



**T.C.  
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SOFRALIK ZEYTİNLERDEN HALOFİLİK LAKTİK  
ASİT BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU,  
TANIMLANMASI VE TEKNOLOJİK  
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Seda TAHTACI**

**BURDUR, 2016**

**T.C.  
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SOFRALIK ZEYTİNLERDEN HALOFİLİK LAKTİK  
ASİT BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU,  
TANIMLANMASI VE TEKNOLOJİK  
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Seda TAHTACI**

**Danışman: Doç. Dr. Gülden BAŞYİĞİT KILIÇ**

**BURDUR, 2016**

## ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi / Doktora Tezi olarak sunduğum “**Sofralık Zeytinlerden Halofilik Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, Tanımlanması ve Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi**” başlıklı bu tezin;

- Kendi çalışmam olduğunu,
- Sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi,
- Bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi,
- Kullandığım verilerde değişiklik yapmadığımı,
- Tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı,
- Bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı,

bildirir, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

.... / .... / 2016

Seda TAHTACI

## **TEŞEKKÜR**

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, her konuda yardım ve desteğini esirgemeyen Danışman Hocam Sayın Doç. Dr. Gülden BAŞYİĞİT KILIÇ'a, çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan laboratuvar çalışma arkadaşlarım Ali SOYUÇOK, Sedef YÜCE, Sevda DARCAN ve Araş. Gör. Teslime EKİZ'e, araştırmalarım sırasında yardımını gördüğüm Uzman Biyolog Orhan YAVUZ'a, hayatımın her aşamasında yanımda olan ve yüksek lisans eğitimim boyunca da maddi ve manevi desteklerinden dolayı aileme ve benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyen nişanlım Mehmet Ali YALÇINKAYA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

0240-YL-14 nolu proje ile tez çalışmama maddi destek sağlayan Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne ve tez çalışmama 2210-D Sanayiye Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Bursu ile maddi olarak destek sağlayan TÜBİTAK'a çok teşekkür ederim.

**Nisan, 2016**

**Seda TAHTACI**

TEŞEKKÜR .....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
ŞEKİL DİZİNİ .....	iv
ÇİZELGE DİZİNİ .....	v
ŞİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ÖZET .....	vii
SUMMARY .....	ix
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1.Zeytin Fermantasyonu .....	4
2.2.HLAB Türleri .....	5
2.2.1. Laktobasiller .....	5
2.2.1.1. <i>Lactobacillus acidipiscis</i> .....	6
2.2.1.2. <i>Lactobacillus plantarum</i> .....	7
2.2.1.3. <i>Lactobacillus alimentarius</i> ve <i>Lactobacillus farciminis</i> .....	8
2.2.1.4. <i>Lactobacillus namurensis</i> .....	8
2.2.2. Enterokoklar .....	9
2.2.2.1. <i>Enterococcus faecium</i> .....	9
2.3.HLAB Türlerinin Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması .....	10
2.4. HLAB'ın Teknolojik Özellikleri .....	11
2.4.1. Bakterilerin Tuz Toleransı ve Gaz Oluşturma Özellikleri .....	11
2.4.2. Pektolitik Enzimler (Pektinazlar, Pektinolitik enzimler) .....	13
2.4.3. Lipolitik Enzimler (Lipazlar) .....	14
2.4.4. Biyojen Amin Üretimi (Dekarboksilaz Aktivitesi) .....	15
3. MATERYAL ve YÖNTEM .....	17
3.1. Materyal .....	17
3.2. Yöntem .....	17
3.2.1. Mikrobiyolojik Analizlerde Kullanılan Besiyerleri .....	17
3.2.2. Zeytin örneklerinden LAB İzolasyonu ve Sayımı .....	17
3.2.3. İzolatların Genetik Tanısının Yapılması .....	17
3.2.3.1. DNA Ekstraksiyonu .....	17
3.2.3.2. 16S rRNA Geninin Çoğaltılması .....	18
3.2.4. Farklı NaCl Konsantrasyonunda Bakteri Gelişimi ve Gaz Oluşumunun Belirlenmesi .....	22
3.2.5. İzolatların Lipolitik Aktivitelerinin Kalitatif Değerlendirmesi .....	23
3.2.6. İzolatların Lipolitik Aktivitelerinin Kantitatif Değerlendirmesi .....	23
3.2.7. İzolatların Pektolitik Enzim Aktivitesinin Kalitatif Değerlendirmesi .....	24
3.2.8. İzolatların Pektolitik Enzim Aktivitesinin Kantitatif Değerlendirmesi .....	24
3.2.9. İzolatların dekarboksilaz aktivitelerinin belirlenmesi .....	27
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....	27
4.1. Zeytin Örneklerinden LAB İzolasyonu ve Sayımı .....	27
4.2. İzolatların Genetik Tanısının Yapılması .....	30
4.3. Farklı NaCl Konsantrasyonunda Bakteri Gelişimi ve Gaz Oluşumunun Belirlenmesi .....	36
4.4. İzolatların Lipolitik Aktivitelerinin Kalitatif Değerlendirmesi .....	43
4.5. İzolatların Lipolitik Aktivitelerinin Kantitatif Değerlendirmesi .....	44
4.6. İzolatların Pektolitik Enzim Aktivitesinin Kalitatif Değerlendirmesi .....	47
4.7. İzolatların Pektolitik Enzim Aktivitesinin Kantitatif Değerlendirmesi .....	48

4.8. İzolatların Dekarboksilaz Aktivitelerinin Belirlenmesi .....	50
5. SONUÇ.....	57
6. KAYNAKLAR.....	59
EKLER.....	76
EK-8 Çözeltilerin Hazırlanışı .....	123
ÖZGEÇMİŞ.....	126



## ŞEKİL DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 2.1. <i>L. acidipiscis</i> 'in filogenetik ağaçtaki yeri .....	7
Şekil 4.1. %7 NaCl içeren MRS agar besiyerinde gelişen HLAB koloni görüntüsü .....	27
Şekil 4.2. <i>L. acidipiscis</i> 'in mikroskopik görüntüsü.....	28
Şekil 4.3. <i>L. plantarum</i> 'un mikroskopik görüntüsü .....	28
Şekil 4.4. Bakterilerin rRNA gen bölgelerinin AluI RE ile kesim sonrası RLFP bant profilleri .....	34
Şekil 4.5. Bakterilerin rRNA gen bölgelerinin MboI RE ile kesim sonrası RLFP bant profilleri .....	34
Şekil 4.6. Lipolitik aktivitenin kalitatif değerlendirmesinde gözle görülebilen çökelme ..	44
Şekil 4.7. Lipolitik aktivitenin kalibrasyon eğrisi ( $R^2 = 0,9925$ ) .....	44
Şekil 4.8. Pektolitik aktivite gösteren bakterilerin oluşturduğu zon .....	48
Şekil 4.9. Pektolitik aktivitenin kalibrasyon eğrisi ( $R^2 = 0,9492$ ).....	48
Şekil 4.10. Kültür yoğunluğunun Mc Farland 0,5 e ayarlanması .....	51
Şekil 4.11. Bakterilerin histidin ve lisin içeren besiyerindeki negatif zon görüntüsü.....	51
Şekil 4.12. Bakterilerin tirozin içeren besiyerindeki oluşturduğu pozitif zon görüntüsü....	52

## ÇİZELGE DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 3.1.</b> AluI ve MboI enzimleri ile elde edilen parçacıklar .....	21
<b>Tablo 4.1.</b> Bakterilerin tür tanısında % benzerlikleri.....	31
<b>Tablo 4.2.</b> %7 NaCl Konsantrasyonunda en düşük ve en yüksek değerde gelişen izolatlar .....	38
<b>Tablo 4.3.</b> %8 NaCl Konsantrasyonunda en düşük ve en yüksek değerde gelişen izolatlar.....	38
<b>Tablo 4.4.</b> %9 NaCl Konsantrasyonunda en düşük ve en yüksek değerde gelişen izolatlar.....	38
<b>Tablo 4.5.</b> %10 NaCl Konsantrasyonunda en düşük ve en yüksek değerde gelişen izolatlar.....	39
<b>EK 1 - Tablo 4.1.</b> Bakterilerin Sayım Sonucu.....	76
<b>EK 2 - Tablo 4.2.</b> Bakterilerin Genetik Tanısı .....	80
<b>EK 3 - Tablo 4.3.</b> Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi .....	85
<b>EK 4 - Tablo 4.4.</b> Bakterilerin Gaz Oluşturma Yetenekleri .....	105
<b>EK 5 - Tablo 4.5.</b> Bakterilerin Lipolitik Aktivitelerinin Kalitatif ve Kantitatif Ölçümleri .....	108
<b>EK 6 - Tablo 4.6.</b> Bakterilerin Pektolitik Aktivitelerinin Kalitatif ve Kantitatif Ölçümleri .....	113
<b>EK 7 - Tablo 4.7.</b> Bakterilerin Dekarboksilaz Aktivitelerinin Ölçümleri .....	118



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>bç</b>	: Baz çifti
<b>BSA</b>	: Sığır serum albümini
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	: Kalsiyum klorür
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	: Destile su
<b>DNS</b>	: 3,5- Dinitrosalisilik asit
<b>EMP</b>	: Embden Meyerhoff Parnas
<b>FDA</b>	: U.S. Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
<b>GRAS</b>	: Genel olarak güvenilir statüsü
<b>HLAB</b>	: Halofilik laktik asit bakterileri
<b>HMP</b>	: Hekzozmonofosfat
<b>KCl</b>	: Potasyum klorür
<b>KOB</b>	: Koloni oluşturan birim
<b>LAB</b>	: Laktik asit bakterileri
<b>LPS</b>	: Lipopolisakkarit
<b>M</b>	: Molar
<b>MEB</b>	: Milli Eğitim Bakanlığı
<b>mg</b>	: Miligram
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>mM</b>	: Milimolar
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	: Magnezyum klorür
<b>MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>	: Magnezyum sülfat heptahidrat
<b>MRS</b>	: de Man, Rogosa and Sharpe
<b>N</b>	: Normal
<b>NaCl</b>	: Sodyum klorür
<b>Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12H<sub>2</sub>O</b>	: di-Sodyum hidrojen fosfat dodekahidrat
<b>NH<sub>4</sub>Cl</b>	: Amonyum klorür
<b>NaOH</b>	: Sodyum hidroksit
<b>nm</b>	: Nanometre
<b>OD</b>	: Optik yoğunluk
<b>pH</b>	: Aktif hidrojen iyonu konsantrasyonunun eksi logaritması
<b>RE</b>	: Restriksiyon enzimi

<b>PZR</b>	: Polimeraz zincir reaksiyonu
<b>RFLP-PZR</b>	: Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi polimeraz zincir reaksiyonu analizi
<b>rpm</b>	: Dakikadaki devir sayısı
<b>TMAB</b>	: Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı
<b>U/ml</b>	: Ünite/mililitre
<b>v/v</b>	: Hacim/hacim
<b>w/v</b>	: Ağırlık/hacim
<b>µl</b>	: Mikrolitre
<b>°C</b>	: Santigrad derece
<b>16S rRNA</b>	: 16S ribozomal ribonükleik asit



# ÖZET

## Yüksek Lisans Tezi

### Sofralık Zeytinlerden Halofilik Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, Tanımlanması ve Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

Seda Tahtacı

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Gülden Başyigit Kılıç

Nisan, 2016

Bu çalışmada Burdur, Isparta, Antalya, Eskişehir ve İzmir illerinden direkt üreticiden, halk pazarlarından veya marketlerden alınmış 150 adet yeşil veya siyah zeytin örneği toplanmıştır. Zeytin örneklerinden 94 adet halofilik laktik asit bakterisi izole edilmiş ve izolatların farklı teknolojik özellikleri belirlenmiştir.

Zeytin örneklerinin 20 adedinde bakteri gelişimi gözlenmezken, en yüksek bakteri sayısı  $2,94 \times 10^6$  KOB/g olarak bulunmuştur. 88 adet bakteriden yalnızca *L. acidipiscis* Z49A suşunda gaz oluşumu pozitif olarak tespit edilmiştir. Genetik tanı sonuçlarına göre, çalışılan 94 izolataın, 52 adedinin *L. plantarum* (%55), 21 adedidinin *L. acidipiscis* (%22), 7 adedinin *E. faecium* (%7), 3 adedinin *S. hominis* (%3), 2 adedinin *L. alimentarius* (%2), 1 adedinin *L. farciminis* (%1), 1 adedinin *L. namurensis* (%1), 2 adedinin *Sphingomonas paucimobilis* (%2), 1 adedinin *Sphingomonas* sp. (%1) olduğu belirlenmiştir. 4 adet suşun ise tanısı yapılamamıştır. *L. acidipiscis* ve *E. faecium* %7 NaCl konsantrasyonunda iyi gelişim göstermiştir. *L. plantarum*, *L. alimentarius*, *L. farcimimis* ve *L. namurensis* %8 NaCl konsantrasyonunda da gelişim gösterebilmişlerdir.

