İyi
<i>P.pentosaceus</i> K5	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K42	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K81	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K117	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi
<i>P.pentosaceus</i> K6	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K44	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K82	Zayıf	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K118	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi
<i>P.pentosaceus</i> K7	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K45	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K83	Zayıf	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K119	Zayıf	İyi	Çok İyi	Çok İyi
<i>P.pentosaceus</i> K8	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K51	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K85	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K120	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi
<i>P.pentosaceus</i> K9	İyi	Çok İyi	Çok İyi	İyi	<i>P.pentosaceus</i> K52	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K86	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K121	Zayıf	İyi	Çok İyi	Çok İyi
<i>P.pentosaceus</i> K10	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P. acidilactici</i> K53	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K87	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	İyi	<i>P.pentosaceus</i> K123	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	İyi
<i>P.pentosaceus</i> K13	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K54	İyi	Çok İyi	Çok İyi	İyi	<i>P.pentosaceus</i> K97	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	İyi	<i>P.pentosaceus</i> K124	Zayıf	İyi	Çok İyi	Çok İyi
<i>P.pentosaceus</i> K14	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K55	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K98	Zayıf	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K127	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	İyi
<i>P.pentosaceus</i> K15	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Zayıf	<i>P.pentosaceus</i> K56	İyi	Çok İyi	Çok İyi	İyi	<i>P.acidilactici</i> K99	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K128	İyi	Çok İyi	Çok İyi	İyi
<i>P.pentosaceus</i> K21	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K57	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K100	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	İyi	<i>P.pentosaceus</i> K129	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	İyi
<i>P.pentosaceus</i> K22	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K58	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K101	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	İyi					
<i>P.pentosaceus</i> K23	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K59	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K102	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	İyi					
<i>P.pentosaceus</i> K24	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K60	Zayıf	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>L. sakei</i> K103	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi					
<i>P.pentosaceus</i> K31	İyi	Çok İyi	Çok İyi	İyi	<i>P.pentosaceus</i> K61	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K104	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi					
<i>P. acidilactici</i> K32	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K62	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K105	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	İyi					
<i>P. acidilactici</i> K33	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K63	Zayıf	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K106	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi					
<i>P.pentosaceus</i> K34	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.acidilactici</i> K64	Zayıf	İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K107	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	İyi					
<i>P.pentosaceus</i> K35	İyi	Çok İyi	Çok İyi	İyi	<i>P.pentosaceus</i> K66B	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K110	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	İyi					

Zayıf≤1,0 İyi=1,1-1,5 Çok İyi≥1,5

Çizelge 4.4. (devam)

Suş	4°C	15°C	25°C	45°C	Suş	4°C	15°C	25°C	45°C	Suş	4°C	15°C	25°C	45°C
<i>P.pentosaceus</i> K37	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K67	Zayıf	Zayıf	Çok İyi	Zayıf	<i>P.pentosaceus</i> K112	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	İyi
<i>P.pentosaceus</i> K38	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>L.plantarum</i> K73	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K113	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	İyi
<i>P.pentosaceus</i> K39	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K74	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K114	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	İyi
<i>P.pentosaceus</i> K40	İyi	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K75	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	Çok İyi	<i>P.pentosaceus</i> K115	Zayıf	Çok İyi	Çok İyi	İyi

Zayıf≤1,0 İyi=1,1-1,5 Çok İyi≥1,5 (Absorbans)

4.5. Termotolerant kapasite

Laktik asit bakterileri, fermente et ürünlerinde starter kültür olarak kullanılabilirdiği gibi bu mikroorganizmalardan koruyucu kültür olarak da yararlanılmaktadır. Bu bakteriler probiyotik özelliklerinden dolayı fonksiyonel et ürünlerinin üretiminde de kullanılabilir (Kaya ve Kaban 2010a). Diğer taraftan ısı işlem görmüş sucuk gibi fermentasyondan sonra ısı işleme tabi tutulan yarı-kuru fermente sosislerde kullanılan suşların ısı işlem koşullarına dayanıklılığı da önemli bir husus olarak ortaya çıkmaktadır. Isıl işlemde sonra yüksek oranda canlı kalan suşlar, son ürüne kadar taşınabilmektedir (Oz and Kaya 2019). Bunun yanı sıra laktik asit bakterilerinin ısı işlemde sonra canlı kalabilmesinin, pişirilmiş ürünlerin raf ömrünü uzatmak için bir alternatif olabileceği (Victoria-León *et al.* 2006) ve hatta termotolerant laktik asit bakteri suşlarının pişirilmiş et ürünlerinde mikrobiyal güvenliği arttırmak amacıyla biyokoruyucu kültür olarak kullanılabilirdiği de belirtilmektedir (Pérez-Chabela *et al.* 2013).

Mevcut araştırmada, izole edilen laktik asit bakterilerinin her biri termotolerant kapasitesi açısından incelenmiş ve MRS agar plaklarına yapılan ekim sonucunda canlı hücre sayısı $<2 \log \text{ kob/mL}$ olarak belirlenmiştir. Bu sonuca göre suşlar “termotolerant” karakter göstermemektedir.

Laktik asit bakterilerinin termotolerant kapasitesi genellikle pişirilmiş et ürünlerinde çalışılmıştır (Pérez-Chabela *et al.* 2008; Ramírez- Chavarín *et al.* 2010; Ramirez-Chavarin *et al.* 2013; Hernández-Alcántara *et al.* 2018). Kuru kür edilmiş et ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin termotolerant kapasitesinin belirlenmesine yönelik olarak literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Pişirilmiş sosislerden izole edilen laktik asit bakteri suşlarının termotolerant kapasitesinin incelendiği bir çalışmada, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Pediococcus acidilacti* suşlarının 60 dakika boyunca 70°C'de ısı işleme maruz bırakıldıktan sonra canlı kaldığı tespit edilmiştir (Pérez-Chabela *et al.* 2008). Ramírez- Chavarín *et al.* (2010) ise piyasadan temin edilen

pişirilmiş sosislerden izole edilen laktik asit bakteri suşlarından 22'sinin termotolerant kapasitesi açısından incelemiş ve sadece 10'nun 70°C'de 30 dakika ısı işlem sonunda canlılığını sürdürdüğünü ve bu suşların *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Aerococcus* ve *Enterococcus* cinslerine ait olduğunu bildirmişlerdir.

4.6. Biyofilm oluşum kapasitesi

Laktik asit bakterilerinin biyofilm oluşturma yeteneği hem gıda işleme teknolojisi hem de probiyotik olarak kullanımları açısından önemli bir özelliktir (Kubota *et al.* 2008). Bakteriler çevresel streslere karşı biyofilm oluşumu gibi çeşitli direnç mekanizmaları geliştirmektedir. Gıda endüstrisinde, biyofilm oluşumu bozucu veya patojen mikroorganizmaların gıda veya gıda yüzeylerine muhtemel bağlanmasından dolayı hijyen ve güvenlik açısından arzu edilmeyen bir özelliktir. Bazı araştırmacılar biyofilm oluşumunu olumsuz bir özellik olarak kabul ederken bazı gıda sistemlerinde, starter kültürlerin kolonizasyonu, patojen veya bozucu bakterilerin kolonizasyonunun engellenmesi için arzu edilebilmektedir (Leriche and Carpentier, 2000). Biyofilmler veya ağız boşluğu ve solunum yolundaki yapışık yapısal mikrobiyal topluluklar iyi karakterize edilmiş ve solunum yolu enfeksiyonları, diş çürüğü ve periodontitis ile ilişkilendirilmiştir. Diğer taraftan yararlı laktobasilleri içeren gastrointestinal sistemin biyofilm benzeri toplulukları koruyucu bir rol oynayabilmektedir (Aoudia *et al.* 2016). Mevcut bu çalışmada biyofilm oluşum yetenekleri incelenen suşlardan sadece 3 suş (*P. pentosaceus* K15, *P. pentosaceus* K55 suşu ve *L. sakei* K103) pozitif özellik göstermiştir. Landeta *et al.* (2013) İspanya kuru kür edilmiş sosislerinden izole edilen laktik asit bakterileri üzerinde yürüttükleri çalışmalarında sadece *Lactobacillus sakei* suşlarının (%43) biyofilm oluşturduğunu bildirmişlerdir. Buna karşın Sadishkumar and Jeevaratnam (2017) Idli hamurundan izole edilen 8 laktik asit bakteri suşunun da biyofilm oluşturduğunu rapor etmişlerdir. Diğer bir çalışmada ise soğan kaynaklı laktik asit bakteri suşlarının önemli bir kısmının biyofilm oluşturduğu ancak oluşan biyofilm miktarının suştan suşa değiştiği bildirilmiştir (Kubota *et al.* 2008).

4.7. Antibiyotik hassasiyeti

Yüksek potansiyele sahip probiyotik türlerin seçiminde, bağırsak hücre hatlarına adhezyon, antimikrobiyal aktivite, patojen tutunma inhibisyonu ve immünomodülasyon potansiyeline ek olarak antibiyotik direnci gibi güvenlik ve fonksiyonellik özellikleri de oldukça önemlidir (Maragkoudakis *et al.* 2006). Laktik asit bakterileri GRAS statüsüne sahip olmasına rağmen suşların antibiyotik direnci ve zararlı metabolitlerin üretimi açısından dikkatli bir şekilde incelenmesi gerekmektedir (Rzepakowska *et al.* 2017). Antibiyotik direnci, probiyotik bakterilerde istenen bir özellik değildir. Probiyotik bakteriler bağırsak patojenlerine genetik direnç elementlerini transfer edebilmektedir (Son *et al.* 2017).

Mevcut çalışmada suşların antibiyotik direnci Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından belirtilen kriterler [penisilin (R(direnç) \leq 14; S(hassasiyet) \geq 15), ampisilin (R \leq 16; S \geq 17), vankomisin (R \leq 14; S \geq 17; I=15-16), tetrasiklin (R \leq 14; S \geq 19; I=15-18) ve eritromisin (R \leq 13; S \geq 23; I=14-22) dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Neticede incelenen suşların çoğunun vankomisin (VA30), kanamisin (K30), gentamisin (CN10) ve streptomisine (S10) karşı dirençli olduğu belirlenmiştir. Ampisilin (AMP10), penisilin G ve klindamisine (DA2) karşı ise tüm suşlar hassasiyet göstermiştir. Tetrasikline (Te30) karşı dokuz suşun (K4, K5, K14, K64, K102, K107, K115, K124, K129) orta derecede hassas, bir suşun (K9) dirençli ve diğer suşların hassas olduğu belirlenmiştir. Sefalotine (KF30) ise iki suşun (K22, K66B) dirençli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.5).

Yapılan bir çalışmada süt kaynaklı yirmi dokuz *Lactobacillus* suşunun çoğu vankomisine direnç gösterirken, tetrasikline hassasiyet göstermiştir (Maragkoudakis *et al.* 2006). Arici *et al.* (2017) hardaliyede baskın laktik asit bakteri türlerini belirlemiş ve penisiline karşı izolatların %38'inin direnç, %38'inin orta hassasiyet ve %24'ünün hassasiyet gösterdiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca suşların kanamisin ve streptomisine karşı dirence sahip olduğunu da belirtmişlerdir. Lee *et al.* (2016) tarafından yapılan araştırmada ise Kimchi'den izole edilen 3 *Leuconostoc mesenteroides* ve 1

Lactobacillus plantarum suşu üzerinde çalışılmış ve tüm suşların ampisilin, kloramfenikol, sikloheksamid, eritromisin, neomisin, streptomisin, tetrasiklin ve rifampisin'e karşı hassas, vankomisine karşı ise dirençli olduğu rapor edilmiştir. Rzepkowska *et al.* (2017) ise Polonya çiğ fermente et ürünlerinden izole ettikleri *Lactobacillus* ve *Pediococcus* cinslerine ait suşların çoğunun gentamisin, streptomisin, vankomisin, tetrasiklin ve kanamisinine karşı direnç gösterdiğini bildirmişlerdir. Yuksekdag and Aslim (2010) 5 *Pediococcus* spp. suşunun amoksisilin, gentamisin ve vankomisine dirençli olduğunu, Gotcheva *et al.* (2002) ise vankomisin direncinin çoğu laktik asit bakterilerinin kendine özgü bir özelliği olduğunu bildirmişlerdir.