*L. acidipiscis*, *L. alimentarius* ve *L. plantarum* türlerini içeren 15 suş 0,2 - 1,8 U/mL lipaz aktivitesi göstermiştir. *L. plantarum*, *L. acidipiscis* ve *L. alimentarius* suşlarını içeren toplam 9 adet izolat 3,24 - 5,29 U/mL pektolitik aktivite göstermiştir. *L. plantarum*, *L. acidipiscis* ve *L. alimentarius*'a ait toplam 14 adet suşun tirozin aminoasidini dekarboksile ederek pozitif dekarboksilaz aktivitesi gösterdiği ortaya konmuştur.

Suşlar tuzda gelişim, lipolitik, pektolitik ve dekarboksilaz aktivitelerine göre incelendiğinde *E. faecium* Z3a, *E. faecium* Z4b, *E. faecium* Z8a, *E. faecium* Z8b enterokok ve *L. plantarum* Z78B, *L. plantarum* Z107A, *L. alimentarius* Z112B, *L. namurensis* Z112C, *L. acidipiscis* Z112D laktobasil suşlarının sahip oldukları teknolojik özellikleri sayesinde zeytin fermantasyonunda kullanılmaları önerilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Zeytin, Halofilik laktik asit bakterileri, NaCl

Hazırlanan bu Yüksek Lisans tezi Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0240-YL-14 proje numarası ile desteklenmiştir.

# SUMMARY

M. Sc. Thesis

## Isolation, Identification and Determination of Technological Properties of The Halophilic Lactic Acid Bacteria Isolated From Table Olives

Seda Tahtacı

Mehmet Akif Ersoy University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

Supervisor: Doç. Dr. Gülden Başyigit Kılıç

April, 2016

In this study, 150 black or green olive samples were collected from direct manufacturers or local open markets from Burdur, Isparta, Antalya, Eskişehir and Izmir. 94 halophilic lactic acid bacteria were isolated from olive samples and different technological characteristics of these bacteria were determined.

The highest number of bacteria was  $2,94 \times 10^6$  CFU / g while there was no bacterial growth in 20 of the olive samples. Gas formation was determined as positive only in the *L. acidipiscis* Z49A strain out of the 88 bacteria. According to the genetic analysis of the 94 isolates, it was determined that 52 (55%) were *L. plantarum*, 21 (22%) were *L. acidipiscis*, 7 (7%) were *E. faecium*, 3 (3%) were *S. hominis*, 2 (2%) were *L. alimentarius*, 1 (1%) were *L. farciminis*, 1 (1%) were *L. namurensis*, 2 (2%) were *Sphingomonas paucimobilis* and 1 (1%) were *Sphingomonas* sp. 4 strains could not be identified. *L. acidipiscis* and *E. faecium* put forth good viability at 7% NaCl concentration. *L. plantarum*, *L. alimentarius*, *L. farcimimis* and *L. namurensis* were also able to tolerate 8% NaCl.

Fifteen strains that contain *L. acidipiscis*, *L. alimentarius* and *L. plantarum* put forth a lipolytic activity of 0,2 - 1,8 U/mL whereas nine *L. plantarum*, *L. acidipiscis* and *L. alimentarius* isolates put forth a pectolytic activity of 3,24 - 5,29 U/mL. It was put forth that a total of fourteen strains of *L. plantarum*, *L. acidipiscis* and *L. alimentarius* showed positive decarboxylase activity by decarboxylating the aminoacid of tyrosine .

When the strains were evaluated with regard to salt tolerance, lypolytic, pectolytic and decarboxylase activity tests; using *E. faecium* Z3a, *E. faecium* Z4b, *E. faecium* Z8a, *E. faecium* Z8b of *Enterococcus* strains and *L. plantarum* Z78B, *L. plantarum* Z107A, *L. alimentarius* Z112B, *L. namurensis* Z112C, *L. acidipiscis* Z112D of *Lactobacillus* strains in olive fermentations can be suggested thanks to the technological features of these bacteria.

**Keywords:** Olive, Halophilic lactic acid bacteria, NaCl

The present M. Sc. Thesis was supported by the Mehmet Akif Ersoy University BAP Commission under the project no of 0240-YL-14

# 1. GİRİŞ

Laktik asit bakterileri (LAB), Gram pozitif, fakültatif anaerob, katalaz negatif, hareketsiz, sitokrom içermeyen, spor oluşturmeyen, karbonhidrat fermantasyonu sırasında son ürün olarak laktik asit üreten bakterilerdir. LAB gıda fermantasyonlarındaki temel fonksiyonları sebebi ile oldukça önemli yere sahip olan mikroorganizmalardır. LAB, süt ve süt ürünlerinde, bitki ve bitki atıklarında, et ve et ürünlerinde, sıcakkanlı canlıların sindirim sisteminde bulunmaktadır (Schleifer, 1987; Stiles ve Holzapfel, 1997; Başığit Kılıç vd., 2009; Sağdıç vd., 2012). LAB morfolojilerine, glukoz fermantasyonuna, farklı sıcaklıklarda gelişme özelliklerine, laktik asit konfigürasyonları ve farklı karbonhidratları fermente edebilme özelliklerine göre sınıflandırılmaktadırlar. Gelişebilmek için yüksek besin içeriğine ihtiyaç duyan bu grup bakterilerin işlevi hammaddede bulunan şekerleri enerjiye ve laktik aside çevirmektir. LAB'ın bir diğer önemli özelliği de fermente süt ürünlerinin kendilerine özgü yapılarının beğenilen tat ve aromalarının oluşmasını sağlamak amacı ile başlatıcı kültür olarak kullanılmalarıdır. LAB'ın en önemli gruplarından birini oluşturan laktobasiller, metabolik son ürün olarak laktik asit üreterek pH'yi düşürmeleri ve aroma maddeleri üretmeleri ile fermente gıda teknolojisinde başlatıcı kültür olarak oldukça önemli yere sahip olan mikroorganizmalardır. Son yıllarda genetik çalışmalar sonucu ortaya çıkan sınıflandırmada gıdalarda önem arz eden başlıca LAB cinsleri: *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Weissella*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Atopobium*, *Alloiococcus*, *Aerococcus*, *Dolosicoccus*, *Dolosigranulum*, *Eremococcus*, *Facklamia*, *Globicatella*, *Helcococcus*, *Ignavigranum*, *Lactosphaera* ve *Carnobacterium*'dır (Holzapfel vd., 2006).

Halofilik laktik asit bakterileri (HLAB) ise, gelişmeleri için tuza gereksinim duyan ve yüksek tuz konsantrasyonunu (>%18) tolere edebilen bakteriler olarak tanımlanmaktadır. Halofilik mikroorganizmalar tuz-seven olarak da tanımlanmaktadır. Halofilik mikroorganizmaların tuz gereksinimleri ve tuz toleransları türlere göre farklılık göstermektedir. Larsen (1962), <%2 NaCl konsantrasyonunda gelişen bakterileri halofilik olmayan, %2-5 NaCl konsantrasyonunda gelişenleri hafif halofilik, %5-20 NaCl konsantrasyonunda gelişenleri orta halofilik ve %20-30 NaCl konsantrasyonunda gelişenleri ise aşırı halofilik mikroorganizmalar olarak tanımlamıştır.

HLAB, Uzak Doğu mutfağında önemli yer tutan soya sosu, kimçi, fermente siyah fasulye, hardal, ançüz gibi geleneksel fermente tuzlu gıdaların üretiminde

kullanılmaktadır. Ayrıca bu mikroorganizmalar tarafından üretilen  $\beta$ -karoten, poli- $\beta$ -hidroksialkonat, ekzopolisakkaritler, yüksek tuzlu ortamlarda ürettikleri enzimler, ektoin ve gliserol gibi belli özel bileşikler endüstride kullanılmaktadır (Oren, 2010; Rattanachaikunsopon ve Phumkhachorn, 2010).

HLAB tarafından üretilen  $\beta$ -karoten güçlü bir antioksidan olup gıdalarda, poli- $\beta$ -hidroksialkonat dönüştürülebilir plastik üretiminde, ekzopolisakkaritler ise yapıştırıcı ve ilaç sanayisinde kaplama materyali olarak, ayrıca tekstil, kozmetik sanayisinde kullanılmaktadır. Bu mikroorganizmalar tarafından yüksek tuzlu ortamlarda üretilen enzimler ve ektoin, yaşlanmayı yavaşlatıcı etkisi, kuru ve yıpranmış ciltleri onarma özelliği ile cilt bakım ürünlerinde, gliserol ise ilaç ve kozmetik sanayinde kullanılmaktadır (Yılmaz ve Yuvalı Çelik, 2007; Ye vd., 2008; Oren, 2010, Nwodo vd., 2012; Kunte vd.,2014). Fermente ürünlerden izole edilen HLAB arasında *Tetragenococcus* ve *Pediococcus* türlerinin baskın florayı oluşturdukları belirtilmektedir (Uchida vd., 2014). Yapılan çalışmalarda *T. halophilus*, *T. muriaticus*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Lactobacillus plantarum* türleri fermantasyonda yaygın olarak tespit edilmiştir. 2012 yılına kadar *T. halophilus*, *T. muriaticus*, *T. solitarius*, *T. koreensis* olmak üzere 4 tür olarak bilinen *Tetragenococcus* cinsine *T. osmosphilus* beşinci tür olarak eklenmiştir (Justé, 2014).

*Pediococcus* ve *Tetragenococcus* cinsleri Gram pozitif, katalaz ve oksidaz negatif, mikroaerofilik olan tipik LAB cinsleridir. Bu bakteriler homofermentatif olup, laktik asit üretirler, glukozdan CO<sub>2</sub> üretmez ve nitratı indirgemezler. L (+) laktik asit üreten *Pediococcus claussenii* dışında bütün pediyokoklar glukoz fermantasyonu sonunda ana ürün olarak DL laktik asit üretirken, tetragenokoklar L (+) laktik asit üretmektedir. Bu bakterilerin sahip oldukları peptidoglukan yapıları benzerdir. Hücreleri oval veya ince uzun olmayıp, tetrat şekilleri ile diğer LAB'tan ayrılmaktadır (Holzapfel vd., 2006; Lahtinen vd., 2011; Justé vd., 2014). Tetragenokoklar pediyokoklardan yüksek tuz konsantrasyonlarına toleransları (>%18 NaCl) ve pH 5.0-9.0 arasında gelişebilme özellikleri ile ayrılmaktadır. Pediyokoklar pH 5.0'da gelişme gösteren asidurik mikroorganizmalardır. Pediyokoklar fenotipik ve genotipik olarak *Lactobacillus casei/paracasei*'ye daha çok benzerlik gösterirken *Tetragenococcus* cinsine uzak akrabadır (Holzapfel vd., 2006). Halofilik tür olan *Pediococcus halophilus*'un *Enterococci* ve *Carnobacteria*'ya diğer pediyokoklardan daha fazla benzerlik gösterdiği belirlenmiş ve bu türün üyelerinin *Tetragenococcus halophilus* olarak isimlendirilmesi önerilmiştir (Holzapfel vd., 2006; Vos vd., 2011). Dobson vd., (2002) pediyokoklar arasındaki filogenetik ilişkiyi araştırmak için 16S rRNA gen analizleri ve HSP60 proteini

araştırmaları yapmıştır ve bu çalışma ile de *T. halophilus*'un diğer pedyokok türlerine filogenetik açıdan benzerlik göstermediği bir kez daha tespit edilmiştir.

Halotolerant veya halofilik mikroorganizmaların yüksek tuz konsantrasyonlarına hızlı bir şekilde adapte olabilme yetenekleri, bakterilerin canlılıklarını devam ettirebilmeleri için sahip olmaları gereken önemli bir özelliktir (Zajc vd., 2014). Mikroorganizmaların hücre dışında artan NaCl konsantrasyonlarına karşı sağladıkları adaptasyon, hücre sitoplazmalarında çeşitli küçük molekülleri biriktirmeleri ile dışarıda artan ozmotik basınca karşı koyma şeklinde gerçekleşmektedir. Tuz stresine diğer adıyla ozmolitlere karşı mikroorganizmaların verdiği yanıt olarak organik çözünenlerin biriktirilmesi mikroorganizmaların sahip oldukları ilginç mekanizmalar olarak belirtilmektedir. Ozmotik basıncın dengelenmesinde inorganik katyonlar ( $K^+$  ve bazı hücrelerde  $Na^+$ ) nemli rol oynamaktadır. Ozmolitler hücre tarafından sentezlenebilir ya da besi ortamından hücre içine taşınabilirler (Reshetnikov, 2011; Shivanand ve Mugeraya, 2011; Lpez-Prez, 2013).