Çizelge 4.5. Laktik asit bakteri suşlarının antibiyotiklere karşı inhibisyon zonu (mm)

Kod	Ampicillin (AMP 10)	Penicillin G	Vancomycin (VA 30)	Kanamycin (K30)	Gentamicin (CN10)	Tetracycline (Te 30)	Erythromycin (E 15)	Clindamycin (DA 2)	Streptomycin (S 10)	Cephalotin (KF 30)
K4	20	25	0	0	10	18	25	27	0	22
K5	20	25	0	0	8	18	26	31	0	26
K6	24	24	0	0	0	22	28	31	0	24
K7	20	24	0	0	8	19	26	27	0	24
K8	21	26	0	0	8	20	26	30	0	24
K9	21	26	0	0	0	7	7,4	7,6	0	7
K10	20	26	0	0	0	22	26	30	0	24
K13	23	26	0	0	0	22	26	27	0	24
K14	22	24	0	0	8	15	26	28	0	24
K15	30	31	21	16	15	23	34	36	8	26
K21	22	26	0	0	0	25	28	31	0	24
K22	20	26	0	0	8	22	27	30	0	0
K23	24	26	0	0	12	23	28	31	0	26
K24	22	19	0	0	8	24	28	32	0	27
K31	23	30	0	0	0	24	28	33	0	26
K32	22	28	0	0	0	24	28	31	0	26
K33	24	27	0	0	0	26	31	30	0	25
K34	22	28	0	0	0	21	29	33	0	25
K35	22	25	0	0	0	22	29	33	0	24
K37	18	23	0	0	0	20	26	29	0	23
K38	23	28	0	0	0	25	30	27	0	23
K39	22	24	0	0	8	22	29	22	0	24
K40	22	26	0	0	0	21	27	29	0	24
K41	21	26	0	0	7	23	26	27	0	24
K42	20	26	0	0	0	25	28	32	0	26
K44	21	26	0	0	0	20	26	28	0	26
K45	22	26	0	0	9	22	26	28	0	26
K51	24	28	0	0	8	25	28	31	0	27
K52	23	28	0	0	0	25	27	33	0	26
K53	22	26	0	0	8	24	26	30	0	26
K54	24	29	0	0	0	25	29	35	0	26
K55	23	26	0	0	8	23	27	16	0	27
K56	24	26	0	0	0	22	26	32	0	28
K57	22	28	0	0	8	22	26	32	0	26
K58	18	24	0	0	8	20	23	28	0	24
K59	20	25	0	0	0	22	24	30	0	23

Çizelge 4.5. (Devamı)

Kod	Ampicillin (AMP 10)	Penicillin G	Vancomycin (VA 30)	Kanamycin (K30)	Gentamicin (CN10)	Tetracycline (Te 30)	Erytromycin (E 15)	Clindamycin (DA 2)	Streptomycin (S 10)	Cephalotin (KF 30)
K60	22	24	0	0	0	21	26	26	0	24
K61	21	25	0	0	0	20	24	27	0	24
K62	21	25	0	0	7	20	25	28	0	24
K63	19	24	0	0	7	20	24	28	0	25
K64	19	26	0	0	8	17	23	26	0	23
K66B	24	28	0	0	8	24	30	14	0	0
K67	23	27	0	0	12	23	26	15	0	26
K73	41	27	0	0	8	25	29	16	0	24
K74	23	28	0	0	0	23	26	28	0	24
K75	22	29	0	0	0	20	29	31	0	24
K76	22	25	0	0	0	20	27	32	0	25
K81	20	25	0	0	7	19	25	30	0	26
K82	21	24	0	0	8	19	25	29	0	24
K83	20	26	0	0	0	22	28	32	0	24
K85	19	24	0	0	7	23	27	30	0	23
K86	20	23	0	0	0	24	30	31	0	24
K87	20	25	0	0	0	24	30	29	0	24
K97	22	24	0	0	8	20	27	31	0	24
K98	23	23	0	0	8	24	28	33	0	22
K99	20	23	0	0	0	20	25	26	0	23
K100	20	24	0	0	8	19	26	29	0	23
K101	23	25	0	0	7	23	28	30	0	25
K102	23	26	0	0	8	18	24	28	0	24
K103	20	27	0	0	0	21	26	32	0	24
K104	19	26	0	0	0	21	28	29	0	24
K105	20	26	0	0	0	21	26	27	0	22
K106	20	25	0	0	0	19	26	28	0	26
K107	22	26	0	0	0	18	26	28	0	23
K110	18	23	0	0	8	24	28	31	0	24
K112	21	24	0	0	11	23	27	30	0	24
K113	31	24	0	0	9	19	28	31	0	23
K114	22	26	0	0	8	21	28	31	0	26
K115	22	24	0	0	9	18	26	31	0	24
K116	20	24	0	0	11	20	28	30	0	25
K117	20	27	0	0	0	24	29	30	0	25
K118	22	26	0	0	11	20	27	30	0	25



Çizelge 4.5. (Devamı)

Kod	Ampicillin (AMP 10)	Penicillin G	Vancomycin (VA 30)	Kanamycin (K30)	Gentamicin (CN10)	Tetracycline (Te 30)	Erytromycin (E 15)	Clindamycin (DA 2)	Streptomycin (S 10)	Cephalotin (KF 30)
K119	20	28	0	0	0	21	26	28	0	28
K120	18	23	0	0	8	21	29	31	0	26
K121	22	26	0	0	8	19	26	29	0	23
K123	21	26	0	0	0	21	29	31	0	24
K124	20	25	0	0	0	18	28	29	0	22
K127	22	25	0	0	11	22	27	31	0	25
K128	22	27	0	0	0	20	26	31	0	25
K129	18	23	0	0	0	18	27	32	0	26

4.8. Safra Tuzuna Direnç

Safra tuzu bağırsak savunma mekanizmasında spesifik ve spesifik olmayan temel bir rol oynamakta ve inhibitör etkisinin büyüklüğü konsantrasyona bağlılık göstermektedir. Bu da suşların canlı kalmalarını, çoğalmalarını ve gastrointestinal geçişte metabolik faaliyetlerini gerçekleştirmelerini sağlamaktadır (Argyri *et al.* 2013). Çizelge 4.6'da laktik asit bakteri suşlarının safra tuzuna karşı gösterdikleri dirence ait sonuçlar verilmiştir. Suşların %0,3, 0,5 ve 1,0 safra tuzunda gelişim gösterdikleri ancak artan tuz oranıyla birlikte gelişimin azaldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.6). Çizelgeden de görüldüğü gibi *L. sakei* K103 suşu 25°C'de safra tuzu seviyesi arttıkça daha düşük bir gelişme yüzdesi göstermiştir. Benzer durum 37°C'de de belirlenmiş ancak daha yüksek gelişim yüzdeleri ile karşılaşılmıştır. *L. plantarum* K73 suşuna ait verilerden de görüleceği üzere bu suşta da hem 25°C'de hem de 37°C'de safra tuzu seviyesine bağlı bir azalış kaydedilmiştir (Çizelge 4.6).

P. acidilactici suşları ise %0,3 safra tuzu seviyesinde 25°C'de %82-100, 37°C'de ise %85-96 arasında değişen gelişim yüzdeleri vermiştir. Bu suşlar tuz seviyesi arttıkça özellikle de 25°C'de olmak üzere gelişim yüzdesi düşmüştür. *P. pentosaceus* suşlarında ise %0,3 safra tuzu seviyesinde 25°C'de %77-100, 37°C'de ise %81-100 arasında değişen gelişim yüzdeleri vermiştir. Sıcaklıklar karşılaştırıldığında 37°C'de özellikle de %1 safra tuzu seviyesinde 25°C'ye göre genellikle daha yüksek değerler gözlemlenmiştir (Çizelge 4.6.). Bu sonuçlara göre her iki sıcaklık derecesinde de safra tuzu seviyesi arttıkça gelişim yüzdesi azalmaktadır. Bununla birlikte %1 safra tuzu seviyesinde 25°C'de, 37°C'ye göre daha fazla düşüş kaydedilmiştir.

Erkkilä and Petäjä (2000) et starter kültür olarak kullanılan laktik asit bakteri suşlarını gastrointestinal kanaldakilere benzer koşullar altında canlı kalma kapasitesini inceledikleri çalışmada, *Lactobacillus sakei* (RM10) ve *Pediococcus acidilactici* (P2) suşlarının daha yüksek safra tuzu konsantrasyonunda (%0,15-0,30) en iyi canlılık kapasitesine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Maragkoudakis *et al.* (2006) süt kaynaklı 29 *Lactobacillus* suşunun probiyotik potansiyellerini inceledikleri çalışmada

suşların tamamının safra tuzu varlığında (%0,3 safra tuzu varlığında 0-4 saat) canlı kaldığını belirlemiştir. Doğal fermente edilmiş zeytinlerden izole edilen laktik asit bakterilerinin genellikle safra tuzlarına (%0,5) 4 saat maruz kaldıktan sonra bile direnç gösterdiği bildirilmiştir (Argyri *et al.* 2013). García-Ruiz *et al.* (2014) *Pediococcus* suşlarının safra tuzunda (%0,06, %0,125, %0,25, %0,5 ve %1) canlı kalabildiğini tespit etmişlerdir. Federici *et al.* (2014) ise fermente sosis kaynaklı laktik asit bakterileri ve laboratuvar koleksiyonuna ait laktik asit bakteri suşlarının, safraya (%0,3 safra tuzuna 4 saat) orta derecede tolerans gösterdiklerini ifade etmişlerdir. Lee *et al.* (2014) ise 3 *Pediococcus pentosaceus* suşunu %0,3 safra tuzuna 2 saat maruz bırakmışlar ve *P. pentosaceus* F66 suşunun *P. pentosaceus* A24'ten ve *P. pentosaceus* D56'dan daha iyi geliştiğini tespit etmişlerdir. Ertekin ve Çon (2011) safra tuzunu (%0,3) *L. plantarum* ve *P. pentosaceus*'un inceledikleri diğer izolatlardan daha fazla tolere ettiğini belirlemiştir. Arici *et al.* (2017) laktik asit bakteri izolatlarının %0,3 safra tuzuna orta derecede tolerans gösterdiğini, %0,5 ve %1 safra tuzu içeren ortamda ise yavaş gelişme gösterdiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar 6 izolatın ise %1 safra tuzunda gelişemediğini saptamışlardır. Sharma *et al.* (2016) ise *Pediococcus acidilactici* KM0 suşunun %2,0'ye kadar safra tuz konsantrasyonuna direnç gösterdiğini rapor etmişlerdir. Konu ile ilgili diğer bir çalışmada ise incelenen suşların yüksek safra tuzu konsantrasyonuna (%0,6) tolerans gösterdikleri bildirilmiştir (Yang *et al.* 2017).

Rzepakowska *et al.* (2017) çiğ fermente et ürünlerinden izole edilen *Lactobacillus* ve *Pediococcus* cinslerine ait 21 suşun safra tuzlarına (%0,3) dirençli olduğunu belirtmişlerdir. Ahmad *et al.* (2018) fermente durian (tempoyak) kaynaklı *Lactobacillus plantarum* suşunun %0,3 safra tuzuna karşı iyi tolerans sergilediğini, Yuksekdağ and Aslim (2010) ise 5 *Pediococcus* spp. suşundan birinin (*P. pentosaceus* Z13P) sırasıyla %0,3 ve %2 safra tuzu konsantrasyonlarında %65 ve %45'lik canlılık değerleri verdiğini rapor etmişlerdir. Papamanoli *et al.* (2003) tarafından yapılan araştırmada da laktik asit bakterilerinin çoğunluğunun %0,1 safra tuzunu tolere ettiği, *Lactobacillus curvatus* ve *Lactobacillus plantarum* suşlarının %58'inin %0,3 safra tuzuna direnç gösterdiği belirlenmiştir. Benzer şekilde Hernández-Alcántara *et al.* (2018) *Pediococcus pentosaceus* suşlarının ve Vidhyasagar and Jeevaratnam (2013) ise idli hamurundan

izole edilen *Pediococcus pentosaceus* suşlarının %0,3 safra tuzu varlığında gelişebildiğini bildirmişlerdir. Buna karşın Ramirez-Chavarin *et al.* (2013) *Pediococcus pentosaceus* ve *Lactobacillus plantarum* suşlarının %0,3'ten daha fazla safra tuzu konsantrasyonlarında geliştiğini rapor etmişlerdir. Mevcut bu araştırmada da sıcaklık arttıkça gelişme yüzdesinin arttığı buna karşın safra tuzu oranı arttıkça gelişmenin azaldığı ortaya konulmuştur.



Çizelge 4.6. Laktik asit bakteri suşlarının safra tuzuna direncine ait sonuçlar (% gelişim)

Suş	25°C			37°C			Suş	25°C			37°C		
	0,3% Safra Tuzu	0,5% Safra Tuzu	1% Safra Tuzu	0,3% Safra Tuzu	0,5% Safra Tuzu	1% Safra Tuzu		0,3% Safra Tuzu	0,5% Safra Tuzu	1% Safra Tuzu	0,3% Safra Tuzu	0,5% Safra Tuzu	1% Safra Tuzu
<i>P.pentosaceus K4</i>	82	80	58	85	82	71	<i>P.pentosaceus K41</i>	85	81	62	88	84	75
<i>P.pentosaceus K5</i>	85	81	61	84	81	70	<i>P.pentosaceus K42</i>	82	79	59	85	83	71
<i>P.pentosaceus K6</i>	82	78	64	90	89	77	<i>P.pentosaceus K44</i>	85	81	64	85	82	77
<i>P.pentosaceus K7</i>	84	81	62	86	84	75	<i>P.pentosaceus K45</i>	84	78	59	89	82	70
<i>P.pentosaceus K8</i>	86	82	62	96	94	82	<i>P.pentosaceus K51</i>	86	82	66	85	83	75
<i>P.pentosaceus K9</i>	82	76	58	91	90	78	<i>P.pentosaceus K52</i>	80	75	59	89	88	77
<i>P.pentosaceus K10</i>	86	82	62	96	93	80	<i>P. acidilactici K53</i>	83	79	60	91	90	80
<i>P.pentosaceus K13</i>	85	82	61	93	91	80	<i>P.pentosaceus K54</i>	81	76	58	88	88	75
<i>P.pentosaceus K14</i>	85	83	61	93	93	79	<i>P.pentosaceus K55</i>	96	95	85	87	85	82
<i>P.pentosaceus K15</i>	88	82	65	91	90	85	<i>P.pentosaceus K56</i>	84	79	60	86	86	74
<i>P.pentosaceus K21</i>	82	76	61	91	90	80	<i>P.acidilactici K57</i>	85	78	61	91	91	81
<i>P.pentosaceus K22</i>	85	83	65	92	91	81	<i>P.acidilactici K58</i>	84	81	64	89	88	76
<i>P.pentosaceus K23</i>	86	77	59	91	90	78	<i>P.acidilactici K59</i>	85	80	62	94	93	81
<i>P.pentosaceus K24</i>	81	78	60	88	88	77	<i>P.acidilactici K60</i>	85	81	62	94	92	84
<i>P.pentosaceus K31</i>	81	76	58	89	87	79	<i>P.pentosaceus K61</i>	78	72	55	81	77	60
<i>P. acidilactici K32</i>	83	80	62	89	89	80	<i>P.acidilactici K62</i>	84	81	63	88	88	82
<i>P. acidilactici K33</i>	83	77	59	91	89	80	<i>P.acidilactici K63</i>	86	75	52	96	93	87
<i>P.pentosaceus K34</i>	80	75	56	90	89	77	<i>P.acidilactici K64</i>	82	74	54	95	94	87
<i>P.pentosaceus K35</i>	80	77	57	91	88	78	<i>P.pentosaceus K66B</i>	96	93	88	84	83	82
<i>P.pentosaceus K37</i>	81	79	57	91	90	79	<i>P.pentosaceus K67</i>	85	81	63	87	81	70
<i>P.pentosaceus K38</i>	82	76	56	91	90	79	<i>L.plantarum K73</i>	94	91	83	90	90	83
<i>P.pentosaceus K39</i>	80	77	58	93	93	81	<i>P.pentosaceus K74</i>	80	77	57	92	93	79
<i>P.pentosaceus K40</i>	80	78	58	94	94	81	<i>P.pentosaceus K75</i>	82	77	61	93	94	80

Çizelge 4.6. (devam)

Suş	25 °C			37 °C			Suş	25 °C			37 °C		
	0,3% Safra Tuzu	0,5% Safra Tuzu	1% Safra Tuzu	0,3% Safra Tuzu	0,5% Safra Tuzu	1% Safra Tuzu		0,3% Safra Tuzu	0,5% Safra Tuzu	1% Safra Tuzu	0,3% Safra Tuzu	0,5% Safra Tuzu	1% Safra Tuzu
<i>P.pentosaceus</i> K76	81	75	58	91	90	78	<i>P.pentosaceus</i> K116	89	82	76	94	85	76
<i>P.pentosaceus</i> K81	84	80	64	86	82	74	<i>P.pentosaceus</i> K117	92	83	76	96	93	79
<i>P.pentosaceus</i> K82	77	74	50	98	93	82	<i>P.pentosaceus</i> K118	90	87	74	100	92	80
<i>P.acidilactici</i> K83	84	78	64	95	93	84	<i>P.acidilactici</i> K119	100	85	83	93	89	85
<i>P.pentosaceus</i> K85	82	78	62	91	89	78	<i>P.pentosaceus</i> K120	86	84	74	100	95	80
<i>P.pentosaceus</i> K86	80	74	58	89	89	77	<i>P.pentosaceus</i> K121	100	82	76	89	86	80
<i>P.pentosaceus</i> K87	80	74	56	89	89	78	<i>P.pentosaceus</i> K123	93	87	76	95	92	82
<i>P.pentosaceus</i> K97	83	77	62	84	83	71	<i>P.pentosaceus</i> K124	96	74	80	91	91	81
<i>P.acidilactici</i> K98	82	72	50	96	94	87	<i>P.pentosaceus</i> K127	92	86	77	94	87	71
<i>P.acidilactici</i> K99	85	81	67	86	85	71	<i>P.pentosaceus</i> K128	86	80	43	100	88	70
<i>P.acidilactici</i> K100	87	83	69	85	81	69	<i>P.pentosaceus</i> K129	90	83	76	98	94	81
<i>P.pentosaceus</i> K101	89	82	67	88	87	74							
<i>P.pentosaceus</i> K102	89	81	69	83	83	70							
<i>L. sakei</i> K103	89	88	77	91	88	82							
<i>P.pentosaceus</i> K104	88	82	62	92	90	82							
<i>P.pentosaceus</i> K105	92	87	76	92	91	78							
<i>P.pentosaceus</i> K106	92	85	76	90	90	79							
<i>P.pentosaceus</i> K107	95	89	80	91	89	77							
<i>P.pentosaceus</i> K110	91	84	74	81	86	76							
<i>P.pentosaceus</i> K112	93	86	77	85	83	65							
<i>P.pentosaceus</i> K113	89	85	74	84	86	68							
<i>P.pentosaceus</i> K114	92	84	75	90	89	75							
<i>P.pentosaceus</i> K115	93	84	76	87	93	75							

4.9. Hücre yüzey hidrofobisitesi

Bağırsak epiteline adhezyon yeteneğinin, laktik asit bakterilerinin en önemli özelliklerinden biri olduğu ve probiyotik suşlarının seçilmesinde ana kriterlerden biri olduğu öne sürülmektedir (Kotzamanidis *et al.* 2010; Gupta and Sharma 2015). Bu yeteneğe ek olarak hidrofobisite, oto-agregasyon kabiliyeti, hücre yüzey-tabakası proteinlerinin varlığı ve ekzopolisakaritlerin üretimi gibi diğer fenotipik özellikler, konakçı immün sisteminin modülasyonunda rol oynamaktadır (Kotzamanidis *et al.* 2010). Hücre yüzeyi hidrofobisitesi, mikrobiyal hücreler ve konakçı arasında spesifik olmayan bir etkileşimdir. İlk etkileşim zayıf olabilmekte, bunu takiben hücre yüzeyi proteinleri ve lipoteikoik asitleri içeren daha spesifik mekanizmaların aracılık ettiği adhezyon süreci görülebilmektedir (Sharma 2015). Hidrofobisite, otoagregasyon ve hücre hattına adhezyon potansiyel korelasyon göstermektedir (Taheur *et al.* 2016).

Laktik asit bakteri suşlarının hücre yüzey hidrofobisitesine ait sonuçlar Çizelge 4.7’de verilmiştir. Buna göre hidrofobisite testi sonucunda en yüksek değerleri *P. pentosaceus* K7 (%16,23-19,70), *P. pentosaceus* K41 (%23,13-20,58), *P. pentosaceus* K44 (%27,13-23,49), *P. pentosaceus* K51 (%17,77-23,43), *P. pentosaceus* K81 (%29,98-14,02) ve *P. acidilactici* K99 (%32,24-40,33) suşları vermiştir. Bu suşların oto-agregasyon ve co-agregasyon yetenekleri de incelenmiştir.

Kotzamanidis *et al.* (2010) gastrointestinal ve Feta peynir kaynaklı 12 laktobasillus suşundan sadece üç suşun hidrofobisite özelliğine sahip olduğunu bildirmiştir. Başka bir çalışmada 26 laktik asit bakteri izolatının hidrofobisite değerlerinin %0 ile 50,82 arasında değiştiği belirlenmiştir (Ertekin ve Çon 2011). Gupta and Sharma (2015) ise *Pediococcus pentosaceus* LB-CC ve *Pediococcus pentosaceus* LB-WC’nin sırasıyla %87,0 ve %88,0 hidrofobisite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Buna karşın diğer bir çalışmada laktik asit bakterileri izolatlarının hidrofobisite değeri %1,01 ile %15,82 arasında değişim göstermiştir (Arici *et al.* 2017).

Sharma *et al.* (2016) da süt ürünü kaynaklı *Pediococcus acidilactici* KM0 suşunun ksilene karşı güçlü hidrofobisite sergilediğini belirtmişlerdir. Konu ile ilgili diğer bir çalışmada ise *P. pentosaceus* FB2, *L. brevis* FF2 ve *P. pentosaceus* FG1 suşlarının sırasıyla n-hekzadekana karşı 72.33 ± 0.61 , 12.15 ± 0.11 , 5.53 ± 0.33 hidrofobisite gösterdiği belirtilmiş ve yüksek hidrofobisitenin hücre yüzeyinde (gliko-) protein varlığı ve hidrofilik yüzeylerin polisakkaritlerin varlığı ile ilişkili olduğu vurgulanmıştır (Taheur *et al.* 2016).



Çizelge 4.7. Laktik asit bakteri suşlarının hücre yüzey hidrofobisitesine ait sonuçlar (% hidrofobisite)

Suş	Hekzadekan	Toluen	Suş	Hekzadekan	Toluen	Suş	Hekzadekan	Toluen	Suş	Hekzadekan	Toluen
<i>P.pentosaceus</i> K4	2,14	0,13	<i>P.pentosaceus</i> K41	23,13	20,58	<i>P.pentosaceus</i> K76	5,63	7,24	<i>P.pentosaceus</i> K116	4,01	15,17
<i>P.pentosaceus</i> K5	1,83	0,92	<i>P.pentosaceus</i> K42	2,69	0,68	<i>P.pentosaceus</i> K81	29,98	14,02	<i>P.pentosaceus</i> K117	3,69	14,82
<i>P.pentosaceus</i> K6	3,76	1,81	<i>P.pentosaceus</i> K44	27,13	23,49	<i>P.pentosaceus</i> K82	9,28	9,99	<i>P.pentosaceus</i> K118	3,45	16,07
<i>P.pentosaceus</i> K7	16,23	19,70	<i>P.pentosaceus</i> K45	7,07	9,26	<i>P.acidilactici</i> K83	8,53	7,17	<i>P.acidilactici</i> K119	3,39	15,09
<i>P.pentosaceus</i> K8	3,48	1,03	<i>P.pentosaceus</i> K51	17,77	23,43	<i>P.pentosaceus</i> K85	10,41	12,46	<i>P.pentosaceus</i> K120	5,98	15,52
<i>P.pentosaceus</i> K9	3,11	1,72	<i>P.pentosaceus</i> K52	5,88	9,49	<i>P.pentosaceus</i> K86	9,77	11,10	<i>P.pentosaceus</i> K121	4,65	7,53
<i>P.pentosaceus</i> K10	1,17	1,37	<i>P. acidilactici</i> K53	5,23	8,71	<i>P.pentosaceus</i> K87	11,00	12,51	<i>P.pentosaceus</i> K123	3,30	7,80
<i>P.pentosaceus</i> K13	0,66	0,72	<i>P.pentosaceus</i> K54	4,13	9,25	<i>P.pentosaceus</i> K97	11,04	14,10	<i>P.pentosaceus</i> K124	2,45	5,96
<i>P.pentosaceus</i> K14	0,70	3,67	<i>P.pentosaceus</i> K55	5,98	0,82	<i>P.acidilactici</i> K98	8,81	13,93	<i>P.pentosaceus</i> K127	2,09	4,41
<i>P.pentosaceus</i> K15	1,13	6,80	<i>P.pentosaceus</i> K56	11,82	1,29	<i>P.acidilactici</i> K99	32,24	40,33	<i>P.pentosaceus</i> K128	2,12	5,96
<i>P.pentosaceus</i> K21	2,93	2,93	<i>P.acidilactici</i> K57	5,67	9,31	<i>P.acidilactici</i> K100	10,33	13,58	<i>P.pentosaceus</i> K129	2,92	7,10
<i>P.pentosaceus</i> K22	2,25	3,05	<i>P.acidilactici</i> K58	5,50	8,60	<i>P.pentosaceus</i> K101	11,02	13,29			
<i>P.pentosaceus</i> K23	2,96	4,87	<i>P.acidilactici</i> K59	6,38	7,26	<i>P.pentosaceus</i> K102	7,41	6,71			
<i>P.pentosaceus</i> K24	1,56	2,81	<i>P.acidilactici</i> K60	5,56	7,55	<i>L. sakei</i> K103	7,85	7,05			
<i>P.pentosaceus</i> K31	1,50	3,53	<i>P.pentosaceus</i> K61	23,20	21,61	<i>P.pentosaceus</i> K104	7,39	5,39			
<i>P. acidilactici</i> K32	13,55	6,57	<i>P.acidilactici</i> K62	6,28	7,00	<i>P.pentosaceus</i> K105	3,33	4,96			
<i>P. acidilactici</i> K33	0,23	2,50	<i>P.acidilactici</i> K63	5,86	7,41	<i>P.pentosaceus</i> K106	7,81	4,51			
<i>P.pentosaceus</i> K34	2,75	4,25	<i>P.acidilactici</i> K64	6,76	7,56	<i>P.pentosaceus</i> K107	6,95	4,57			
<i>P.pentosaceus</i> K35	1,59	5,42	<i>P.pentosaceus</i> K66B	7,66	7,11	<i>P.pentosaceus</i> K110	4,56	5,22			
<i>P.pentosaceus</i> K37	4,47	3,27	<i>P.pentosaceus</i> K67	6,36	6,45	<i>P.pentosaceus</i> K112	4,38	14,34			
<i>P.pentosaceus</i> K38	8,42	3,54	<i>L.plantarum</i> K73	4,72	6,42	<i>P.pentosaceus</i> K113	17,86	18,55			
<i>P.pentosaceus</i> K39	5,44	3,60	<i>P.pentosaceus</i> K74	5,66	6,66	<i>P.pentosaceus</i> K114	3,82	15,35			
<i>P.pentosaceus</i> K40	6,74	4,14	<i>P.pentosaceus</i> K75	5,53	7,35	<i>P.pentosaceus</i> K115	4,42	15,14			

4.10. Yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişme

Tuz, gıdaların muhafazasında kullanılan önemli ingrediyeentlerden biridir. Tuz, fermente sosislere %2-3 oranında ilave edilmektedir. Tuz ilavesi sonucu su aktivitesi düşmekte ve böylelikle bozulmaya neden olan mikroorganizmalar ile patojenlerin gelişimi sınırlanmakta veya inhibe edilmektedir. Diğer taraftan parça halde işlenen kuru kür edilmiş et ürünlerinde tuz oranı %3 ile %5 arasında değişmekle birlikte geleneksel üretimde %8 ve hatta %10'a kadar tuz oranı ile karşılaşmaktadır (Kaya ve Kaban 2010b; Kaban 2009). Bundan dolayı bu ürünlerde kullanılacak starter kültürlerin tuza toleransı önemli bir faktör olarak ortaya çıkmaktadır. Benzer şekilde probiyotik potansiyele sahip suşların seçilmesinde de pH ve safra tuzuna dayanıklılığın yanı sıra tuz toleransı da kriter olarak değerlendirilmektedir (Vanniyasingam *et al.* 2019).