Türkiye'de üretilen önemli tarımsal ürünlerden olan zeytinin tuz içinde korunması ve işlenmesi özellikle Akdeniz lkelerinde çok uzun yıllardır uygulanan eski bir yöntemdir. Zeytin fermantasyonunda zeytin içeriği, pH, tuz konsantrasyonu ve bakteriyel flora önemli etkenlerdendir. Mikroflora yoğunluğu zeytin fermantasyonu ve son ürün kalitesini etkileyen çok önemli bir faktördür (zay ve Borcaklı, 1995). Bu sebeple, zeytin mikroflorasında mevcut yararlı mikroorganizmaların zeytin etindeki serbest şekerleri parçalayarak laktik asit oluşturmaları sonucu zeytinin yenebilir hale getiren kalite unsurları için mikroorganizmaların faaliyetleri başarılı bir ürün geliştirmede önemli yer tutmaktadır (MEB, 2008). Zeytin fermantasyonundaki yüksek tuz konsantrasyonuna dayanıklı mikroorganizma grubu ise HLAB'tır.

Yapılan bu araştırma Burdur ve yöresinde direkt üreticiden ve zeytin fabrikalarından alınan örneklerden HLAB izole edilmesi ve izolatların farklı teknolojik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızda 150 adet siyah veya yeşil zeytin rneği ile çalışılmış ve 95 adet HLAB izole edilmiş, genetik tanımlamaları yapılmış ve bu bakterilerin farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişimi, lipolitik, pektolitik ve dekarboksilaz aktiviteleri gibi teknolojik özellikleri belirlenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Zeytin Fermantasyonu

Sofralık zeytinler dünya ekonomisinde önemli yere sahip fermente sebzelerden biridir. Sofralık zeytinler tuzlama, fermantasyon veya asidifikasyon kombinasyonu yapılarak hazırlanan ve muhafaza edilen salamura sebzeler olarak tanımlanmaktadır (Corsetti vd., 2012). Ancak, zeytinin organik asitlerle veya tuz ile hazırlanmış salamura ürün veya fermente edilmiş ürün olup olmadığı ise tartışılmakta olan bir konudur (Heperkan, 2013).

Herhangi bir işlem uygulanmadan ağaçtan toplanan zeytinler acıdır. Toplanan zeytinlere uygulanabilecek farklı işlemler mevcuttur, ancak ekonomik uygunluğa göre genellikle İspanyol, Kaliforniya ve Yunan tipi gibi farklı yöntemler dikkat çekmektedir. Bütün yöntemlerde meyveler, kendilerini koruyan ve lezzeti artıran tuzlu salamurada bekletilmektedir (Brenes, 2004).

Zeytin önemli biyolojik özelliklere sahip fenolik maddelerce zengindir. Bu fenolik bileşenlerin başlıcası oleuropeindir. Oleuropein, zeytin meyvesinin ilk dönemlerinde meyvede daha fazla bulunan, olgunlaşmanın ilerlemesi ile zamanla metabolize olarak miktarı azalan ve meyveye acılık veren bir maddedir. Zeytinin hasattan hemen sonra tüketilebilir nitelikte olamamasından sorumlu olan bu glikozit, suda çözünebilme özelliğine sahiptir (Fleming vd, 1973; Yıldız ve Uylaşer, 2011).

Oleuropein, klasik salamura yöntemi, alkali uygulaması, enzimatik yöntem ya da mikroorganizmalarla hidrolize edilerek zeytinden uzaklaştırılabilmektedir (Yıldız ve Uylaşer, 2011). Zeytinin direkt tüketimi için oleuropeinin glukoza hidrolize olarak acılığının giderilmesi ve elenolik asit ve p-3,4-dihidroksifeniletıl alkol gibi daha basit bileşenlere dönüştürülmesi gerekmektedir. Bu dönüşüm de zeytin fermantasyonunda salamura safhasını gerektirmektedir. Tuzlu suda zeytinden şekerin ayrılmasını metabolize ederek asit üretmeleri sebebiyle LAB'ın kullanımı olgun zeytinlerin korunması için tavsiye edilmektedir. Bu mikroorganizmaların tuzlu sudaki metabolik aktiviteleri sonucu üretilen asidin, ürünün korunmasına yardım etmesinin yanı sıra, mikroorganizmalar, direkt olarak salamurada zeytindeki oleuropeini karbon kaynağı olarak kullanarak oleuropeinin hidrolize olmasını da sağlamaktadır (Ciafardini vd., 1994). Genel olarak fermantasyon homofermantatif ve heterofermantatif LAB ve/veya mayalar ile gerçekleştirilir ve fermantasyon, zeytinin çeşidini, endüstriyel ve tarımsal uygulamalara bağlıdır. Başlangıçta ve daha sonra meydana gelen değişiklikler fermantasyonda görev alan ve ürünün



karakteristik özelliği için gerekli olan mikroorganizmaların bir mikrobiyal dizi oluşturmalarına öncülük eder. Gerekli çevresel koşullardan gelen herhangi bir değişiklik mikrobiyal dengeyi değiştirerek sorunlu (hatalı) ürün oluşumuna neden olabilir. Normal şartlar altında ürünün son pH'sı, ortama asetik asit, laktik asit ve sitrik asit gibi organik asitlerin ilavesi ve depolama sıcaklığına bağlı olarak yaklaşık 3,8 - 4,2 toplam titre edilebilir asitlik, %0,4 - 0,7 laktik asit, kül miktarı 0,09-0,11N ve tuz konsantrasyonu %4 - 8 (w/v) değişen aralıklarda olmalıdır. İşlemin başlıca amacı zeytindeki oluropein gibi bazı fenolik bileşiklerin hidroliz edilmesi ile meyvenin acılığının giderilmesi, son ürünün organoleptik özelliklerinin geliştirilmesi ve koruma etkisinin gerçekleştirilmesidir (Corsetti vd., 2012).

Sofralık zeytinler iyi geliştirilmiş işlemlere göre İspanyol tipi yeşil zeytin, doğal siyah zeytin olarak salamurada ve olgun zeytinler olarak üretilir. Doğal olarak üretilen siyah zeytinlerde mayalar ve LAB'lar fermantasyonda rol oynarlar, fakat İspanyol tipi zeytinlerde fermantasyonu LAB'lar gerçekleştirir. Diğer işleme yöntemlerinde ise mayalar ve LAB'lar arasında rekabet olduğu bildirilmiştir. Tuzlu su eklenmeden önceki mikrobiyal florada görülen bu yarış fermantasyonun dinamiğini ve ürünün kalitesini etkileyen önemli faktörlerden biridir. Ayrıca doğal florada bulunan LAB da zeytin fermantasyonunda önemli rol oynamaktadır. Sofralık zeytinlerden izole edilen başlıca cins *Lactobacillus*'tur. *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* ve *Lactococcus* cinsleri ise daha az sıklıkla izole edilmiştir. Çoğu zeytin fermantasyonunda, *L. plantarum* ve *L. pentosus* türleri baskındır, ancak zeytin çeşidine, işleme metodu ve coğrafik alana göre diğer LAB de fermantasyonda rol oynayabilmektedir (Hurtado, 2012). Fermente zeytinlerden *Leu. mesenteroides*, *Leu. pseudomesenteroides* veya *P. pentosaceus* türleri de izole edilmiştir (Rodríguez vd., 2009).

## **2.2. HLAB Türleri**

### **2.2.1. Laktobasiller**

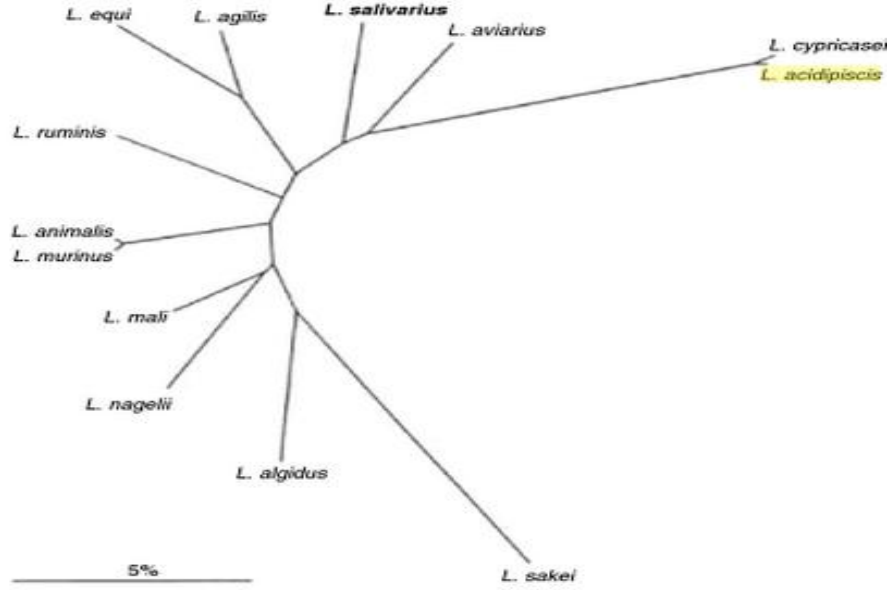
*Lactobacillus* türleri insan beslenmesi ve gıda mikrobiyolojisinde fermente gıda üretiminde başlatıcı kültür veya gıda koruyucusu olarak kullanılmaları açısından önemlidir. İnsanların ve hayvanların sindirim sistemlerinde bulunabilen türler, süt ürünleri, sebzeler, ekşi hamur gibi bazı kaynaklardan da izole edilebilmektedirler. Gram pozitif, katalaz negatif, sporsuz olan, karbonhidrat metabolizması sonucunda laktik asit üreten laktobasiller diğer LAB arasında GRAS (genel olarak güvenilir) statüsüne ait türler

içermektedir. Laktobasiller, genellikle aerotolerant veya anaerobik, asidurik veya asidofilik özellik göstermektedir (Salveti vd., 2012).

### 2.2.1.1. *Lactobacillus acidipiscis*

*L. acidipiscis* tür adı, ‘‘acidus’’, asitli anlamında, ‘‘piscis’’ ise bu türün izolasyon kaynağı olan (asitli balık) ekşi balık olarak belirtilen ‘‘piscis’’ isminden gelmektedir. Mikroaerofilik özellik gösteren *L. acidipiscis*, D-glukozu homofermantatif olarak kullanıp, glukozdan gaz oluşturmamaktadır. Glukozdan L-laktik asit üreten, katalaz negatif olan *L. acidipiscis*, nitratı indirgeyemeyip, arjinin, eskülin ve jelatini hidroliz edememektedir. 25-37 °C sıcaklık aralıklarında gelişme gösterirken 15 veya 42 °C’de gelişmemektedir. pH 4,0 veya pH 8,5 aralıklarında da gelişme göstermemektedirler. *L. acidipiscis* türü %10 NaCl konsantrasyonunda gelişme gösterebilirken, bazı suşları %12 NaCl konsantrasyonunda da gelişebilmektedir. D-fruktoz, D-galaktoz, D-glukoz ve D-mannozdan asit üretirler fakat gelişmeleri için kalsiyum pantotenattan asit üretemezler. Hücreler Gram pozitif, çubuk şeklinde, hareketsiz, spor oluşturmayan, tekli veya çift zincir şeklinde gözlenen yapılardan oluşmaktadır. Bugüne kadar %10 NaCl’de geliştiği belirtilen, tanımlanmış *L. acidipiscis* suşlarının diğer L-laktik asit üreten *Lactobacillus* türlerinden ayrıldığı ve *L. farciminis*’e daha yakın görüldüğü belirtilmiştir, *L. acidipiscis*’in belirlenmiş olan DNA-DNA ilişkisi de onun laktik asit üreten diğer *Lactobacillus* türlerinden ayrılmasını desteklemektedir (Tanasupawat vd., 2000).

*L. acidipiscis* 2000 yılında Tayland’ta fermente balık (plara ve pla-chom) örneklerinden tanımlanmıştır (Naser vd., 2000). *Lactobacillus*’un farklı türleri arasında *L. acidipiscis*’in *L. cypricasei* ile %99.7 oranında benzer olduğu 16S rRNA dizi analizleri ile yapılan çalışmalarda saptanmıştır (Şekil 2.1) (Falkow vd., 2006).