Mevcut çalışmada yukarıda incelenen özellikler doğrultusunda probiyotik karakter gösterebilme özelliği olan 6 suş tuz tolerans testine tabi tutulmuştur. Çizelge 4.8'de verilen sonuçlardan da görüldüğü üzere %10 ve %15 tuz konsantrasyonlarında tüm suşların gelişemediği tespit edilmiştir. Tuz oranının %7'ye düşürülmesi durumunda ise suşlar zayıf bir gelişme göstermiştir (Çizelge 4.8.). Bu durum özellikle geleneksel yöntem ile üretilen parça halde işlenen kuru kür edilmiş et ürünlerinde bu suşların gelişemeyeceğini göstermektedir. Buna karşın Yang *et al.* (2017) üç probiyotik adayı laktik asit bakteri suşunun %6,5'lik NaCl konsantrasyonunu tolere edebildiğini, Carafa *et al.* (2015) ise inceledikleri suşların tümünün 30°C'de ve %8'lik NaCl varlığında çoğalabildiğini rapor etmişlerdir.

Çizelge 4.8. Seçilen laktik asit bakteri suşlarının tuz toleransı

Suş	7% Tuz	10% Tuz	15% Tuz
<i>P. pentosaceus</i> K7	Zayıf	Gelişme Yok	Gelişme Yok
<i>P. pentosaceus</i> K41	Zayıf	Gelişme Yok	Gelişme Yok
<i>P. pentosaceus</i> K44	Zayıf	Gelişme Yok	Gelişme Yok
<i>P. pentosaceus</i> K51	Zayıf	Gelişme Yok	Gelişme Yok
<i>P. pentosaceus</i> K81	Zayıf	Gelişme Yok	Gelişme Yok
<i>P. acidilactici</i> K99	Zayıf	Gelişme Yok	Gelişme Yok

Zayıf: $\leq 1,0$ (Absorbans); Gelişme Yok

4.11. Düşük pH değerine direnç

Verimli probiyotik suş seçiminde aside ve safraya tolerans ile bağırsak yüzeylerine yapışma özelliği önemli faktörlerdir (Perez-Sanchez *et al.* 2011; Monteagudo-Mera *et al.* 2012). Midede yüksek asitlik ve bağırsakta safra bileşenlerinin yüksek konsantrasyonu, suş seçimini etkileyen ilk konakçı faktörleridir (Hyronimus *et al.* 2000). Bakterilerin mide suyunda canlı kalması, düşük pH'yı tolere etme yeteneklerine bağlıdır (Erkkilä ve Petäjä 2000). Seçilen suşların pH 2 ve pH 3'e karşı dirençleri üç saat süre ile izlenmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.11'de verilmiştir. Buna göre pH 2'de süre ilerledikçe sayı azalmakta ve 3 saatin sonunda sayıda 3-5 logaritmik birim arasında değişen bir azalma gerçekleşmektedir. Buna karşın pH 3'de suşların tümü inokülasyon seviyesinde kalmaktadır. Diğer bir ifade ile hücre sayısında önemli bir değişim olmamaktadır. Bu sonuçlara göre seçilen suşların tümü bu özellik açısından probiyotik suş adayı olarak değerlendirilebilir.

Erkkilä and Petäjä (2000) et endüstrisinde starter kültür olarak kullanılan 8 laktik asit bakteri suşunun gastrointestinal kanalda canlı kalma potansiyelini inceledikleri araştırmalarında *Lactobacillus sakei* (RM10) ve *Pediococcus acidilactici* (P2) suşlarının asidik koşullar altında diğer suşlara oranla en iyi sonuçları verdiğini bildirmişlerdir. Maragkoudakis *et al.* (2006) süt kaynaklı 29 *Lactobacillus* suşunun pH 3'te canlı kaldığını rapor etmişlerdir. Argyri *et al.* (2013) de fermente zeytin kaynaklı 4 *L. plantarum* suşunun pH 2,5'da 3 saatin sonunda canlılığını koruduğunu tespit etmişlerdir. García-Ruiz *et al.* (2014) tarafından yapılan çalışmada ise pH 1,8 değerinde *Pediococcus* suşlarının canlı kalabildiği ileri sürülmüştür. Başka bir çalışmada da üç adet *Pediococcus pentosaceus* suşu pH'ya direnç açısından incelenmiş (2 saat süre ile pH 3,0) ve *P. pentosaceus* F66 suşunun en yüksek canlılık oranını verdiği ve bu suşu *P. pentosaceus* D56 ile *P. pentosaceus* A24 suşlarının izlediği rapor edilmiştir (Lee *et al.* 2014). Arici *et al.* (2017) inceledikleri laktik asit bakterileri suşlarının pH 1'de 180 dakikalık inkübasyondan sonra canlılıklarını koruyamadığını, pH 3'te ise canlılık oranının %37,39 ile %90 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Sharma *et al.* (2016) ise süt ürünü kaynaklı *Pediococcus acidilactici* KM0'nin pH 1'de dahi yüksek asitliğe

tolerans gösterdiğini ileri sürmüşlerdir. Yang *et al.* (2017) ise üç probiyotik adayı laktik asit bakteri suşun pH 3'e tolerans gösterdiğini rapor etmişlerdir. Benzer sonuçlar Rzepkowska *et al.* (2017) ve Yuksekdag ve Aslim (2010) tarafından da rapor edilmiştir. Ancak Ramirez-Chavarin *et al.* (2013) pişirilmiş et ürünlerinden izole ettikleri 10 termotolerant laktik asit bakterisinin sadece %50'sinin düşük pH'yı (0,5, 1, 2, 3, 4 ve 5 pH) tolere edemediğini belirtmişlerdir. Mevcut araştırmada elde edilen sonuçlar literatür verileri ile uyumluluk göstermektedir.

Çizelge 4.9. Laktik asit bakteri suşlarının düşük pH değerlerine direnci (log kob/mL)

Suş	pH 2				pH 3			
	0.saat	1.saat	2.saat	3.saat	0.saat	1.saat	2.saat	3.saat
<i>P. pentosaceus K7</i>	9,78	7,34	9,00	6,49	9,83	9,82	9,66	9,77
<i>P. pentosaceus K41</i>	9,75	8,36	8,09	5,43	9,01	9,79	9,86	9,82
<i>P. pentosaceus K44</i>	9,62	6,83	7,12	4,62	9,82	9,87	9,97	9,79
<i>P. pentosaceus K51</i>	9,74	6,36	7,07	4,79	9,79	9,81	9,71	9,75
<i>P. pentosaceus K81</i>	9,53	8,27	6,19	4,68	9,95	9,81	9,82	9,67
<i>P. acidilactici K99</i>	9,55	6,52	6,05	5,11	9,67	9,54	9,38	9,32

4.12. Oto-agregasyon ve co-agregasyon yeteneği

Agregasyon, hücrelerin kümeleşme süreci olup, süspanse edildikleri ortamda kendiliğinden çökelmelerine neden olmaktadır. İki farklı agregasyon türü vardır: oto-agregasyon ve co-agregasyon. Co-agregasyon iki farklı bakteri suşu arasındaki hücre-hücre tanınmasının bir sonucu iken oto-agregasyon aynı suşa ait bakterinin toplanmasıdır (Janković *et al.* 2012). Oto-agregasyon yeteneği, bakteri suşunun kendine özgü bir şekilde etkileşime girme kapasitesini belirlemektedir. Bu suşlar yüksek oto-agregasyon yeteneği gösterdiği ağız boşluğu ve gastrointestinal sistemde yararlı etkiler sağlamaktadır (Sharma *et al.* 2016). Oto- agregasyon probiyotik bakterilerin bağırsak epitel hücrelere yapışmaları üzerinde etkili olurken, bağırsakta patojen kolonizasyonunu önleyebilmekte ve vücudun doğal savunma sistemini güçlendirmektedir (Janković *et al.* 2012; Gómez *et al.* 2016; Abbasiliasi *et al.* 2017). Co-agregasyon patojen bakterilerle yakın interaksiyon sağlarken (Janković *et al.* 2012), oto-agregasyon, probiyotik suşların adhezyon yeteneği ile yakından ilişkilidir.

Laktik asit bakteri suşlarının oto-agregasyon yeteneğine ait sonuçlar Çizelge 4.9'da, co-agregasyon yeteneğine ait sonuçlar ise Çizelge 4.10'da verilmiştir. Neticede 5 saat sonunda en yüksek oto-agregasyon %17,62 olarak belirlenirken, en yüksek co-agregasyon %26,23 olarak belirlenmiştir. Sharma *et al.* (2016) süt ürünü kaynaklı *Pediococcus acidilactici* KM0 suşunun 5 saat sonra %40'dan daha fazla agregasyon kapasitesine sahip olduğunu tespit etmiştir. Yuksekdag and Aslim (2010) *Pediococcus* suşlarının agregasyon yeteneklerinin %35 ile %84 arasında değiştiğini, co-agregasyon yeteneklerinin ise 2 suşta iyi, 3 suşta ise kısmi olduğunu bildirmişlerdir. Diğer bir çalışmada pişirilmiş et ürünü kaynaklı termotolerant *Pediococcus pentosaceus* suşlarının yüksek seviyede oto-agregasyon ve co-agregasyon yeteneği gösterdiği belirlenmiştir (Hernández-Alcántara *et al.* 2018). Vidhyasagar and Jeevaratnam (2013) ise idli hamurundan izole ettikleri tüm izolatların (*Pediococcus pentosaceus*), güçlü otagregasyon ve co-agregasyon (*Listeria monocytogenes* ve *E. coli*'ye karşı) gösterdiğini belirlemişlerdir. Ramirez-Chavarin *et al.* (2013) pişirilmiş et ürünlerinden izole ettikleri 10 termotolerant laktik asit bakterisinin probiyotik özelliklerini araştırdıkları çalışmada suşların [*Pediococcus pentosaceus* (4 suş), *Lactobacillus plantarum* (3 suş), *Enterococcus faecium* (2 suş) ve *Aerococcus viridans* (1 suş)] %20'sinden azının *E. coli* ile %30'unun *Salmonella* ile co-agregasyon gösterdiği bildirilmiştir.

Çizelge 4.9 ve 4.10'dan da görüldüğü üzere 80 suştan seçilen 6 suş farklı seviyelerde otagregasyon ve co-agregasyon yetenekleri göstermektedir. Oto agregasyon yeteneği açısından *P. pentosaceus* K41 suşu, co-agregasyon açısından ise *P. pentosaceus* K44 suşu daha iyi sonuçlar vermektedir. Bu sonuçlara dayanılarak her iki suşun probiyotik suş adayı olarak değerlendirilmesinin uygun olacağı düşünülmektedir.