Şekil 2.1. *L. acidipiscis*'in filogenetik ağaçtaki yeri (Falkow vd., 2006)

### 2.2.1.2. *Lactobacillus plantarum*

*L. plantarum* türü ilk olarak Orla-Jensen ve Holland tarafından *Streptobacterium plantarum* olarak tayin edilmiştir. Ayrıca tür, Pederson tarafından substrat olarak sebzeleri kullanma yeteneğine sahip olan LAB türü olarak tanımlanmıştır. 1980'li yıllarda genetik çalışmalardan önce sadece biyokimyasal tanımlama testleri ile fenotipik olarak benzerlik göstermeleri nedeniyle *L. plantarum*'un, *L. pentosus*, *L. arabinosus* ve *L. rudensis* ile aynı türler olduğu ifade edilmiştir. *L. plantarum* 15-45 °C sıcaklık aralığında gelişme yeteneğine sahip mezofilik bir LAB türüdür. %4-6 NaCl konsantrasyonunda ve pH 4-9 arasında gelişme yeteneğinde olduğu bilinmektedir. *L. plantarum*, çeşitli bitkisel kaynaklardan, süt, et ve balık ürünlerinden, kaynak suları ve atık suları, insan ve hayvanların mide ve bağırsak sistemlerinden izole edilebilmektedir (Song vd., 1999; Sönmez vd., 1999; Todorov ve Franco., 2010; Başığit Kılıç vd., 2013). Bitkisel materyaller LAB'ın doğal kaynaklarıdır. *L. plantarum*, *Leuconostoc* ve *Enterococcus* gibi cinslere ait bazı türler ile beraber farklı bitki yüzeylerinde düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadırlar. *L. plantarum*, lahana, salatalık turşusu ve yeşil zeytin hazırlanmasında kullanılmaktadır. Bu ürünlerde *L. plantarum*, *Leu. mesenteroides* türleri diğer mikroorganizmalara kıyasla sahip olduğu özel ekolojik sistem nedeniyle yüksek aside olan toleransından dolayı daha yüksek düzeylerde bulunmaktadır. *L. plantarum*'un ortamda bulunması son ürünün karakteristik özelliğinin oluşmasında önemlidir ve fermente

sebzelerin üretiminde başlatıcı kültür olarak kullanılabilir (Todorov ve Franco, 2010).

### **2.2.1.3. *Lactobacillus alimentarius* ve *Lactobacillus farciminis***

1983 yılında Reuter tarafından tanımlanmış olan homofermantatif *L. alimentarius* ve zorunlu homofermantatif *L. farciminis*, rRNA analizlerine göre birbirleriyle %96 benzerlik gösteren iki LAB türüdür. Her iki türün de gıdalarda bozulmaya sebep olup olmadığına dair şu ana kadar herhangi net bir bilgi bulunmamaktadır (Lyhs vd., 2001; Rachman, 2003). İki tür de deniz ürünleri ve et ürünlerinden izole edilmiştir (Tanasupawat vd., 1998; Lyhs vd., 2001; Paludan-Müller vd., 2002). Yapılan bazı çalışmalarda çiğ sucukta, ekşi hamurda ve soğuk fümelenmiş somonda da bu türlerin tespit edildiği belirtilmiştir. Tanasupawat vd. (2002) tarafından yapılan çalışmada *L. farciminis*'in Tayland' ta soya sosu püresinden de izole edildiği tespit edilmiştir. Gram pozitif, ince çubuk şeklinde ve hareketsiz olan *L. farciminis*, %10 ve %12 NaCl konsantrasyonunda gelişebilirken, Gram pozitif, kısa, ince çubuk şeklinde ve hareketsiz olan *L. alimentarius* ise %10 NaCl konsantrasyonunda gelişebilmektedir (Ljungh ve Wadström, 2009; Holzapfel ve Wood, 1995). Bu bakterilerin belirtilen tuz konsantrasyonlarında gelişebilmeleri pekçok et ürününde kalite geliştirici ve biyokoruyucu olarak rol almalarını sağlamaktadır. Yapılan bir çalışmada, NaCl, glukono-delta-lakton ve sitrik asit kombinasyonunun sucuk üretimi boyunca mikrobiyal bozulmayı kontrol etmesi ve ürünün raf ömrüne katkı sağlaması açısından bir avantaj oluşturduğu belirtilmiştir. Bu stres şartlarında gelişim gösterebilen *L. alimentarius*'un kullanımının ise ürünün kalitesinde belirleyici faktör olduğu belirtilmiştir (Lemay vd., 2000).

### **2.2.1.4. *Lactobacillus namurensis***

*L. namurensis* tür adı türün izole edildiği Belçika'nın Namur şehrinden gelmektedir. Gram pozitif, katalaz negatif, spor oluşturmeyen, çift halinde veya tekli çubuk şeklinde, hareketsiz bakterilerdir. 15 °C'de %5, %6 ve %7 NaCl konsantrasyonunda gelişme gösterebilen bu bakteriler, 45 °C sıcaklıkta ise gelişmemektedir (Scheirlinck vd., 2007). *L. namurensis*'in henüz yeni tespit edilmiş bir tür olmasından dolayı, yapılmış fazla çalışma bulunmamakla birlikte, Kato vd. (2014) tarafından yapılmış bir araştırmada pirinç kepeğinin fermente edilmesiyle hazırlanmış bir Japon yiyeceği olan nukadokodan izole edilen baskın LAB arasında bulunmuştur ve önemli düzeyde laktik asit ürettiği tespit

edilmiştir. Bu durum da *L. namurensis*'in gıdalarda koruyucu olarak kullanılmasının faydalı olabileceği konusuna dikkat çekmiştir.

### 2.2.2. Enterokoklar

HLAB olarak tanımlanan bir diğer cins olan enterokoklar Gram pozitif, spor oluşturmeyen, katalaz negatif, oksidaz negatif ve fakültatif anaerob, kok şeklindeki mikroorganizmalardır. Enterokokların büyük çoğunluğu 10 °C ve 45 °C'de, %6,5 NaCl konsantrasyonunda, pH 9,6'da gelişebilmeleri ve 60 °C'de 30 dakika süreyle canlılıklarını korumaları ile diğer LAB türlerinden ayrılmaktadır (Hardie ve Whiley, 1997; Morrison vd., 1997). Enterokoklar, peynir, sucuk gibi bazı fermente gıdalarda organoleptik özelliklerin gelişimine yaptıkları katkıdan dolayı önemli rol oynamaktadır. Bazı enterokoklar ise bakteriyosin üretimiyle kazandıkları inhibe edici özellik sayesinde gıdalarda koruyucu etki yaratarak gıda endüstrisinde önemli etki oluşturmaktadır. Yüksek konsantrasyonda tuza dayanıklı olmaları sebebiyle de tuzlanmış balık gibi gıda ürünlerinde de avantaja sahiptir (Sarra vd., 2013). Ayrıca proteolitik ve lipolitik aktivite, sitrat kullanımı gibi spesifik biyokimyasal özelliklere sahip olup, uçucu aroma bileşenleri üretebilmekte ve ürünlerde farklı karakteristik özelliklerin oluşmasına katkı sağlamaktadırlar (De Vuyst, 2000; Ambadoyiannis vd., 2004).

Daha önceden *Streptococcus* cinsine ait olduğu bilinen *S. faecalis*, *S. faecium*, *S. avium* ve *S. gallinarum* türleri yapılan 16S rRNA analizleri sonucunda *Enterococcus* cinsine alınmıştır ve *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. avium* ve *E. gallinarum* olarak isimlendirilmiştir (Schleifer ve Killper-Bälz, 1987).

#### 2.2.2.1. *Enterococcus faecium*

Enterokokların doğru tanımlanması hem tıp hem de gıda mikrobiyolojisi açısından büyük önem taşımaktadır. Enterokokların bazı suşlarının zeytinlerde ve Afrika ürünlerindeki doğal fermantasyonlar ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Olasupo vd., 1994; Franz vd., 1996; Franz vd., 1999). *E. faecium* insan ve hayvanların gastrointestinal sistemlerinde yer alan bir türdür. Bu türün, tümör oluşumunu engellemesi, bağışıklık sistemini geliştirmesi, diyare tedavisi ve hiper kolesterolü azaltma gibi insan sağlığı üzerindeki faydalı etkilerinden dolayı probiyotik olma özellikleri üzerine daha çok dikkat çekilmiştir. *E. faecium* bakteriyosin üretimi ile peynir ve sebzelerin fermantasyonu sırasında da kullanılmaktadır. Aynı zamanda başlatıcı kültür olarak kullanımı ile de istenmeyen mikroorganizmaların gelişimini engellemektedirler (Kang ve Lee, 2005).

### 2.3. HLAB Türlerinin Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması

Mikroorganizmaların moleküler yöntemler ile tür düzeyinde tanımlanmaları gelişmekte olan teknolojinin gıda mikrobiyolojisi alanında sunduğu önemli yeniliklerdendir. Klasik tanı yöntemlerinin uzun sürede sonuç vermesi, güvenilirlik ve daha fazla insan gücü gerektirmesi gibi bazı dezavantajlar sebebiyle moleküler tanımlama tekniklerine her geçen gün bir yenisi eklenmektedir ve bu yöntemler farklı alanlardaki çalışmalarda fayda sağlamaktadır (Moura vd., 2007). Günümüzde daha hassas ve güvenilirliği yüksek olan moleküler yöntemlerin kullanımını etkileyen en önemli faktör, maliyet ve deneyimli personel ihtiyacına gerek duymasındır. Moleküler teknikler, kolay uygulanabilir olması, besi ortamı gibi dış faktörlerin etkileyebileceği ortamlara gereksinim duymaması, tekrarlanabilir olması, sonuçların yorumlanmasının kolay olması gibi sebeplerle de son yıllarda oldukça fazla tercih edilmektedir (Moschetti vd., 1998; Bush ve Nitschko 1999; Randazzo vd., 2009; Singh vd., 2009). Woese vd. (1985; 1987), bakterilerin ve diğer yaşam formlarının filogenetik ilişkisinin, genetik şifrenin değişmeyen bir bölgesinin kıyaslanması ile saptanabilir olduğunu ortaya koymuştur. Mikroorganizmaların tür tanısında kullanılan bu değişmeyen bölge 16S rRNA (ribozomal RNA)'yı kodlayan gen olup, bu geni kodlayan DNA dizisi olan 16S DNA dizi analizi yöntemi olarak kullanılmaktadır (Collins vd., 1991; Osmanağaoğlu vd., 2011). Mikroorganizmaların 16S rRNA dizilerinin karşılaştırılması ile aralarındaki evrimsel ilişki belirlenebilmektedir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile 16S rRNA genlerinin dizi analizi, bilinmeyen bir suşun tek bir basamak ile tanımlanmasında kullanılan etkili bir yöntemdir. Restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi polimeraz zincir reaksiyonu analizi (RFLP-PZR) ise, PZR ile spesifik primerler aracılığıyla çoğaltılmış olan gen bölgelerinin hedef bölgeye uygun seçilen restriksiyon enzimleri ile kesilip, elde edilen DNA parçacıklarının agaroz jel elektroforezinde ayrılması ile oluşan bant bölgelerinin incelenmesi şeklinde gerçekleşmektedir. PZR ile çoğaltılmış gen bölgelerinin RFLP yöntemi ile DNA'nın parçalara ayrılıp, uygun veri tabanı kullanarak daha önceden elde edilmiş sonuçlarla kıyaslama yapılarak mikroorganizmaların tür tanısının yapılması oldukça yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (Alvarez-Barrientos vd., 2000; Mohania vd., 2008; Osmanağaoğlu vd., 2011).

16S rRNA yöntemi ile mikroorganizmaların tanımlanmasında ise DNA izolasyonu, 16S ileri (5'-3') ve 16S geri (3'-5') primerleri kullanılarak izole edilen DNA'nın polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılması, çoğaltılan DNA'nın baz dizi sırasının

belirlenmesi ve belirlenen bu sıranın, veri tabanında bulunan mikroorganizmalara ait baz dizi sıraları ile karşılaştırılarak isimlendirilmesi aşamalarından oluşmaktadır (Sanger vd., 1977; Sambrook ve Russell, 2001; Brigidi vd., 2003).