Çizelge 4.10. Laktik asit bakteri suşlarının oto-agregasyon yeteneği (%oto-agregasyon)

Suş	1.saat	2.saat	3.saat	4.saat	5.saat
<i>P. pentosaceus</i> K7	4,55	8,95	10,72	11,64	15,03
<i>P. pentosaceus</i> K41	9,69	11,23	12,77	14,31	17,62
<i>P. pentosaceus</i> K44	1,89	3,77	8,82	13,98	13,98
<i>P. pentosaceus</i> K51	5,68	5,68	6,57	6,57	12,93
<i>P. pentosaceus</i> K81	3,51	6,19	7,94	13,27	14,99
<i>P. acidilactici</i> K99	2,87	4,91	7,88	8,81	10,75

Çizelge 4.11. Laktik asit bakteri suşlarının co-agregasyon yeteneği (%co-agregasyon)

Suş	1.saat	2.saat	3.saat	4.saat	5.saat
<i>P. pentosaceus</i> K7	10,00	13,33	16,67	16,67	21,67
<i>P. pentosaceus</i> K41	6,35	7,94	9,52	11,11	11,11
<i>P. pentosaceus</i> K44	9,84	14,75	18,03	19,67	26,23
<i>P. pentosaceus</i> K51	5,98	11,11	12,82	17,95	17,95
<i>P. pentosaceus</i> K81	7,56	9,24	10,92	10,92	22,69
<i>P. acidilactici</i> K99	4,35	7,83	9,57	14,78	21,74

4.13. Simüle mide ve bağırsak sıvısına direnç

Gastrointestinal sistemin koşullarına karşı direnç, potansiyel probiyotik adayların seçimine yönelik önemli bir adım olarak değerlendirilmektedir. Üstesinden gelinmesi gereken ilk engel, yüksek bir lizozim konsantrasyonuna sahip insan tükürüğüdür. Daha sonra ise düşük pH ve sindirim enzimleriyle mide ve safra içeren üst bağırsaktır (García-Ruiz *et al.* 2014).

Seçilen muhtemel 6 probiyotik suşun mide ve bağırsak sıvısına direncine ait sonuçlar Çizelge 4.12’de verilmiştir. Başlangıçta simüle ortama ilave edilen mikroorganizma yükü 10^9 olarak belirlenmiş ve analiz sonucunda suşa bağlı olarak sayıda bir değişiklik gözlenmiştir. Çizelgeden de görüldüğü üzere 6,6-7,4 log kob/mL aralığında değişen sayılar belirlenmiştir. En fazla azalma *P. pentosaceus* K51’de gözlemlenirken, en az azalma *P. pentosaceus* K44 ve *P. acidilactici* K99 vermiştir.

Çizelge 4.12. Laktik asit bakteri suşlarının simüle mide ve bağırsak sıvısına direncine ait sonuçlar

Suş	Log kob/mL
<i>P. pentosaceus</i> K7	7,0
<i>P. pentosaceus</i> K41	7,2
<i>P. pentosaceus</i> K44	7,4
<i>P. pentosaceus</i> K51	6,6
<i>P. pentosaceus</i> K81	7,3
<i>P. acidilactici</i> K99	7,4

Bu araştırma sonuçlarına benzer şekilde Jensen *et al.* (2012) da *Pediococcus pentosaceus*'un mide ve ince bağırsak sıvısını iyi tolere ettiğini ve canlılığın azalmadığını belirtmişlerdir. Federici *et al.* (2014) ise inceledikleri tüm laktik asit bakteri suşlarının mide sıvısına iyi adaptasyon sağladığını rapor etmişlerdir. Rzepkowska *et al.* (2017) da fermente sosis kaynaklı *Lactobacillus* ve *Pediococcus* cinslerine ait 21 suşun aynı şekilde mide ve bağırsak enzimlerine direnç gösterdiğini tespit etmişlerdir. Buna karşın Hernández-Alcántara *et al.* (2018) pişirilmiş et ürünü kaynaklı *Pediococcus* suşlarının gastrik stres koşullarında canlılığının çok önemli oranda azaldığını ancak ince bağırsak stres koşullarında ise canlılığın önemli derecede korunduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde Vidhyasagar and Jeevaratnam (2013) *Pediococcus pentosaceus* suşlarının mide ve bağırsak koşullarını tolere edebildiğini belirtirken, Ramirez-Chavarin *et al.* (2013) pişirilmiş et ürünü kaynaklı laktik asit bakteri suşlarının %50'sinin simüle edilmiş mide sıvısını tolere edemediğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada olduğu gibi *Pediococcus* suşları genellikle mide ve bağırsak sıvısını tolere edebilmekte, ancak canlılık oranı suşa bağlı olarak değişiklik göstermektedir.

4.14. Adhezyon kapasitesi

Laktik asit bakterileri, hayvanlarda ve insanlarda gastrointestinal hastalıklar için diyet takviyesi olarak yoğun bir şekilde araştırılmaktadır (Marcinakova *et al.* 2010). Probiyotiklerin sağlığa yönelik potansiyel etkileri, temel olarak, beslenme ve bağırsak mikrobiyota dengesini iyileştirme yeteneklerinin yanı sıra mukozal ve sistemik

bağışıklığı modüle etme kapasitelerine de dayanmaktadır. Bu yararlı etkiler, probiyotik suşların insan gastrointestinal sistem koşullarında (gastrik asitlik, sindirim enzimleri, safra tuzları) canlı kalma yeteneğine bağlıdır (Verón *et al.* 2017). Yararlı etkilerini sergilemek için yeterli sayıda canlı probiyotik hücrenin intestinal sisteme ulaşması gerekmektedir. Bağırsak epitel hücrelerine adhezyon yeteneği probiyotik aktivite için ilk adım olarak düşünülmektedir. Laktik asit bakterilerinin adhezyon yeteneği sıklıkla, bağırsak epitelinin *in vitro* modelleri bağırsak hücre hatları (kolon adenokarsinoma hücrelerinden türetilen Caco-2, T84, HT-29 ve mukus salgılayan HT-29MTX gibi farklı insan epitel hücre hatları) kullanılarak incelenmektedir (Marcinakova *et al.* 2010).

Laktik asit bakteri suşlarının adhezyon yeteneğine ait sonuçlar Çizelge 4.13.'de verilmiştir. Seçilen 6 suştan plak sayım yöntemine göre en yüksek sonucu veren suşlar Caco-2 hücre hattında *P. acidilactici* K99 (%0,98) iken HT-29 hücre hattında *P. pentosaceus* K41 (%1,09), flow sitometri yönteminde ise Caco-2 hücre hattında *P. pentosaceus* K44 (%2,45) ve *P. acidilactici* K99 (%2,38) iken HT-29 hücre hattında *P. pentosaceus* K81 (%2,15) ve *P. pentosaceus* K44 (%2,03) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.13). Elde edilen bu sonuçlar suşların flow sitometrisi grafik ve Gram boyama görüntüleri ile doğrulanmaktadır (Ek 1.).

Çizelge 4.13. Laktik asit bakteri suşlarının adhezyon kapasitelerine ait sonuçlar (% adhezyon)

Suş	Caco-2 Adhezyon		HT-29 Adhezyon	
	Plak Sayım Yöntemi	Flow Sitometri	Plak Sayım Yöntemi	Flow Sitometri
<i>P. pentosaceus</i> K7	0,30	0,92	0,37	1,16
<i>P. pentosaceus</i> K41	0,83	1,60	1,09	1,46
<i>P. pentosaceus</i> K44	0,76	2,45	0,73	2,03
<i>P. pentosaceus</i> K51	0,82	1,61	0,83	1,67
<i>P. pentosaceus</i> K81	0,66	1,48	0,72	2,15
<i>P. acidilactici</i> K99	0,98	2,38	0,94	1,54

Tuomola and Salminen (1998) de 2 farklı *Lactobacillus* suşunun adhezyon yeteneğini Caco-2 hücre hattı kullanarak inceledikleri çalışmalarında, Caco-2 hücre kültüründe *L. casei* (Fyos)'yi en yapışkan suş (%14) ve *L. casei* var. *rhamnosus* (Lactophilus)'u en az yapışkan suş (%3) olarak belirlemişlerdir. Süt kaynaklı 29 *Lactobacillus* suşunun probiyotik özelliklerinin incelendiği bir çalışmada ise suşların sadece birkaçı Caco-2 hücrelerine adhezyon göstermiştir (Maragkoudakis *et al.* 2006). Jensen *et al.* (2012) ise *L. plantarum* MF1298 suşu ile 3 *L. reuteri* suşunun, test edilen diğer suşlara kıyasla anlamlı derecede daha yüksek bir adhezyon kapasitesi gösterdiğini rapor etmişlerdir. García-Ruiz *et al.* (2014) *Pediococcus pentosaceus* CIAL-86 suşunun bağırsak hücrelerine (>%12), probiyotik referans suşlarında gösterilenden daha yüksek bir adhezyon yüzdesi gösterdiğini tespit etmişlerdir. Federici *et al.* (2014) inceledikleri suşlar arasında adhezyon açısından önemli farklılıklar olduğunu, ancak gıda kaynaklı laktik asit bakterilerinin anlamlı derecede düşük değerler verdiğini belirtmişlerdir. Diğer bir çalışmada ise 3 *Pediococcus pentosaceus* suşunun Caco-2 hücrelerine adhezyonu 10,9-13,9 kob/hücre arasında değiştiği tespit edilmiştir (Lee *et al.* 2014). Gupta and Sharma (2015) ise laktik asit bakteri izolatlarının *in vitro* bağırsak mukozasına ve epitel hücre hatlarına adhezyonunu inceledikleri çalışmalarında *Pediococcus pentosaceus* LB-CC ve *Pediococcus pentosaceus* LB-WC verimli bir şekilde insan epitel hücre hatlarına adhezyon gösterdiğini bildirmişlerdir. Pişirilmiş et ürünü kaynaklı altı termotolerant laktik asit bakteri suşu üzerinde yapılan çalışmada ise diğer çalışmalardan farklı olarak *Enterococcus faecium* UAM1 suşunun insan Caco-2 hücrelerine adhezyonunun, *Pediococcus pentosaceus* suşlarının adhezyonundan önemli derecede daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (Hernández-Alcántara *et al.* 2018).

Probiyotik suşların tutunma yeteneği ortam, sıcaklık ve pH gibi faktörler ile değişiklik gösterebilmektedir. Ayrıca, enzimler ve kalsiyum iyonları bakteriyel bağlanma üzerinde etkili olmaktadır. Hücre yüzeyindeki protein ve polisakkarit tutunma molekülleri de spesifik adhezyon etkileşimlerinde rol oynamaktadır (Lim and Ahn 2012).

5. SONUÇ

Mevcut araştırmada, Çınar *et al.* (2019) tarafından pastırmadan izole edilen ve genotipik olarak identifiye edilen 80 laktik asit bakteri suşunun teknolojik ve probiyotik özellikleri incelenmiştir. Teknolojik ve probiyotik özelliklerini incelemek amacıyla suşlar proteolitik aktivite, asit üretim, farklı pH'larda gelişim, farklı sıcaklıklarda gelişim, termotolerant kapasite, biyofilm oluşumu, antibiyotik hassasiyeti, safra tuzuna direnç, hücre yüzey hidrofobisitesi, yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişme, oto-agregasyon ve co-agregasyon yeteneği, düşük pH'ya direnç, simüle mide ve bağırsak sıvısına direnç ve adhezyon kapasitesi açısından analizlere tabi tutulmuştur. Analizler neticesinde aşağıda verilen genel sonuç ve önerilere ulaşılmıştır.

1. Pastırma kaynaklı 63 *P. pentosaceus* suşundan sadece 5 suş, sarkoplazmik proteinler üzerinde çok zayıf bir proteolitik aktivite göstermiştir. Miyofibriler proteinler üzerinde ise *P. pentosaceus* türüne ait 12 suş yine çok zayıf bir aktivite sergilemiştir. Diğer taraftan myofibriler proteinler üzerinde proteolitik aktivite gösteren diğer bir suş ise *Lactobacillus sakei* K103'tür. Myofibriler preoteinler üzerinde *Pediococcus acidilactici* suşlarından sadece 2 suş çok zayıf proteolitik aktivite göstermiştir. *L. plantarum* K73 suşu hiçbir franksiyonda proteolitik aktivite göstermemiştir. Bu sonuçlara göre pastırmadan izole edilen suşlar, genellikle proteolitik aktivite göstermemektedir. Ticari starter kültür prapartlarında bulunan laktik asit bakteri suşları da genellikle ya proteolitik aktiviteye sahip değil ya da bu aktiviteleri oldukça zayıftır.
2. Suş seçiminde asit üretim hızı ve derecesi önem arz eden teknolojik bir özelliktir. Suşlar arasında en yüksek asit üretimi sırasıyla K73, K66B, K55 ve K56 ile K103'de belirlenmiş ve bu suşlar pH değerini 5,0'ın altına kadar düşürebilmiştir. Diğer taraftan *P. pentosaceus* suşlarının ise önemli bir kısmı pH değerini 5,5'in altına düşürmüştür. Suşların bu özellik açısından sucuk ve ısıl işlem görmüş sucuk gibi fermente sosisler için iyi birer starter kültür adayı olabileceği düşünölmektedir.
3. Starter ve probiyotik kültür seçiminde ortam pH'sında çoğalabilme mikroorganizmaların seçimi açısından önemli bir faktördür. Araştırmada pH 4'de 15 *P. acidilactici* suşundan 13'ünün, 63 *P. pentosaceus* suşundan ise sadece 10'unun çok iyi

bir gelişme gösterdiği tespit edilmiştir. *L. plantarum* K73 suşu her üç pH değerinde çok iyi bir gelişme gösterirken, *L. sakei* K103 suşu pH 4, 5 ve 8'de sırasıyla zayıf, iyi ve çok iyi bir gelişme sergilemiştir. Bu sonuçlara göre incelenen suşlar fermentasyon teknolojisi açısından değerlendirilebilecek niteliktedir.

4. Fermente et ürünlerinin üretim proseslerinde mikroorganizmaların aktivite göstermesi son derece önemlidir. Sucuk gibi fermente ürünler genellikle 18-25°C aralığında fermentasyona tabi tutulurken, pastırma gibi et ürünlerinin olgunlaştırılmasında 15-25°C arasında değişen sıcaklıklar uygulanmaktadır. Bu tip ürünlerde kütleme aşaması da mikroorganizmaların aktivitesi açısından önem arz etmekte ve kütleme sıcaklığı 4-10°C arasında değişmektedir. Mevcut araştırmada 4°C'de *P. pentosaceus*'un sadece 4 suşunun, 15°C'de ise 10 suş hariç tüm suşlar çok iyi bir gelişme gösterdiği tespit edilmiştir. 25°C'de tüm suşlar çok iyi bir gelişme gösterirken, 45°C'de suşa göre değişkenlikler söz konusu olmuştur. İncelenen suşların tümünün, gelişim sıcaklıkları göz önüne alındığında fermente sosis ile parça halde işlenen kurutulmuş çiğ et ürünü üretim proseslerinde kullanılabileceği düşünülmektedir.

5. Son yıllarda pişirilmiş et ürünlerinde termotolerant özelliğe sahip laktik asit bakterilerinin kullanımı ile ürün güvenliğinin artırılmasına yönelik çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Isıl işlemden sonra canlı kalabilen suşların ürünün taşınması ve muhafazası sırasında gıda kaynaklı patojenlerin gelişiminin engellenmesi hedeflenmektedir. Mevcut bu araştırmada pastırmadan izole/identifiye edilen laktik asit bakterileri suşlarının hiçbirinde termotolerant aktivite (70°C'de 1 saat) belirlenmemiştir. Bununla birlikte farklı sıcaklık ve süre kombinasyonları denenerek suşlar hakkında daha detaylı bilgi edinilmesi gerekmektedir.

6. Biyofilm oluşumu bazı gıda proseslerinde olumsuz bir özellik olarak kabul edilirken, kültürlerin kolonizasyonu, patojen veya bozucu bakterilerin kolonizasyonunun engellenmesi için arzu edilebilmektedir. Yapılan çalışma neticesinde suşlardan 3'ünün (*P. pentosaceus* K15, *P. pentosaceus* K55 suşu ve *L. sakei* K103) biyofilm oluşturduğu tespit edilmiştir.

7. Yerel suşların çoğunun vankomisin, kanamisin, gentamisin ve streptomisine karşı dirençli olduğu, sefalotine ise iki suşun dirençli olduğu saptanmıştır. Ampisilin, penisilin G ve klindamisine karşı hepsi, tetrasikline karşı ise suşların çoğu hassasiyet göstermiştir.

8. Probiyotik suş seçiminde, canlılık, çoğalma ve gastrointestinal sistemden geçiş açısından safra tuzuna dirençlilik önemli bir faktördür. Analizler neticesinde gelişim yüzdeleri suşlar arasında değişmekle birlikte tüm suşlar, safra tuzuna karşı dayanıklılık göstermiştir. Bununla birlikte genellikle *P. pentosaceus* suşlarında daha yüksek gelişim yüzdeleri görülmüştür. Elde edilen bulgular artan safra tuzu konsantrasyonuyla gelişimin yavaşladığını, artan sıcaklıkta ise gelişimin arttığını göstermektedir.

9. Hidrofobisite mikroorganizma ve konakçı arasındaki etkileşimin bir sonucudur. Araştırmada en yüksek hidrofobisiteyi *P. pentosaceus* K7 *P. pentosaceus* K41, *P. pentosaceus* K44, *P. pentosaceus* K51, *P. pentosaceus* K81 ve *P. acidilactici* K99 suşları göstermiştir. Bu suşlar hem hidrofobisite hem de yukarıda belirtilen özellikler dikkate alınarak muhtemel probiyotik suşlar olarak değerlendirilmiş ve daha ileri testlere tabi tutulmuştur.

10. Yüksek tuz konsantrasyonunda gelişme, kültürlerin buldukları ortamda çoğalabilmeleri, üründe ve konakçıda beklenen etkiyi gösterebilmeleri açısından önemli bir özelliktir. Mevcut araştırmada laktik asit bakteri suşlarının %7 tuz konsantrasyonunda zayıf bir gelişme gösterdiği tespit edilmiştir.

11. Oto-agregasyon ve co-agregasyon, probiyotik mikroorganizmaların belirlenmesinde diğer iki önemli özelliktir. Araştırmada muhtemel probiyotik suşlar bu testlere tabi tutulmuş ve neticede 5 saat sonunda en yüksek oto-agregasyonu *P. pentosaceus* K41 suşunun verdiği gözlemlenmiştir. En yüksek co-agregasyon *E. coli*'ye karşı *P. pentosaceus* K44 suşunda belirlenmiştir. Bu sonuçlara dayanılarak her iki suşun probiyotik suş olarak değerlendirilmesinin mümkün olabileceği kanaatine varılmıştır.

12. Probiyotik suş seçiminde, suşların düşük pH değerlerinde canlılıklarını sürdürebilmeleri önem arz eden diğer bir faktördür. Araştırmada muhtemel probiyotik olarak belirlenen suşların pH 3'de 3 saat süre ile inokülasyon seviyelerini koruduğu, pH 2'de ise 3 saatin sonunda suşa bağlı olarak 3-5 logaritmik birimlik bir azalmanın gerçekleştiği belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre seçilen suşların düşük pH değerlerinde canlılığını koruduğu belirlenmiştir.

13. Simüle mide ve bağırsak ortamında suşlar canlılıklarını önemli oranda korumuştur. En fazla azalma *P. pentosaceus* K51'de gözlenirken, en az azalma *P. pentosaceus* K44 ve *P. acidilactici* K99 suşlarında belirlenmiştir. Bulgular sonucu *Pediococcus* suşlarının

genellikle mide ve bağırsak sıvısını tolere edebildiği, ancak canlılık oranının suşa bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir.

14. Gastrointestinal sistemde canlılığını koruyan muhtemel probiyotik mikroorganizmaların konakçıya yararlı etkiler sağlayabilmesi için intestinal sisteme ulaşması gerekmektedir. Suşların probiyotik aktivitesinin belirlenmesinde adhezyon kapasitesi ilk sırada yer almaktadır. Analizler sonucunda her iki hücre hattında da plak sayım yöntemine göre *P. acidilactici* K99 ve *P. pentosaceus* K41 suşları, flow sitometri yöntemine göre ise Caco-2 hücre hattında *P. pentosaceus* K44 ve *P. acidilactici* K99, HT-29 hücre hattında *P. pentosaceus* K81 ve *P. pentosaceus* K44 suşları daha yüksek yüzde değerler vermiştir. Genel olarak, düşük yapışkanlık özelliklerine rağmen suşlar, gastrointestinal sistemden geçişe dayanabilmektedir. Plak sayımından elde edilen sonuçlarla flow sitometri sonuçları nispeten benzer özellik göstermiştir.

Sonuç olarak; pastırmadan izole edilip tanımlanmış laktik asit bakteri suşlarının pek çok teknolojik özellik açısından starter kültür olarak kullanılabilir nitelikte olduğu, bu suşlardan seçilen 6 suşun *P. pentosaceus* K7 *P. pentosaceus* K41, *P. pentosaceus* K44, *P. pentosaceus* K51, *P. pentosaceus* K81 ve *P. acidilactici* K99 ise probiyotik karakterler de taşıdığı, bu suşlar arasında ise K44, K99 ve K41'in probiyotik suş olarak değerlendirilebileceği kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abbasiliasi, S., Tan, J. S., Bashokouh, F., Ibrahim, T. A. T., Mustafa, S., Vakhshiteh, F., Ariff, A. B., 2017. *In vitro* assessment of *Pediococcus acidilactici* Kp10 for its potential use in the food industry. BMC Microbiology, 17(1),121.
- Adamberg, K., Kask, S., Laht, T.M., Paalme, T., 2003. The effect of temperature and pH on the growth of lactic acid bacteria: a pH-auxostat study. International Journal of Food Microbiology, 85,171-183.
- Ahmad, A., Yap, W. B., Kofli, N. T., Ghazali, A. R., 2018. Probiotic potentials of *Lactobacillus plantarum* isolated from fermented durian (Tempoyak), a Malaysian traditional condiment. Food Science and Nutrition, 6(6), 1370-1377.
- Ammor, M. S., Mayo, B., 2007. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. Meat Science, 76(1), 138-146.
- Angmo, K., Kumari, A., Savitri, Bhalla, T.C., 2016. Probiotic characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented foods and beverage of ladakh. LWT- Food Science and Technology, 66, 428-435.
- Aoudia, N., Rieu, A., Briandet, R., Deschamps, J., Chluba, J., Jegou, G., Guzzo, J., 2016. Biofilms of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus fermentum*: Effect on stress responses, antagonistic effects on pathogen growth and immunomodulatory properties. Food Microbiology, 53, 51-59.
- Argyri, A. A., Zoumpopoulou, G., Karatzas, K. A. G., Tsakalidou, E., Nychas, G. J. E., Panagou, E. Z., 2013. Selection of potential probiotic lactic acid bacteria from fermented olives by *in vitro* tests. Food Microbiology, 33, 282-291
- Arici, M., Bilgin, B., Sağdıç, O., Özdemir, C., 2004. Some characteristics of *Lactobacillus* isolates from infant faeces. Food Microbiology, 21, 19-24.
- Arici, M., Coskun, F., Celikyurt, G., Mirik, M., Gulcu, M., Tokatli, N. 2017. Some technological and functional properties of lactic acid bacteria isolated from hardaliye. Tarım Bilimleri Dergisi-Journal of Agricultural Sciences, 23(4), 428-437.
- Axelsson, L., 1998. Lactic acid bacteria: Classification and physiology. Lactic acid bacteri: Microbiology and functional aspects. Ed: S. Salminen; A.V. Wright, Chapter 1: pp 1-2, Marcel Dekker, Inc. New York.
- Ayad, E. H., Omran, N., El-Soda, M., 2006. Characterisation of lactic acid bacteria isolated from artisanal Egyptian Ras cheese. Le Lait, 86(4), 317-331.
- Ayhan, K., 2000. Gıdalarda bulunan mikroorganizmalar. Gıda mikrobiyolojisi ve uygulamaları. Bölüm 2, ss. 48, Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara.
- Balcázar, J. L., Vendrell, D., De Blas, I., Ruiz-Zarzuola, I., Gironés, O., Múzquiz, J. L., 2007. *In vitro* competitive adhesion and production of antagonistic compounds by lactic acid bacteria against fish pathogens. Veterinary Microbiology, 122(3-4), 373-380.
- Bonomo, M.G., Ricciardi, A., Zotta, T., Parente, E., Salzano, G., 2008. Molecular and technological characterization of lactic acid bacteria from traditional fermented sausages of Basilicata region (Southern Italy). Meat Science, 80, 1238-1248.

- Both, E., Gyorgy, E., Kibedi-Szabo, C. Z., Tamas, E., Abraham, B., Miklossy, I., Lanyi, S., 2010. Acid and bile tolerance, adhesion to epithelial cells of probiotic microorganisms. *UPB Buletin Stiintific, Series B: Chemistry and Materials Science*, 72(2), 37-44.
- Cai, Y., Kumai, S., Ogawa, M., Benno, Y., Nakase, T., 1999. Characterization and identification of *Pediococcus* species isolated from forage crops and their application for silage preparation. *Applied and Environmental Microbiology*, 65 (7), 2901-2906.
- Carafa, I., Nardin, T., Larcher, R., Viola, R., Tuohy, K., Franciosi, E., 2015. Identification and characterization of wild lactobacilli and pediococci from spontaneously fermented Mountain cheese. *Food microbiology*, 48, 123-132.
- Chen, X., Zhao, X., Qian, Y., Li, J., Chen, L., Chen, J., Suo, H., 2017. Screening and identification of lactic acid bacteria strains with high acid-producing from traditional fermented yak yogurt. In *BIO Web of Conferences* (Vol. 8, p. 03002). EDP Sciences.
- Chung, H. S., Kim, Y. B., Chun, S. L., Ji, G. E., 1999. Screening and selection of acid and bile resistant bifidobacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 47(1-2), 25-32.
- CLSI, 2015. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Clinical and Laboratory Standard Institute, CLSI document M100-S23—Twenty third informational supplement. CLSI, Wayne, Pennsylvania.
- Cogan, T. M., Barbosa, M., Beuquier, E., Bianchi-Salvadori, B., Cocconcelli, P. S., Fernandes, I., Medina, M., 1997. Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *Journal of Dairy Research*, 64(3), 409-421.
- Çınar, K., 2014. Farklı kürlenme sıcaklıkları ve farklı kürlenme ajanları kullanılarak üretilen pastirmaların laktik asit bakteri florası ve diğer bazı özellikleri. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Erzurum.
- Çınar, K., Fettahoğlu, K., Kaban, G., 2019. Genotypic identification of lactic acid bacteria in pastirma produced with different curing processes. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 25(3), 299-303.
- Davis, C. R., Wibowo, D., Fleet, G. H., Lee, T. H., 1988. Properties of wine lactic acid bacteria: their potential enological significance. *American Journal of Enology and Viticulture*, 39(2), 137-142.
- De Vuyst, L.D., Falony, G., Leroy, F., 2008. Probiotics in fermented sausages. *Meat Science*, 80, 75-78.
- Diñçer, E., Kıvanç, M., 2012. Characterization of lactic acid bacteria from Turkish pastirma. *Annals of Microbiology*, 62(3), 1155-1163.
- Drosinos, E.H., Mataragas, M., Xiraphi, N., Moschonas, G., Gaitis, F., Metaxopoulos, J., 2005. Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage. *Meat Science*, 69, 307-317.
- Elmaged, H. A. A., Elyas, Y. Y., Yousif, N. M., Ahmed, I. A. M., 2015. Technological properties of lactic acid bacteria (lab) isolated from various sudanese fermented foods. *Journal of Research in Applied Sciences*, 2(3), 88-100.