Satomi vd. (1997) tarafından Japonya’da yapılan bir araştırmada, kalamar karaciğer sosundan izole edilmiş olan bakterilerin DNA-DNA hibridizasyon çalışmaları sayesinde *T. muriaticus* olarak önerilen yeni bir *Tetragenococcus* türünü temsil ettiğini göstermiştir. Deveau ve Moineau (2003) tarafından yapılan bir çalışmada da RFLP tabanlı gruplama analizleri ile *Lactococcus lactis* suşları hızlı bir şekilde tanımlanmıştır. Rodas vd. (2003)’nin yaptığı bir çalışmada ise bakterilerin 16S rDNA bölgelerini çoğaltma ve daha sonra restriksiyon enzimleriyle kesme işlemi ile üzüm ve şaraptan izole ettiği LAB’ı tanımlamıştır. Kim vd. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada ise 16S rDNA gen dizi analizleri ile geleneksel Kore’ye ait fermente deniz ürününden izole edilmiş bakterilerin *T. halophilus* ve *T. muriaticus* olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda sıklıkla tercih edilmekte olan 16S rDNA-RFLP moleküler tanımlama yöntemi ile LAB kolay ve hızlı bir şekilde ayırt edilebilmektedir (Ennahar ve Cai, 2005; Mohania vd., 2008). Sonuç olarak; günümüzde geliştirilen çeşitli moleküler yöntemler, mikroorganizmaların tanımlanmasında kullanılan ve beraberinde bazı problemleri de getiren klasik yöntemlere bir alternatif olmaktadır. Geliştirilmekte olan bu moleküler yöntemler ile bilim ve endüstri alanlarında önemli gelişmeler sağlanacağı yanında sağlık alanında yapılan analizlerin daha hızlı ve güvenilir olmasına katkı sağlayacağı belirtilmektedir (Gao ve Moore, 1996; Boeckh ve Boivin, 1998; Osmanağaoğlu vd., 2011).

## **2.4. HLAB’ın Teknolojik Özellikleri**

### **2.4.1. Bakterilerin Tuz Toleransı ve Gaz Oluşturma Özellikleri**

Tuzun, turşularda ve konserve gıdalarda kullanılan en önemli katkı maddelerinden biri olduğu bilinmektedir. Tuz, gıdalarda zararlı bakterilerin gelişmelerini engelleyerek, arzu edilen fermantasyonun gerçekleşmesine katkı sağlamaktadır. Gıdalara eklenen tuzun ve tuzlu ortamda gelişebilen HLAB’ın, istenmeyen mikroorganizmaların gelişimini engellemelerinin yanında, fermantasyon sonunda ürün kalitesine de katkı sağladığı belirtilmektedir (Cai vd., 1997).

Halotolerant veya halofilik mikroorganizmaların yüksek tuz konsantrasyonlarına hızlı bir şekilde adapte olabilme yetenekleri, bakterilerin canlılıklarının devamlılığı için sahip olmaları gereken önemli bir özelliktir (Zajc vd., 2014). Mikroorganizmaların hücre

dışında artan NaCl konsantrasyonlarına karşı sağladıkları adaptasyon, hücre sitoplazmalarında çeşitli küçük molekülleri biriktirmeleri ile dışarıda artan ozmotik basınca karşı koyma şeklinde gerçekleşmektedir. Ozmotik basıncın dengelenmesinde inorganik katyonlar ( $K^+$  ve bazı hücrelerde  $Na^+$ ) önemli rol oynamaktadır (Reshetnikov, 2011; Shivanand ve Mugeraya, 2011; López-Pérez, 2013).

Halofilik bakterilerin hücre içi tuz konsantrasyonları dış ortamın tuz derişimine eşit kabul edilmektedir. Geliştikleri ortamda yüksek tuz derişimi olan bu bakterilerin, normal bir hücrenin proteinlerinin bu derişimde denatüre olması ve enzimlerin inaktif hale geçmesi beklenmektedir, fakat halofilik bakterilerin enzimleri de tuz toleransı gösterir. Aşırı halofilik bakterilerin enzimleri de yüksek tuz derişimlerinde aktiftir. Eğer ortamda KCl varsa aktiviteleri daha da artar. Protein sentezleri de KCl'ye gereksinim duyar (Kushner, 1978; Lanyi vd., 1979; Van Qua vd., 1981, Aksöz, 1985). Halofilik mikroorganizmaların tuza gösterdikleri toleransı açıklayan 2 varsayım belirtilmektedir. Mikroorganizmalar, ya hücre içi tuz derişimini dış ortam tuz derişimine eşit tutarak ya da mikroorganizmaların hücre içi ortamdan tuzu uzak tutmaları ile tuz stresine tolerans gösterilebilmektedir (Bayley, 1979).

Epstein ve Schultz (1965) tarafından yapılan bir çalışmada besi ortamındaki ozmotik basıncın artırılmasına bağlı olarak *Escherichia coli*'nin hücre içindeki  $K^+$  konsantrasyonunda hızlı bir şekilde artış meydana geldiği belirlenmiştir. Whatmore vd. (1990) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise *Bacillus subtilis*'in çevredeki aniden artan osmotik basınca karşı verdiği cevap ilk başta hızlı bir biçimde  $K^+$  alımı ve onu takiben de çözünebilir prolin maddesini sentezleyip, biriktirmek olmuştur. Buna karşın Glaasker vd. (1996)'nin yaptığı çalışmada ise *L. plantarum*'un çevrede artan tuz konsantrasyonlarında verdiği ilk cevabın glisin, betain, prolin ve glutamat gibi çözünebilir molekülleri biriktirmek olduğu tespit edilmiştir.

LAB, glikozu parçalayıp laktik aside dönüşümünü karbon metabolizmalarına göre homofermentatif ve heterofermentatif olmak üzere 2 şekilde yapmaktadırlar. Homofermantatif bakteriler şekerin laktik aside hızlı bir şekilde dönüşümünü sağlayan basit bir metabolizmaya sahip mikroorganizmalar olup, şeker kaynağını Embden Meyerhoff Parnas (EMP) yolunu kullanarak parçalayarak, %90 laktik asit, %10  $CO_2$  oluşturan bakteriler olarak tanımlanmaktadırlar. Heterofermentatif LAB ise şeker kaynağını HMP (heksozmonofosfat) yoluyla parçalayıp, laktik asit yanında, etanol, asetik asit ve  $CO_2$  gibi yan ürünler oluşturulabilen mikroorganizmalar olarak tanımlanırlar. LAB, sahip oldukları bu metabolik özellikler ile gıda endüstrisinde ürünün korunması, duyuusal



özelliklerin ve besin değerlerinin geliştirilmesini sağlarlar (Kok, 1990; Bulut, 2003; Hugenholtz, 2008, Evren vd., 2011). Homofermantatif bazı laktobasil türleri ve *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococci* türlerinin çoğu EMP metabolik yolunu kullanmaktadır. *Leuconostoc*, bazı *Lactobacillus*, *Oenococci* ve *Weissella* türleri ise heterofermantatif LAB türleri arasında yer almaktadır. *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus* homofermantatif, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. sake*, *L. bifementas*, *L. brevis* ve *L. fermentum* gibi *Lactobacillus* türleri ise heterofermantatif LAB grubuna dahil edilmektedir (Kandler ve Weiss, 1986; Schleifer, 1987; Başığit, 2004; Todar, 2015).

#### **2.4.2. Pektolitik Enzimler (Pektinazlar, Pektinolitik enzimler)**

Pektik substratları parçalayan enzimler pektinazlar veya pektinolitik enzimler olarak tanımlanmaktadır. Pektinazlar, pektin içeren substratlara karşı gösterdikleri aktiviteye göre üç ana gruba ayrılmaktadırlar. Bunlardan poligalakturonaz ve pektat liyaz kendi polimerlerinin molekül zincirlerini parçalarken, pektin metil esteraz grubu galakturonat ünitelerinin metil ester gruplarını hidrolize eder ve metanolü serbest bırakır (Tariq vd., 2012).

Pektinazlar uzun karbon zincirlerinin glikozidik bağlarını kırarak ve metoksil gruplarını bölerek pektik maddelere etki ederler. Endüstride oldukça önemli olan pektinolitik enzimler, gıda işleme süreçlerinde gereklidir, özellikle meyve sularının ekstraksiyon ve berraklaştırılmasında, yağ ekstraksiyonunda, bitkisel materyallerden pigment eldesinde, tekstil, ilaç, deterjan, deri ve kağıt endüstrisinde önemli yere sahiptir (Tariq vd., 2012). Gıda işleme sürecinde önemli rol oynayan pektinazlar, maserasyon (yumuşama), sıvılaşma ve sebze dokularının ekstraksiyonunda rol oynamaktadırlar (Panda vd., 1999).

Pektinazlar bitki, hayvan ve mikroorganizmalar gibi farklı kaynaklardan elde edilmektedir. Mikroorganizmaların iklim ve mevsimsel değişimlerden etkilenmeksizin ürün kalitesini arttırmak için genetik ve çevresel uygulamalara tabi tutulabilme avantajına sahip olmalarından dolayı, pektinaz üretimi için çeşitli mikroorganizmalardan faydalanılmıştır (Torimiro vd., 2013).

Taze zeytinler oldukça sert yapıda ve acıdır dolayısıyla fermantasyon, tuzlama ya da kimyasal bazı uygulamalar olmaksızın yenilebilir olması imkansızdır. Kök ucu yumuşaklığı, yıpranmış kabuk, bulanık salamura suyu, gaz cepleri oluşumu ve kötü aroma gibi bazı kusurlar fermente zeytinin kalitesini etkileyebilmektedir. Nadir olmasına rağmen

ekonomik anlamda önemli bir kusur, fermantasyon boyunca yapısal bütünlük veya meyvede sertliğin az olması ile sonuçlanan meyve mezokarpındaki polisakkaritlerin yapılarındaki parçalanmalardır. Pektin konsantrasyonu direkt olarak meyve sertliği ile ilişkili olduğu için bu kusurun mezokarp dokusunun geniş ölçüde pektinolizininin bir sonucu olduğu söylenebilir. Pektin homogalakturan, ramnogalakturan-I ve ramnogalakturan-II'den oluşmuş düz ve dallanmış zincirli galakturonik asit parçalarından oluşmuştur. Poligalakturonazlara sahip mikroorganizmalar da gelişmeleri için pektini kullanabilir ve zeytin, salatalık turşusu gibi benzer fermente ürünlerde bozulmaya sebep olan etken olarak tanımlanabilirler. Zeytindeki yumuşamaların sebebinin, *Saccharomyces oleaginosus*, *S. kluyveri*, *Rhodotorula* sp. gibi pektinolitik mayaların, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Geotrichum* gibi küflerin ve *Bacillus*, *Aerobacter*, *Escherichia* spp. gibi bakterilerin pektinolitik aktivitelerinden kaynaklandığı daha önceki araştırmalarda belirtilmiştir. Pektinaz aktivitesine sahip mayalar ve bakteriler, fermantasyonu kontrol etmek ve optimize etmek, devamlı aynı yüksek kalitede bir ürün elde etmek için oldukça önemlidir. Pektinolitik mayalar ve bakterileri barındıran zeytinler genellikle normal aroma ve kimyasal karakterizasyon gösterirler (Golomb vd., 2013).

#### **2.4.3. Lipolitik Enzimler (Lipazlar)**

Lipazlar, lipitlerin ester bağlarının hidrolizini katalizleyen enzimlerdir. Lipazların çoğunluğu C8'den C18 zincir uzunluğuna sahip yağ asidi içeren lipidlere karşı yüksek aktivite sergilemektedir. Lipazlar gıda, deterjan, ilaç, deri, tekstil, kozmetik ve kağıt sektörlerinde çok yönlü potansiyel uygulamaları olan enzimlerdir (Houde vd., 2004).

Mikrobiyal lipazların da farklı endüstriyel alanlarda kullanılmalarına ilişkin geniş bir potansiyel mevcuttur. Mikrobiyal lipaz üretimine olan ilgi, gıdalara katkısının yanı sıra endüstriyel alandaki geniş uygulamaları, ince kimyasallar (esterlerin sentezi) ve atık su arıtması gibi alanlarda kullanımları, ilaç, kozmetik gibi alanlardaki kullanımlarından dolayı son yıllarda artış göstermiştir. Lipazların kullanıldığı en büyük alan ise deterjandaki kullanım imkanları ile temizlik sanayisidir (Jaeger vd., 1999).

LAB'ın genellikle lipolitik aktivitesinin düşük olması başlatıcı kültür olarak kullanılmaları açısından avantaj sağlamaktadır. Lipolitik aktivitenin düşük olması ürünün olgunlaşma sürecinde ransit tat oluşmadan, aroma üretimini indüklemeye rol almaktadır (Morales vd., 2011). Mikrobiyal lipaz enzimi genellikle ısıya dirençli bir yapı göstermektedir. Bu nedenle bozulmuş bir gıda maddesinde bozulma etmeni mikroorganizmanın tespit edilememesi, mikrobiyal lipaz faaliyeti ile ürünün

bozulmayacağı anlamı taşımamaktadır. Gıdalara uygulanan pastörizasyon veya sterilizasyon gerekli sterilitiyi sağlarken, mikrobiyal lipazın inaktivasyonunu sağlamayabilir. Bunun sonucunda da gıdalarda kalan mikrobiyal lipaz enzimi, istenmeyen tat ve kokuların oluşmasına neden olmaktadır (Doğan vd., 2000).

#### **2.4.4. Biyojen Amin Üretimi (Dekarboksilaz Aktivitesi)**

HLAB'ın gıda endüstrisinde kullanımı sırasında dikkat edilmesi gereken en önemli özelliklerinden biri de bu bakterilerin biyojen amin üretme yetenekleridir. Biyojen aminler gıdalarda toksik etkisiyle sağlık sorunlarına neden olan organik bileşiklerdir. Biyojen aminler büyük ölçüde proteince zengin gıdalar ve fermente gıdalarda oluşmaktadır (Visciano, 2012). Biyojen aminler genellikle gıdalarda önemli seviyelerde bulunduğu, insanlar için ciddi bir sağlık tehlikesi olarak kabul edilmektedir (Collins vd., 2011). En sık gıda kaynaklı intoksikasyona neden olan biyojen amin histamindir. 5-10 mg histaminin alımı bazı hassas kişilere göre riskli kabul edilirken, 10 mg alım ise tolere edilebilir limit, 100 mg alım toksik ve 1000 mg alım ise aşırı toksik olarak kabul edilmektedir (Parente vd., 2001; U.S. Food and Drug Administration, 2015). Biyojen aminler, aminoasitlerin dekarboksilasyonu ya da aldehit ve ketonların aminasyon ve transaminasyonu ile oluşan temel azotlu bileşikler olarak tanımlanmaktadır (Naila, 2010; Stadnik, 2010). Biyojen aminler temelde gıdalardaki aminoasitlerin, mikroorganizmaların dekarboksilaz enzimleri ile dekarboksilasyonu ile oluşmaktadır. Bir çok araştırmada farklı bakteri suşlarının biyojen amin ya da amin dekarboksilaz enzimi ürettiği ortaya konmuştur. Gıdalarda önemli olan biyojen aminler; dopamin, feniletilamin, histamin, kadaverin, oktopamin, putresin, serotonin, spermidin, spermin, tiramin ve triptamindir (Spano vd., 2010).

Histamin aynı zamanda ton balığı, sardalya ve uskumru gibi balıkların tüketimi ile ortaya çıkan balık zehirlenmelerine neden olmaktadır. Bir diğer olgu da peynirlerdeki yüksek oranda tiramin oluşumu ile ortaya çıkan reaksiyonlardır (Karovičova ve Kohajdova, 2005).

İnsanlarda normal şartlarda gıdalardan absorbe edilen ekzojen aminler, amin oksidasyonu veya konjugasyon aktivitesi ile hızlıca detoksifiye edilmektedir, fakat alerjik bireylerde, monoamin inhibitörlerin uygulandığında veya yüksek seviyelerde tüketilme durumlarında detoksifikasyon mekanizması engellenir ve biyojen amin vücutta birikir (Karovičova, 2003). Monoamin oksidaz ve diamin oksidaz enzimleri detoksifikasyon sürecinde önemli rol oynamaktadır. Fakat gıdalardan yüksek miktarda biyojen amin

alındığı zamanda detoksifikasyon sisteminin biyojen amini ortadan kaldırması yeterince sağlanamaz (Karovičova, 2003).

Biyojen amin içeriği ve mikroorganizma sayısı arasındaki doğru ilişkiyi bulmak oldukça zordur. Amin üretimi mikroorganizmaların asidik çevreye karşı gösterdikleri korunma mekanizması olarak tanımlanmaktadır. Tkachenko vd. (2001), mikroorganizmalardaki biyojen aminin fizyolojik rolü üzerine ilginç bir hipotez öne sürmüştür. Bu hipoteze göre, aminoasit dekarboksilaz aktivitesine sahip bazı suşlar sıcaklık, NaCl konsantrasyonu ve hücrelerdeki diğer streslere karşı biyojen amin üretimi yaparak zararlı etkileri azaltabilmektedir. Aminoasit dekarboksilaz enzimleri doğal olarak ürünlerde bulunan veya ürün geliştirme sürecince ya da sonrasında kontamine olarak ürüne bulaşmış olan mikroorganizmaların sahip olduğu enzimlerdir. Bu enzimler *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Photobacterium* cinslerinde, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Salmonella* ve *Shigella* cinslerini içeren Enterobacteriaceae familyasında ve *Staphylococcus*, *Micrococcus* ve *Kocuria* cinslerini içeren Micrococcaceae familyasında bulunmaktadır. Dahası *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Carnobacterium*, *Pediococcus*, *Lactococcus* ve *Leuconostoc* cinslerini içeren LAB'lar bir veya daha çok aminoasidi dekarboksile etme yeteneğine sahiptir. Fermente et ürünlerindeki kontamine olmuş mikrofloranın ürünlerde biyojen amin seviyesini arttırmada başlatıcı kültürlerden daha fazla sorumlu olduğu da yapılmış çalışmalar ile tespit edilmiştir (Stadnik ve Dolatowski, 2010).

### **3. MATERYAL ve YÖNTEM**

#### **3.1. Materyal**

Araştırmada Burdur, Isparta, Antalya, Eskişehir ve İzmir illerinden direkt üreticiden, halk pazarlarından veya marketlerden alınmış 150 adet yeşil veya siyah zeytin örneği incelenmiştir. Örnekler steril numune alma poşetleriyle veya steril kapaklı tüplerle steril koşullarda laboratuvara getirilmiştir. Zeytin örnekleri, izolasyon aşaması bitirilip, mikroorganizmaların stoklanma işlemi tamamlanana kadar buzdolabında muhafaza edilmiştir.

#### **3.2. Yöntem**

##### **3.2.1. Mikrobiyolojik Analizlerde Kullanılan Besiyerleri**

Zeytin örneklerinden HLAB izolasyonu için %7 NaCl içeren de Man Rogasa Sharpe (MRS, Merck, Almanya) katı besiyeri kullanılmıştır (DeMan vd., 1960; Morales vd., 2011).

##### **3.2.2. Zeytin Örneklerinden LAB İzolasyonu ve Sayımı**

Steril koşullarda laboratuvara getirilmiş olan zeytin örnekleri yine steril koşullar altında çekirdekleri çıkartılarak 10'ar gr tartılmıştır. Tartılan 10 gr zeytin örneği 90 ml steril ¼ ringer çözeltisi ile homojen hale getirilmiş ve sonrasında 9 ml steril ringer çözeltisi ile 1/10 oranında seyreltilerek seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  ve  $10^{-3}$  dilüsyonlardan 0,1 ml alınarak yayma kültür yöntemi ile %7 NaCl içeren MRS katı besiyerine iki paralelli olarak ekim yapılmıştır. Petriler 32 °C 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra besiyerinde gelişen 20-300 arasındaki kolonilerin sayımı yapılmıştır ve farklı koloniler seçilip, Gram boyama ile boyanıp, katalaz testi yapılmıştır. Gram pozitif, katalaz negatif olan, morfolojik özellikleri birbirinden farklı, çubuk ve kok şekilli kolonilerin saf kültürleri elde edilip, %20'lik steril gliserol içeren MRS sıvı besiyerinde -20 °C'de stoklanmıştır (Morales vd., 2011).

##### **3.2.3. İzolatların Genetik Tanısının Yapılması**

###### **3.2.3.1. DNA Ekstraksiyonu**

Genetik tanı için öncelikle DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. -20 °C'de stoklanan saf HLAB kültürleri %7 NaCl içeren MRS sıvı besiyerinde %1 oranında aktifleştirilmiştir.

İzolatlardan genomik DNA'ları ticari DNA ekstraksiyon kiti (GeneJET Genomic DNA Purification Kit, Thermo Scientific) kullanılarak, kullanma kılavuzunda belirtildiği şekilde ekstrakte edilmiştir. Elde edilen DNA'lar daha sonraki genetik tanı işlemlerinde kullanılmak üzere, -20 °C'de stoklanmıştır (Udomsil vd., 2010).

### 3.2.3.2. 16S rRNA Geninin Çoğaltılması

**PZR:** DNA izolasyonu yapılan ve -20 °C'de stoklanan DNA örneklerinin 16S rRNA gen bölgelerinin çoğaltılması için polimeraz zincir reaksiyonu (PZR, T100 Thermal Cycler, Bio-Rad) yapılmıştır.

16S rRNA bölgesi daha önce literatürde belirtilen primerler (HLAB1/HLAB2) kullanılarak çoğaltılmıştır. Bu amaçla;

İleri primer 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' (Weisburg vd., 1991).

Geri primer 5'-ACGGCTACCTTGTTACGACTT-3' (Weisburg vd., 1991).

primerleri ile 1800-2000 bp gen bölgesi çoğaltılmıştır. PZR reaksiyonu 50 µl olarak hesaplanmış ve özel ince duvarlı PZR tüplerinde ve Thermal Cycler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

#### PZR reaksiyonu 1 örnek için

Genomik DNA, Template	5 µl
10x reaksiyon buffer (Fermentas)	5 µl
MgCl <sub>2</sub> (25mM) (Fermentas)	3 µl
Steril dH <sub>2</sub> O	30 µl
İleri primer (10 µM)	1 µl
Geri primer (10 µM)	1 µl
dNTP mix (2 mM her biri)(Fermentas)	5 µl
<u>Taq DNA polimeraz (Fermentas)</u>	<u>1,5 U (0,3 µl)</u>
Toplam	50 µl reaksiyon/örnek

### PZR koşulları:

Başlangıç denatürasyon	94 °C, 5 dakika	} 35 döngü
Denaturasyon	94 °C, 1 dakika	
Bağlanma	61 °C, 1 dakika	
Uzama	72 °C, 1 dakika	
Son uzama	72 °C, 10 dakika	

Z7E, Z13A, Z17A, Z20A, Z59B, Z79B, Z80C, Z83B, Z85A, Z4a, Z4b, Z8b kodlu izolatlar HLAB1/HLAB2 primerleri ile PZR’de bant oluşumu göstermediği için belirtilen WISC1/WISC2 primerleri ile çalışılmıştır. PZR için Platinum® Taq DNA Polymerase High Fidelity (Invitrogen) enzim kiti kullanılmıştır

İleri primer 5' – ACT CCT ACG GGA GGC AGC AGT – 3' (Başyigit Kılıç, 2009).

Geri primer 3' – AGG CCC GGG AAC GTA TTC ACCG – 5' (Başyigit Kılıç, 2009).

### PZR reaksiyonu 1 örnek için

Genomik DNA, Template	2 µl
10x High Fidelity PCR tamponu	5 µl
50 mM Magnezyum Sülfat	2,5 µl
İleri primer (10 µM)	2 µl
Geri primer (10 µM)	2 µl
Steril dH <sub>2</sub> O	35 µl
dNTPs (her biri 10 mM)	1 µl
Platinum Taq Polimeraz High Fidelity	0,5 µl
Toplam	50 µl reaksiyon/örnek

### PZR koşulları:

Başlangıç denatürasyon	95 °C, 3 dakika	} 35 döngü
Denaturasyon	95 °C, 45 saniye	
Bağlanma	50 °C, 30 saniye	
Uzama	72 °C, 1 dakika	
Son uzama	72 °C, 10 dakika	

**Agaroz Jel Elektroforezi:** PZR ürünleri %1 'lik agaroz jeli içerisinde yürütülerek UV ışık altında görüntülenmiştir. Bu amaçla 0,5 gr agaroz (Low EEO, standart agaroz) 50 ml 1x TAE buffer (EK 8) içerisinde mikrodalga fırın kullanılarak kaynatılmıştır. Tamamen çözünen agaroz 45-50 °C'ye kadar soğutulmuş ve 2,5 µl jel boyası (SYBR Safe DNA gel stain, invitrogen, USA) (5 µl/100 ml) eklenmiştir. İyice karıştırılarak yatay elektroforez kasedinin içerisine dökülerek soğumaya bırakılmıştır. Donan jelden tarak çıkarılarak kuyucukların oluştuktan sonra, PZR ürününün 1/10 miktarı (5 µl) alınarak 2 µl loading dye ile karıştırılarak kuyucuklara yüklenmiştir. 1. kuyucuğa 3 µl 1 kb marker DNA yüklenmiş, 85 V sabit voltajlı elektrik akımı uygulanarak DNA'nın pozitif kutba doğru hareketi sağlanmıştır. DNA bandları UV ışık altında görüntülenmiş ve band büyüklükleri marker DNA ile karşılaştırılmıştır.