- Englerová, K., Nemcová, R., Mudroňová, D., 2017. The Study of the probiotic potential of the beneficial bacteria isolated from kefir grains. *Folia Veterinaria*, 61(1), 27-37.
- Erkkilä, S., Petäjä, E., 2000. Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use. *Meat Science*, 55(3), 297-300.
- Ertekin, Ö., Çon, A. H., 2014. Farklı gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin endüstriyel ve probiyotik özellikleri. *Academic Food Journal/Akademik GIDA*, 12(4), 6-16.
- Escamilla-Montes, R., Luna-Gonzalez, A., del Carmen Flores-Miranda, M., Alvarez-Ruiz, P., Fierro-Coronado, J. A., Sánchez-Ortiz, A. C., Avila-Leal, J., 2015. Isolation and characterization of potential probiotic bacteria suitable for mollusk larvae cultures. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 45(1), 11-21.
- Evren, M., Apan, M., Tutkun, E., Evren, S., 2011. Geleneksel fermente gıdalarda bulunan laktik asit bakterileri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 9(1), 11-17.
- Fadda, S., Sanz, Y., Vignolo, G., Aristoy, M., Oliver, G., Toldrá, F., 1999. Characterization of muscle sarcoplasmic and myofibrillar protein hydrolysis caused by *Lactobacillus plantarum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 3540-3546.
- Federici, S., Ciarrocchi, F., Campana, R., Ciandrini, E., Blasi, G., Baffone, W., 2014. Identification and functional traits of lactic acid bacteria isolated from Ciauscolo salami produced in Central Italy. *Meat Science*, 98(4), 575-584.
- Gao, P., Wang, W., Xia, W., Xu, Y., Jiang, Q., 2016. Lipolysis and lipid oxidation caused by *Staphylococcus xylosus* 135 and *Saccharomyces cerevisiae* 31 isolated from Suan yu, a traditional Chinese low-salt fermented fish. *International Journal of Food Science and Technology*, 51, 149-426.
- García-Ruiz, A., de Llano, D. G., Esteban-Fernández, A., Requena, T., Bartolomé, B., Moreno-Arribas, M. V., 2014. Assessment of probiotic properties in lactic acid bacteria isolated from wine. *Food Microbiology*, 44, 220-225.
- Gismondo, M. R., Drago, L., Lombardi, A., 1999. Review of probiotics available to modify gastrointestinal flora. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 12(4), 287-292.
- Gómez, N. C., Ramiro, J. M., Quecan, B. X., de Melo Franco, B. D., 2016. Use of potential probiotic lactic acid bacteria (LAB) biofilms for the control of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium, and *Escherichia coli* O157:H7 biofilms formation. *Frontiers in Microbiology*, 7, 863.
- Gotcheva, V., Hristozova, E., Hristozova, T., Guo, M., Roshkova, Z., Angelov, A., 2002. Assessment of potential probiotic properties of lactic acid bacteria and yeast strains. *Food Biotechnology*, 16(3), 211-225.
- Grajek, K., Sip, A., Foksowicz-Flaczyk, J., Dobrowolska, A., Wita, A., 2016. Adhesive and hydrophobic properties of the selected LAB isolated from gastrointestinal tract of farming animals. *Acta Biochimica Polonica*, 63(2), 311-314.
- Grimoud, J., Durand, H., Courtin, C., Monsan, P., Ouarné, F., Theodorou, V., Roques, C., 2010. *In vitro* screening of probiotic lactic acid bacteria and prebiotic glucooligosaccharides to select effective synbiotics. *Anaerobe*, 16, 493-500.

- Guglielmotti, D. M., Marcó, M. B., Golowczyc, M., Reinheimer, J. A., Quiberoni, A. D. L., 2007. Probiotic potential of *Lactobacillus delbrueckii* strains and their phage resistant mutants. *International Dairy Journal*, 17(8), 916-925.
- Gupta, A., Sharma, N., 2015. Assessment of cell surface properties and adhesion potential of lactic acid bacteria isolated from Lasoda bari-A rare fermented food of Himachal Pradesh. *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, 3(8), 9-15.
- Herich, R., Levkut, M., 2002. Lactic acid bacteria, probiotics and immune system. *Veterinarni Medicina-Praha-*, 47(6), 169-180.
- Hernández-Alcántara, A. M., Wachter, C., Llamas, M. G., López, P., Pérez-Chabela, M. L., 2018. Probiotic properties and stress response of thermotolerant lactic acid bacteria isolated from cooked meat products. *LWT Food Science and Technology*, 91, 249-257.
- Holzapfel, W.H., Haberer, P., Snel, J., Schillinger, U., Huis in't Veld, J.H.J., 1998. Overview of gut flora and probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 41, 85-101.
- Hyronimus, B., Le Marrec, C., Sassi, A. H., Deschamps, A., 2000. Acid and bile tolerance of spore-forming lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 61(2-3), 193-197.
- Jacobsen, C. N., Nielsen, V. R., Hayford, A. E., Møller, P. L., Michaelsen, K. F., Paerregaard, A., Jakobsen, M., 1999. Screening of probiotic activities of forty-seven strains of *Lactobacillus* spp. by *in vitro* techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in humans. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(11), 4949-4956.
- Janković, T., Frece, J., Abram, M., Gobin, I., 2012. Aggregation ability of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *International Journal of Sanitary Engineering Research*, 6, 19-24.
- Jensen, H., Grimmer, S., Naterstad, K., Axelsson, L., 2012. *In vitro* testing of commercial and potential probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 153(1-2), 216-222.
- Kaban, G., 2009. Changes in the composition of volatile compounds and in microbiological and physicochemical parameters during pastırma processing. *Meat Science*, 82, 17-23.
- Kaban, G., 2013. Sucuk and pastırma: Microbiological changes and formation of volatile compounds. *Meat Science*, 95, 912-918.
- Karaçıl, M.Ş., Acar Tek, N., 2013. Dünyada üretilen fermente ürünler: tarihsel süreç ve sağlık ile ilişkileri. *U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27, 2, 163-173.
- Kaya, M., Kaban, G., 2010a. Fermente et ürünleri. *Gıda biyoteknolojisi*. Ed. Necla ARAN, ss. 157-190, Nobel Yayıncılık, İstanbul.
- Kaya, M., Kaban, G., 2010b. Et ve et ürünlerinin kalite kontrolü. Ed. Merih KIVANÇ, ss. 24-42, TC. Anadolu Üniversitesi Web-Ofset, Eskişehir.
- Kirjavainen, P. V., Ouwehand, A. C., Isolauri, E., Salminen, S. J., 1998. The ability of probiotic bacteria to bind to human intestinal mucus. *FEMS Microbiology Letters*, 167(2), 185-189.
- Klingberg, T.D., Axelsson, L., Naterstad, K., Elsser, D., Budde, B.B., 2005. Identification of potential probiotic starter cultures for Scandinavian-type fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 105, 419-431.

- Kos, B., Suskovic, J., Vukovic, S., Simpraga, M., Frece, J., Matosic, S., 2003. Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 981-987.
- Kotzamanidis, C., Kourelis, A., Litopoulou-Tzanetaki, E., Tzanetakis, N., Yiangou, M., 2010. Evaluation of adhesion capacity, cell surface traits and immunomodulatory activity of presumptive probiotic *Lactobacillus* strains. *International Journal of Food Microbiology*, 15, 154-163.
- Kubota, H., Senda, S., Nomura, N., Tokuda, H., Uchiyama, H., 2008. Biofilm formation by lactic acid bacteria and resistance to environmental stress. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 106(4), 381-386.
- Landeta, G., Curiel, J.A., Carrascosa, A.V., Muños, R., de las Rivas, B., 2013. Technological and safety properties of lactic acid bacteria isolated from Spanish dry-cured sausages. *Meat Science*, 95, 272-280.
- Laukova, A., Stropfova, V., Ouwehand, A., 2004. Adhesion properties of enterococci to intestinal mucus of different hosts. *Veterinary Research Communications*, 28(8), 647-655.
- Lee, K. W., Park, J. Y., Sa, H. D., Jeong, J. H., Jin, D. E., Heo, H. J., Kim, J. H., 2014. Probiotic properties of *Pediococcus* strains isolated from jeotgals, salted and fermented Korean sea-food. *Anaerobe*, 28, 199-206.
- Lee, K. W., Shim, J. M., Park, S. K., Heo, H. J., Kim, H. J., Ham, K. S., Kim, J. H., 2016. Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potentials from kimchi, traditional Korean fermented vegetable. *LWT-Food Science and Technology*, 71, 130-137.
- Leriche, V., Carpentier, B., 2000. Limitation of adhesion and growth of *Listeria monocytogenes* on stainless steel surfaces by *Staphylococcus sciuri* biofilms. *Journal of Applied Microbiology*, 88(4), 594-605.
- Leroy, F., Verluyten, J., De Vust, L., 2006. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 106, 270 – 285.
- Lim, S. M., Ahn, D. H., 2012. Factors affecting adhesion of lactic acid bacteria to Caco-2 cells and inhibitory effect on infection of *Salmonella* Typhimurium. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(12), 1731-1739.
- Lücke, F. K., 1985. Mikrobiologische Vorgänge bei der Herstellung von Rohwurst und Rohschinken. *Mikrobiologie und Qualität von Rohwurst und Rohschinken*, 1, 85-102.
- Lücke, F. K., 2000. Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Science*, 56(2), 105-115.
- Lücke, F.K., Hechelmann, H. 1987. Starter cultures for dry sausages and raw ham composition and effect. *Fleischwirtschaft*, 67(3), 307-314.
- Maragkoudakis, P. A., Zoumpoulou, G., Miaris, C., Kalantzopoulos, G., Pot, B., Tsakalidou, E., 2006. Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *International Dairy Journal*, 16(3), 189-199.
- Marciňáková, M., Klingberg, T. D., Lauková, A., Budde, B. B., 2010. The effect of pH, bile and calcium on the adhesion ability of probiotic enterococci of animal origin to the porcine jejunal epithelial cell line IPEC-J2. *Anaerobe*, 16(2), 120-124.

- Martín, R., Olivares, M., Marín, M. L., Fernández, L., Xaus, J., Rodríguez, J. M., 2005. Probiotic potential of 3 lactobacilli strains isolated from breast milk. *Journal of Human Lactation*, 21(1), 8-17.
- Molina, I., Toldra, F., 1992. Detection of proteolytic activity in microorganisms isolated from dry- cured ham. *Journal of Food Science*, 57(6), 1308-1310.
- Monteagudo-Mera, A., Rodríguez-Aparicio, L., Rúa, J., Martínez-Blanco, H., Navasa, N., García-Armesto, M. R., Ferrero, M. Á., 2012. *In vitro* evaluation of physiological probiotic properties of different lactic acid bacteria strains of dairy and human origin. *Journal of Functional Foods*, 4(2), 531-541.
- Narvhus, J.A., Axelsson, L., 2003. Lactic acid bacteria. *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. Ed: B. Caballero, P. Finglas, L. Trugo. Pages 3465-3472, Baltimore, Maryland, USA.
- Nespolo, C. R., Brandelli, A., 2010. Production of bacteriocin-like substances by lactic acid bacteria isolated from regional ovine cheese. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(4), 1009-1018.
- Nikita, C., Hemangi, D., 2012. Isolation, identification and characterization of lactic acid bacteria from dairy sludge sample. *Journal of Environmental Research And Development*, 7(1A), 234-244.
- Ouwehand, A.C., Tuomola, E.M., Tölkö, S., Salminen, S., 2001. Assessment of adhesion properties of novel probiotic strains to human intestinal mucus. *International Journal of Food Microbiology*, 64, 119–126.
- Owusu-Kwarteng, J. A. M. E. S., 2013. Molecular diversity and technological properties of predominant microorganisms associated with the processing of millet into fura, a fermented food in Ghana. Doctoral Dissertation, University of Ghana.
- Oz, E., Kaya, M., 2019. The proteolytic changes in two different types of pastırma during the production. *Journal of Food Processing and Preservation*, e14042.
- Öz, E., Kaban, G., Barış, Ö., Kaya, M., 2017. Isolation and identification of lactic acid bacteria from pastırma. *Food Control*, 77, 158-162.
- Özdemir, H., Siriken, B., 1997. Pastırmalardan izole edilen laktobasillerin bazı biyokimyasal ve fizyolojik özellikleri. 10. KÜKEM Kongresi. 20(3), 74-75.
- Özlu, H., 2015. Bazı peynirlerden izole edilen laktik asit bakterilerinin bakteriyosin üretme yeteneği. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum.
- Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E., Kotzekidou, P., 2003. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect to their technological and probiotic properties. *Meat Science*, 65 (2), 859-867.
- Pennacchia, C., Ercolini, D., Blaiotta, G., Pepe, O., Mauriello, G., Villani, F., 2004. Selection of *Lactobacillus* strains from fermented sausages for their potential use as probiotics. *Meat Science*, 67, 309-317.
- Perdigón, G., Fuller, R., Raya, R., 2001. Lactic acid bacteria and their effect on the immune system. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 2(1), 27-42.
- Pérez-Chabela, M. L., Lara-Labastida, R., Rodríguez-Huezo, E., Totosaus, A., 2013. Effect of spray drying encapsulation of thermotolerant lactic acid bacteria on meat batters properties. *Food and Bioprocess Technology*, 6(6), 1505-1515.

- Pérez-Chabela, M.D.L., Totosaus, A., Guerrero, I. 2008. Evaluation of thermotolerant capacity of lactic acid bacteria isolated from commercial sausages and the effects of their addition on the quality of cooked sausages. *Food Science and Technology (Campinas)*, 28(1), 132-138.
- Pérez- Sánchez, T., Balcázar, J. L., García, Y., Halaihel, N., Vendrell, D., De Blas, I., Ruiz- Zarzuela, I., 2011. Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), with inhibitory activity against *Lactococcus garvieae*. *Journal of Fish Diseases*, 34(7), 499-507.
- Plessas, S., Nouska, C., Karapetsas, A., Kazakos, S., Alexopoulos, A., Mantzourani, I., Bezirtzoglou, E., 2017. Isolation, characterization and evaluation of the probiotic potential of a novel *Lactobacillus* strain isolated from Feta-type cheese. *Food chemistry*, 226, 102-108.
- Prasad, J., Gill, H., Smart, J., Gopal, P. K., 1998. Selection and characterisation of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains for use as probiotics. *International Dairy Journal*, 8(12), 993-1002.
- Radulović, Z., Živković, D., Mirković, N., Petrušić, M., Stajić, S., Perunović M., Paunović D., 2011. Effect of probiotic bacteria on chemical composition and sensory quality of fermented sausages. *Procedia Food Science* 1, 1516 – 1522.
- Rajoka, M.S.R., Mehwish, H.M., Siddiq, M., Haobin, Z., Zhu, J., Yan, L., Shao, D., Xu, X., Shi, J., 2017. Identification, characterization, and probiotic potential of *Lactobacillus rhamnosus* isolated from human milk. *LWT-Food Science and Technology*, 84, 271-280.
- Ramirez-Chavarin, M. L., Wachter, C., Eslava-Campos, C. A., Perez-Chabela, M. L., 2013. Probiotic potential of thermotolerant lactic acid bacteria strains isolated from cooked meat products. *International Food Research Journal*, 20(2), 991-1000.
- Ramírez- Chavarín, N. L., Wachter- Rodarte, C. A. R. M. E. N., Pérez- Chabela, M. L., 2010. Characterization and identification of thermotolerant lactic acid bacteria isolated from cooked sausages as bioprotective cultures. *Journal of Muscle Foods*, 21(3), 585-596.
- Rivera-Espinoza, Y., Gallardo-Navarro, Y., 2010. Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, 27(1), 1-11.
- Rzepkowska, A., Zielińska, D., Ołdak, A., Kołożyn-Krajewska, D., 2017. Safety assessment and antimicrobial properties of the lactic acid bacteria strains isolated from polish raw fermented meat products. *International Journal of Food Properties*, 20(11), 2736-2747.
- Sadishkumar, V., Jeevaratnam, K., 2017. *In vitro* probiotic evaluation of potential antioxidant lactic acid bacteria isolated from idli batter fermented with Piper betle leaves. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 329-340.
- Salvucci, E., LeBlanc, J. G., Pérez, G., 2016. Technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw cereal material. *LWT-Food Science and Technology*, 70, 185-191.
- Sanz, Y., Fadda, S., Vignolo, G., Aristoy, M. C., Oliver, G., Toldrá, F., 1999a. Hydrolytic action of *Lactobacillus casei* CRL 705 on pork muscle sarcoplasmic

- and myofibrillar proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(8), 3441-3448.
- Sanz, Y., Fadda, S., Vignolo, G., Aristoy, M. C., Oliver, G., Toldrá, F., 1999b. Hydrolysis of muscle myofibrillar proteins by *Lactobacillus curvatus* and *Lactobacillus sakei*. *International Journal of Food Microbiology*, 53, 115–125.
- Savedboworn, W., Riansa-ngawong, W., Sinlapacharoen, W., Pajakang, S., Patcharajarukit, B., Tipkanon, S., 2014. Assessment of probiotic properties in lactic acid bacteria isolated from fermented vegetables. *King Mongkut's University of Technology North Bangkok International Journal of Applied Science and Technology*, 7(4), 53-65.
- Schrezenmeir, J., de Vrese, M., 2001. Probiotics, prebiotics, and synbiotics—approaching a definition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2), 361-364.
- Sharma, K., Sharma, N., Sharma, R., 2016. Identification and evaluation of *in vitro* probiotic attributes of novel and potential strains of lactic acid bacteria isolated from traditional dairy products of North-West Himalayas. *Journal of Microbial and Biochemical Technology*, 2, 18-25.
- Shukla, R., Goyal, A., 2014. Probiotic potential of *Pediococcus pentosaceus* CRAG3 a new isolate from fermented cucumber. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 6, 11-21.
- Sımmaz, E., 2013. Pastırmadan laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve identifikasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Erzurum.
- Sifeeldein, A., Yuan, X., Dong, Z., Li, J., Youns, H., Shao, T., 2018. Characterization and identification of lactic acid bacteria by 16S rRNA gene sequence and their effect on the fermentation quality of elephant grass (*Pennisetum purpureum*) silage. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24(1), 123-130.
- Son, S. H., Jeon, H. L., Jeon, E. B., Lee, N. K., Park, Y. S., Kang, D. K., Paik, H. D., 2017. Potential probiotic *Lactobacillus plantarum* Ln4 from kimchi: Evaluation of β -galactosidase and antioxidant activities. *LWT-Food Science and Technology*, 85, 181-186.
- Spinnler, H.E., Corrieu, G., 1989, Automatic method to quantify starter activity based on pH measurement. *Journal Dairy Research*, 56, 755-764.
- Succi, M., Tremonte, P., Reale, A., Sorrentino, E., Grazia, L., Pacifico, S., Coppola, R., 2005. Bile salt and acid tolerance of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese. *FEMS Microbiology Letters*, 244(1), 129-137.
- Szekér, K., Németh, E., Kun, S., Beczner, J., Gálfi, P., 2007. Adhesion of lactic acid bacteria to Caco-2 cells-Evaluation of different detection methods. *Acta Alimentaria*, 36(3), 365-371.
- Tabasco, R., de Palencia, P. F., Fontecha, J., Peláez, C., Requena, T., 2014. Competition mechanisms of lactic acid bacteria and bifidobacteria: fermentative metabolism and colonization. *LWT-Food Science and Technology*, 55(2), 680-684.
- Taheur, F. B., Kouidhi, B., Fdhila, K., Elabed, H., Slama, R. B., Mahdouani, K., Chaieb, K., 2016. Anti-bacterial and anti-biofilm activity of probiotic bacteria against oral pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 97, 213-220.

- Temiz, A. 1999. Gıdalarda mikrobiyel gelişmeyi etkileyen faktörler. Gıda mikrobiyolojisi. Ed: Ünlütürk, A., Turantaş, F. 2.Baskı. 53-82s., İzmir.
- Toksoy, A., Beyatlı, Y., Aslım, B., 1999. Sucuk ve sosislerden izole edilen *Lactobacillus plantarum* suşlarının bazı metabolik ve antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 23, 533-540.
- Toldrá, F., 2002. Manufacturing of dry-cured ham. Dry-cured meat products, 27-62.
- Toledano, A., Jordano, R., López, C., Medina, L. M., 2011. Proteolytic activity of lactic acid bacteria strains and fungal biota for potential use as starter cultures in dry-cured ham. Journal of Food Protection, 74(5), 826-829.
- Torrestiana, B. S., de la Fuente, E. B., Lacroix, C., Choplin, L., 1994. Modelling the acidifying activity profile of *Lactobacillus bulgaricus* cultures. Applied Microbiology and Biotechnology, 41(2), 192-196.
- Tuomola, E.M., Ouwehand, A.C., Salminen, S.J., 2000. Chemical, physical and enzymatic pre-treatments of probiotic lactobacilli alter their adhesion to human intestinal mucus glycoproteins. International Journal of Food Microbiology, 60, 75-81.
- Tuomola, E.M., Salminen S.J., 1998. Adhesion of some probiotic and dairy *Lactobacillus* strains to Caco-2 cell cultures. International Journal of Food Microbiology, 41, 45-51.
- Turantaş, F., 1999. Fermentasyonda rol oynayan mikroorganizmalar. Gıda mikrobiyolojisi. Ed: A. Ünlütürk ve F. Turantaş, Bölüm 18, ss.425-445, Mengi Tan Basımevi, Çınarlı-İzmir.
- Turhan, İ., Öner, Z., 2014. Determination of starter culture properties of lactic acid bacteria isolated from cheese. Gıda, 39 (1), 9-15.
- Työppönen, S., Petäjä, E., Mattila-Sandholm, T., 2003. Bioprotectives and probiotics for dry sausages. International Journal of Food Microbiology, 83, 233- 244.
- Vankerckhoven, V., 2009. Probiotics: Safety, immunomodulation and effects on the human gastro-intestinal flora. Doctoral dissertation, University of Antwerpen, Antwerpen.
- Vanniyasingam, J., Kapilan, R., Vasantharuba, S., 2019. Isolation and characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from cow milk and milk products. AGRIEAST: Journal of Agricultural Sciences, 13(1), 32-43.
- Vélez, M. P., Hermans, K., Verhoeven, T. L. A., Lebeer, S. E., Vanderleyden, J., De Keersmaecker, S. C. J., 2007. Identification and characterization of starter lactic acid bacteria and probiotics from Columbian dairy products. Journal of Applied Microbiology, 103(3), 666-674.
- Verón, H. E., Di Risio, H. D., Isla, M. I., Torres, S., 2017. Isolation and selection of potential probiotic lactic acid bacteria from *Opuntia ficus-indica* fruits that grow in Northwest Argentina. LWT- Food Science and Technology, 84, 231-240.
- Victoria-León, T., Totosaus, A., Guerrero, I., Pérez-Chabela, M. L., 2006. Efecto de bacterias ácido lácticas termoresistentes en salchichas cocidas. CYTA-Journal of Food, 5(2), 135-141.
- Vidhyasagar, V., Jeevaratnam, K., 2013. Evaluation of *Pediococcus pentosaceus* strains isolated from Idly batter for probiotic properties *in vitro*. Journal of Functional Foods, 5(1), 235-243.

- Vinderola, C. G., Reinheimer, J. A., 2003. Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative “*in vitro*” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Research International*, 36(9-10), 895–904.
- Wu, H., Zhang, Y., Long, M., Tang, J., Yu, X., Wang, J., Zhang, J., 2014. Proteolysis and sensory properties of dry-cured bacon as affected by the partial substitution of sodium chloride with potassium chloride. *Meat Science*, 96(3), 1325-1331.
- Yaman, A., Gökalg, H., Çon, A. H., 1998. Some characteristics of lactic acid bacteria present in commercial sucuk samples. *Meat Science*, 49(4), 387-397.
- Yang, Y., Latorre, J. D., Khatri, B., Kwon, Y. M., Kong, B. W., Teague, K. D., Hernandez-Velasco, X., 2017. Characterization and evaluation of lactic acid bacteria candidates for intestinal epithelial permeability and *Salmonella* Typhimurium colonization in neonatal turkey poults. *Poultry Science*, 97(2), 515-521.
- Yuksekdag, Z. N., Aslim, B., 2010. Assessment of potential probiotic-and starter properties of *Pediococcus* spp. isolated from Turkish-type fermented sausages (sucuk). *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(1), 161-168.
- Zielińska, D., Kolożyn-Krajewska, D., 2018. Food-Origin lactic acid bacteria may exhibit probiotic properties. *BioMed Research International*, (2018).

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Tokat'da doğdu. 2008 yılında Erzurum Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölüm'ünde başladığı lisans eğitimini 2012 yılında tamamlayarak mezun oldu. Yüksek lisans eğitimine aynı yıl Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda başlamış ve 2014 yılında eğitimini tamamlamıştır. Kasım 2014 tarihinden beri Bayburt Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır. Doktora eğitimine 2015 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda başladı.