**PZR ürünlerinin temizlenmesi:** Yaklaşık 40 µl olan PZR ürünlerinin hacmi 1x TE buffer ile 100 µl'ye tamamlanmıştır. Örnekler steril eppendorf tüplerine aktarılmış ve üzerlerine iki örnek hacmi kadar (200 µl) kloroform-izoamil alkol (EK 8) eklendikten sonra 15-20 saniye vortex ile karıştırılmıştır. Bunu takiben 10,000 rpm'de 2 dakika santrifüjlenmiştir. Kloroform fazı (alt faz) uzaklaştırıldıktan sonra, kloroform, vorteks ve santrifuj aşamaları tekrarlanmıştır. Örnek fazı (üst faz) yeni eppendorf tüplerine toplanmıştır. 1/10 örnek hacmi ( $\cong$ 10 µl) 3M sodyum asetat (pH 5,2) (EK 8) eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır. Üzerine 2,5 örnek hacmi ( $\cong$ 275 µl) %100 etanol (molecular biology grade) eklenmiş ve 15-20 saniye vortekslenmiştir. 15 dakika maksimum hızda (14,000 rpm) santrifüjlenmiş ve sıvı kısım pelletin yapıştığı duvarın ters tarafından toplanmıştır. Tüplere 300 µl %70 etanol (EK 8) eklenmiş ve 20 saniye vortekslenmiştir. 5 dakika maksimum hızda santrifüjlendikten sonra sıvı kısım dikkatlice uzaklaştırılmış ve pelletler 37 °C'lik inkübatörde 15-20 dakika kurutulmuştur. Pelletler 20 µl 1x TE içinde



çözündürülmüş ve -20 °C’de muhafaza edilmiştir. Restriksiyon enzimleri DNA molekülünü 4-8 baz çiftlik DNA sıralarından tanıyarak bu bölgelerden kesim yapmaktadırlar. Kesim sonucunda bazı enzimler ile yapışkan uçlu, bazıları da küt uçlu parçacıklar elde edilmektedir (Tablo 3.1) (AluI, 2015; MboI, 2015; Özdil, 2007).

**Tablo 3.1.** AluI ve MboI enzimleri ile elde edilen parçacıklar

Enzimin adı	İzole edildiği mikroorganizma	Tanım dizisi	Oluşturduğu uç
AluI	<i>Arthrobacter luteus</i>	5'- A G C T- 3' 3'- T C G A- 5'	Küt uç ↓ 5'- A G C T- 3' 3'- T C G A- 5' ↑
MboI	<i>Moraxella bovis</i>	5'-G A T C-3' 3'-C T A G-5'	Yapışkan uç ↓ 5'-G A T C-3' 3'-C T A G-5' ↑

**PZR ürünlerinin kesilmesi:**

Temizlenen PZR ürünü	10 µl
10x ONE Buffer	5 µl
100x BSA (Bovine Serum Albumin)	0.5 µl
Steril dH <sub>2</sub> O	34.5 µl
<u>AluI/MboI (Eurx)</u>	1-2U (≈3,4 µl)
Toplam	50 µl

Tüplerin içerikleri konulduktan sonra üzerlerine 2 damla mineral yağ damlatılmış ve tüplerin kapakları parafilm ile sarılarak 37 °C’de 1 saat su banyosunda inkübe edilmiştir. Aynı eaksiyon 1-2U AluI ve MboI için ayrı ayrı uygulanmıştır (Sudağidan, 2007; Udomsil vd., 2010).

**Kesim Örneklerinin Temizlenmesi:** PZR ürünlerinin temizlenmesi bölümünde anlatıldığı şekilde uygulanmıştır. Fakat örnekler son olarak 10 µl 1x TE içerisinde çözündürülmüştür.

**Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi (RFLP) Analizi:** Kesilen ve temizlenen PZR ürünleri %2'lik TAE-agaroz jeli (EK 8) hazırlanarak 10 µl kesim ürünü ve 2µl loading dye eklenerek yürütülmüştür. İlk aşamada 15 dakika 40 mA bunu takiben 3 saat 80 mA sabit akım uygulanmıştır (Uygulanan akım, jelin büyüklüğüne ve DNA parçalarının yürümesine göre değişmiştir). Jel'e 5µl 100 bp DNA marker'ı (500 ng DNA) (Fermentas) yüklenmiştir. DNA'ların yürümesi tamamlandığında agaroz jeli bir kaba alınarak jel boyası ile boyanmıştır. Bu amaçla 50 µl jel boyası (10 mg/ml) 500 ml deiyonize su ile karıştırılmış ve 30 dakika çalkalayıcıda düşük rpm'de karıştırılmıştır. 30 dakika sonunda jel boyası çözeltisi boşaltılmış, jeli kaplayacak kadar deiyonize su eklenmiş ve 30 dakika çalkalanmıştır. Elde edilen band patternleri UV ışık altında görüntülenmiş ve jel dökümantasyon sistemi kullanılarak band patternleri Image Lab 3.0, EZDoc Image Analyser (Bio-Rad, ABD) ile analiz edilmiştir.

Dizi Analizi: Bakterilerin dizi analizi BM Yazılım Danış. ve Lab. Sis. Ltd. Sti.'ne yaptırılmıştır. Bu amaçla çoğaltılmış 16S rRNA PZR ürünleri (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' ve 5'-ACGGCTACCTTGTACGACTT-3') primerleri kullanılarak 3730 XL Applied Biosystems Sequencer cihazı ile çalışılmıştır. Elde edilen elektroferogramlar FinchTV ve BioEdit software programı kullanılarak analiz edilmiş ve DNA dizileri Nucleotide Blast (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) kullanılarak karşılaştırılmıştır.

### **3.2.4. Farklı NaCl Konsantrasyonunda Bakteri Gelişimi ve Gaz Oluşumunun Belirlenmesi**

Stoklanan saf HLAB kültürleri içerisinde Durham tüpü bulunan %7 NaCl içeren MRS sıvı besiyerine inoküle edilmiştir. 32 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. 48 saat süre sonunda her bir izolat %7, %8, %9 ve %10 NaCl konsantrasyonundaki MRS sıvı besiyeri içeren tüplere %1 oranında ayrı ayrı aşılanıp, her bir örnek 13 °C ve 28 °C olarak iki farklı sıcaklıkta inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonunda her iki sıcaklıkta ve farklı tuz konsantrasyonlarında inkübe olmuş örneklerin spektrofotometrede (T80 UV/VIS, PG Instruments, UK) OD<sub>590</sub> ile ölçümleri yapılmış ve pH değerleri pHmetre (Hanna Instruments / pH211, ABD) ile ölçülmüştür. Örnekler tekrar 13 °C ve 28 °C sıcaklıklarda

inkübe edilmiş ve 24 saat daha inkübasyona bırakılmıştır. 48 saat sonunda tekrar OD<sub>590</sub> ölçümleri ve pH değerleri ölçülüp kaydedilmiştir (Morales vd., 2011). Örneklerin gaz oluşturma yetenekleri, sıvı besiyeri içindeki Durham tüplerinde oluşan gaz birikmesine bakılarak kaydedilmiştir.

### 3.2.5. İzolatların Lipolitik Aktivitelerinin Kalitatif Değerlendirmesi

Hazırlanan besiyerine 18 saatlik aktif kültürlerden, 10'ar µl damlatılmıştır. Kültürler 32 °C 48 saat süreyle inkübe edilmiştir. Sonuçlar Petri yüzeyinde koloni etrafında gözle görülebilir zon oluşumu ile pozitif olarak değerlendirilmiştir (Gupta vd., 2011). Yaptığımız çalışmada lipaz oluşumunun kalitatif değerlendirilmesi için Tween-80 kullanılmıştır. Tween kullanılan metodların temelinde Tween'in hidrolize edilmesi ile yağ asitlerinin salınımı ile kalsiyum tuzlarının çökelti oluşturması yatmaktadır. Petri üzerinde lipolitik aktivite belirlenmesinde oluşan opaklığa göre değerlendirme yapılmıştır (Plou vd., 1998).

Lipolitik aktivitenin kalitatif ölçümü için hazırlanan besiyeri içeriği:

Pepton	15 gr
NaCl	5 gr
CaCl <sub>2</sub>	1 gr
Tween-80	10 ml
Agar	20 gr
Destile su	1000 ml

Hazırlanan besiyerinin pH'sı 7,2'ye ayarlanmıştır.

### 3.2.6. İzolatların Lipolitik Aktivitelerinin Kantitatif Değerlendirmesi

Lipaz üretiminin kantitatif değerlendirilmesi için ise pahalı olmaması ve hidrolizi ile suda çözünebilir ürün vermesi sebebiyle substrat olarak tribütirin kullanılmıştır (Smeltzer vd. (1992). Deney, substrat olarak kullanılan tribütirinin lipaz ile parçalanıp serbest yağ asitlerine dönüşmesiyle meydana gelen renk değişiminin spektrofotometrik yöntem ile ölçülmesi prensibine dayanmaktadır (Smeltzer vd.,1992; Beisson vd., 2000).

Lipolitik aktivitenin kantitatif ölçümünde 100 mM Tris (pH 8,0;25 mM CaCl<sub>2</sub>) içinde %0.5 (v/v) tribütirin (Sigma) süspansiyonu hazırlanmıştır. Karışımda tribütirini stabilize etmek için arap zıncığı (Merck, Almanya) kullanılmıştır. Hafif ısıtma ile yeterince homojen hale gelene kadar karıştırılmıştır. Daha sonra spektrofotometrik ölçüm yapılmak

üzere 18 saatlik aktif kültürlerden 100'er µl spektrofotometri kuvvetlerine aktarılmış ve üzerlerine 50 °C'ye ısıtılmış halde olan tribütirin çözeltisinden 1'er ml ilave edilmiştir. Örneklerin 450 nm'de 0-5-10-15-20. dk absorbans değerleri ölçülmüştür Standart kalibrasyon eğrisi hazırlamak için domuz pankreası lipazı (Sigma, Almanya) kullanılmıştır. Substrattan dakikada 1 µmol yağ asidi salınımını gerçekleştiren enzim miktarı 1 unite olarak belirlenmiştir (Smeltzer vd.,1992).

### **3.2.7. İzolatların Pektolitik Enzim Aktivitesinin Kalitatif Değerlendirmesi**

Hazırlanan besiyerine 18 saatlik aktif kültürlerden, 10'ar µl damlatılmıştır. Kültürler 32 °C 48 saat süreyle inkübe edilmiştir. Sonuçlar Petri yüzeyinde koloni etrafında gözle görülebilir zon oluşumu ile pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Pektolitik aktivitenin kalitatif olarak belirlenmesi için Hankins agar (MP-5 Medium, Hi-Media, Hindistan) hazırlanmış ve Petrilere yaklaşık 20 mm dökülmüştür. Petri üzerine 18 saatlik aktif kültürden 20'şer µl damlatılmıştır. Kültürler 32 °C 48 saat inkübe edilmiştir. 48 saat sonunda, pastör pipeti ile kültürlerin üzerine Petri yüzeyini kaplayacak şekilde iyodin çözeltisi eklenmiştir. Yaklaşık 45 dk bekletilen Petrilere kolonilerin etrafında gözle görülebilen zon pektolitik aktivitenin pozitif olduğunu kanıtlamıştır (Cappuccino ve Sherma, 2007).

Hazırlanan iyodin çözeltisi:

İyodin %0.25

Potasyum iyodür %0.5

%20'lik etanol 31 ml

Karışım manyetik karıştırıcıda homojen hale gelene kadar karıştırılmıştır.

### **3.2.8. İzolatların Pektolitik Enzim Aktivitesinin Kantitatif Değerlendirmesi**

Çalışmada enzim aktivitesinin kantitatif ölçümünde DNS metodu kullanılmıştır. DNS metodu ilk kez 1951 yılında Miller tarafından uygulanmıştır. Bu yöntemde göre, 3,5-dinitrosalisilik asit 3-amino-5-nitrosalisilik asite indirgenmekte ve aldehit grupların karboksilik gruplara okside olması sonucunda da renk değişimi ortaya çıkmaktadır (Miller, 1951).

18 saatlik aktif kültürler 10'ar ml pektin sıvı besiyeri içeren konik tüplere dağıtılmıştır. Kültürler 32 °C'de 36 saat 120 rpm'de çalkalamalı inkübatörde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında kültürler 4.000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiş ve süpernatantı ayrı tüplere dağıtılmıştır. Yaklaşık 5 ml kadar olan süpernatant üzerine 5 ml

kadar %2 pektin içeren 0,1M pH 6'da asetat buffer eklenmiş ve 40 °C'de 10 dakika inkübe edilmiştir. Bu sırada inkübasyondan sonra ilave edilecek olan dinitrosalisilik asit (DNS) (Sigma) ayıracı hazırlanmıştır. 10 dk inkübasyon sonrasında örneklerin üzerine ayrı ayrı 1'er ml DNS ayıracından damlatılmış, 5 dk kaynatılmıştır. Kaynatılan örneklerin üzerine hafif oda sıcaklığına geldikten sonra 2'şer ml destile su ilave edilip, 595 nm'de absorban değeri ölçülmüştür. Ölçülen değerler standart glukoz kalibrasyon eğrisine göre ünite cinsinden hesaplanmıştır. Bir ünite pektinaz aktivitesi dakikada 1 µmol glukozu serbest bırakan enzim miktarı olarak tanımlanmıştır (Torimiro vd., 2013).

Pektin sıvı besiyeri içeriği :

Pektin	0,500 gr
Yeast Ekstrakt	0,100 gr
NH <sub>4</sub> Cl	0,715 gr
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .12H <sub>2</sub> O	0,450 gr
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,630 gr
KCl	0,075 gr
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,025 gr
Destile su	1000 ml

**DNS ayıracı:** 1 gr DNS 30 ml suda çözülmüştür. Üzerine 30 gr Rochelle tuzu (sodium potassium tartarate) ilave edilmiştir. Bu karışım koyu kıvamlı sarı renkte olmuştur. Karışım manyetik karıştırıcıda karıştırırken üzerine 2N NaOH çözeltisinden 20 ml ilave edilmiştir. NaOH ilavesi ile karışım şeffaf sarı renge dönmüştür. Tamamen homojen hale gelene kadar karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir (Aiba vd.,1983).

### 3.2.9. İzolatların dekarboksilaz aktivitelerinin belirlenmesi

Çalışmada, mikroorganizmaların dekarboksilaz aktivitelerinin belirlenmesi için histidin, lisin ve tirozin aminoasitleri kullanılmıştır. Öncelikle izolatlar %7 NaCl içeren MRS sıvı besiyerinde 2 pasajla aktiveleştirildikten sonra, MRS yatık agar besiyerine sürülmüştür ve gelişmeleri için 32 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda bakterilerin kültür yoğunluğu 0,5 Mc Farland'a ayarlanmış ve aminoasitlerden %2 düzeyinde ayrı ayrı ilave edilmiş olan bazal besiyerine (MRS Agar, Merck, Almanya) 20'şer µl damlatma kültür yöntemi ile inoküle edilip, 32 °C 7 gün inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrasında koloniler etrafında gözlenen zon oluşumu biyojen amin üretimi açısından pozitif, herhangi bir renk değişimi gözlenmeyen koloniler ise negatif kabul edilmiştir (Joosten ve Northolt, 1989).



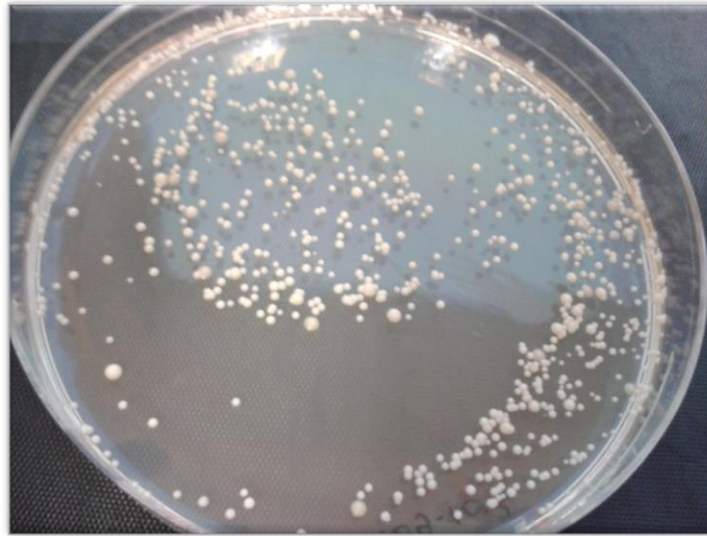
## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Zeytin Örneklerinden LAB İzolasyonu ve Sayımı

Farklı bölgelerden toplanan 150 adet zeytin örneğinden yapılan ekim işlemi sonrasında yaklaşık 20 adet zeytin örneğinde bakteri gelişimi gözlenmezken, gelişme tespit edilenlerden, aranan özelliklere uygun orta veya küçük boy, şeffaf, krem ve beyaz renkli, kenar şekli pürüzlü veya düz, düğmeli veya düğmesiz koloni şekline sahip olan farklı 310 adet koloni incelenmiştir. Seçilen kolonilerden Gram pozitif ve katalaz negatif olan kolonilerden mikroskopik incelemede farklı ince veya kalın basil ve kok şeklinde gözlenen 106 adet bakteri stoklanmıştır (Şekil 4.1, 4.2, 4.3).

İzolasyon esnasında %7 NaCl içeren MRS agar besiyerinde 20-300 arasında gelişen kolonilerin sayımı yapılmıştır. 20 adet zeytin örneğinde koloni gelişimi  $<10^2$  olarak tespit edilirken, en yüksek sayım  $2,94 \times 10^6$  koloni oluşturan birim (KOB)/ml olarak tespit edilmiştir. Zeytin örneklerinin 5 adedi  $10^2$  KOB/g, 16 adedi  $10^3$  KOB/g, 41 adedi  $10^4$  KOB/g, 61 adedi  $10^5$  KOB/g ve 6 adedi  $10^6$  KOB/g civarında belirlenmiştir.

Çalışılan 53 adet siyah zeytin örneğinin sayım sonuçları,  $<10^2$  -  $2,94 \times 10^6$  KOB/g arasında iken, 41 adet yeşil zeytin sayısının ise  $<10^2$  -  $1,80 \times 10^6$  KOB/g arasında tespit edilmiştir. Bakterilerin sayım sonuçları EK 1- Tablo 4.1 'de verilmiştir.



Şekil 4.1. %7 NaCl içeren MRS agar besiyerinde gelişen HLAB koloni görüntüsü



**Şekil 4.2.** *L. acidipiscis*'in mikroskopik görüntüsü



**Şekil 4.3.** *L. plantarum*'un mikroskopik görüntüsü

Borcakli vd. (1993)'nin Edincik ve Gemlik zeytinlerinin fermantasyonunda meydana gelen mikrobiyolojik ve kimyasal değişmelerin incelediği çalışmada zeytinler %14 NaCl içeren salamura suyunda fermente edilmiştir. Yapılan mikrobiyolojik sayıma göre Edincik ve Gemlik cinsi zeytinde laktobasiller <10 KOB/g şeklinde tespit edilmiştir. İki cins zeytinde de özellikle LAB'ın fermantasyon ortamında bulunmaması ya da düşük düzeyde bulunması aşırı ve bilinçsiz pestisit kullanımına ve uygun yıkama prosedürünün



gerçekleşmemesine bağlanmıştır. Özay ve Borcaklı (1995)'nin yaptığı bir başka çalışmada doğal zeytin fermantasyonunda tuz konsantrasyonunun ve salamura suyunun değiştirilmesinin fermantasyona etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, 3 fermantasyon ortamı hazırlanmıştır. 1. ortama %6 NaCl eklenip, 48 gün bekletilmiş ve salamura suyu değiştirilmiştir. 2. ortama aynı şekilde %6 NaCl eklenmiş ve fermantasyon süresince salamura suyu değiştirilmemiştir. 3. ortamda ise %14 NaCl içeren salamura suyuna konulmadan önce zeytinler 24 gün musluk suyu ile yıkanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde 3 farklı ortamda gelişen LAB sayısında farklılık tespit edilmiştir. %6 NaCl içeren 1. fermantasyon ortamında LAB popülasyonu  $10^3$  KOB/ml olarak belirlenirken, %14 NaCl içeren diğer fermantasyon ortamında ise LAB sayısı  $10^5$  KOB/ml ile maksimum seviyeye ulaşmıştır. 2. fermantasyon ortamında ise LAB gelişimi diğerlerine göre daha az gerçekleşmiştir, bunun sebebinin ise yüksek düzeyde polifenolik bileşenlerin varlığı ve salamura suyunun değiştirilmediğinde fermantasyon süresince  $10^3$  KOB/ml LAB sayısının korunmaya çalışılmasının olabileceği ifade edilmiştir. 1. fermantasyon ortamında ise salamura suyunun değiştirilmesinden sonra devamlı olarak LAB sayısında artış gözlenmiş ve fermantasyondan 150 gün sonra sayı  $10^5$  KOB/ml'ye ulaşmıştır. Bu çalışma ile salamura tuz konsantrasyonlarının mikrobiyal florayı etkilediği ve dolayısıyla fermantasyon sonucunda ürünün karakteristik özelliklerinin de etkilendiği saptanmıştır.

Siyah zeytin fermantasyonunda mikrobiyal kolonizasyon ve salamura suyunda biyokimyasal aktivitelerin incelendiği bir çalışmada ise, fermantasyon başlangıcında LAB'ın  $\log_{10}$  2 KOB/ml, *Enterobacteriaceae*  $\log_{10}$  3,5 KOB/ml, mayaların  $\log_{10}$  3,6 KOB/ml ve *Pseudomonas* spp.'nin de  $\log_{10}$  2,8 KOB/ml olduğu tespit edilmiştir. Fermantasyonun 16. dakikasında *Pseudomonas* spp.'de düşme gözlenirken, LAB ve maya popülasyonunda ise düzenli bir artış meydana geldiği ve baskın flora haline geldiği belirlenmiştir (Nychas vd., 2002).

Mourad vd. (2004) tarafından yapılan araştırmada ise yeşil Cezayir zeytinlerinden LAB izolasyonunu gerçekleştirilmiştir. MRS agarda yapılan sayımda mikroorganizma sayısı  $3,0 \times 10^4$  -  $6,0 \times 10^6$  KOB/ml arasında değişirken, M17 agarda yapılan sayımda ise  $1,1 \times 10^4$  -  $2,0 \times 10^5$  KOB/ml arasında değişiklik göstermiştir. Yeşil zeytin fermantasyonu boyunca LAB'ın başlatıcı kültür olarak kullanım imkanının araştırıldığı farklı bir çalışmada ise, LAB'ın eklendiği tuzlu su ortamında yalnızca LAB baskın olarak tespit edilmiş olup, fermantasyon boyunca sayıları  $10^9$  KOB/ml'ye kadar artış göstermiştir. Fermantasyonun doğal olarak gerçekleştiği diğer tuzlu su ortamında ise  $10^6$  KOB/ml düzeyinde LAB tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuç, başlatıcı kültür olarak

fermantasyon ortamına inoküle edilen LAB'ın ürünün hem kalite gelişimine hem de karbonhidratları parçalayıp asit üretimi ile ürünün korunmasına katkı sağlayacağı şeklinde yorumlanmıştır (Marsilio vd., 2005). Bizim çalışmamızdaki 41 adet yeşil zeytin örneğinde bakteri sayısının ise  $<10^2 - 1,80 \times 10^6$  KOB/g arasında olduğu tespit edilmiştir

Thapa vd. (2006)'nin yaptığı bir başka çalışmada ise Doğu Himalaya'ya ait geleneksel deniz ürünlerinden izole edilen LAB'ın tanımlanması ve teknolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla toplam 40 izolat elde edilmiştir. İzole edilen LAB sayısının  $10^4 - 10^8$  KOB/g arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Ayhan ve Ergen (2006) tarafından sofralık zeytinlerde yapılan bir çalışmada, açıkta satılan ya da vakum paketlenmiş 40 adet zeytin örneğinde toplam mezofilik aerobik bakteri, enterobakteri, küf ve maya sayımı yapılmıştır. Açık tipteki siyah zeytin örneklerinde toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayısı,  $3,52-6,83 \log_{10}$  KOB/g arasında, vakum paketlenmiş siyah zeytin örneklerinde ise  $4,00 \log_{10}$  KOB/g olarak belirlenmiştir. Tofalo vd. (2012) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise 6 adet doğal Yunan fermente zeytininden izole edilen bakterilerin mikrobiyolojik özellikleri incelenmiş, fermentasyonun sonunda salamura suyunda mezofilik laktobasillerin ve mayaların baskın florayı oluşturduğu tespit edilmiştir. Laktobasillerin sayısının  $6,25 - 7,84 \log_{10}$  KOB/ml arasında olduğu belirtilirken, mayaların sayısının ise  $6,5 - 7,56 \log_{10}$  KOB/ml arasında olduğu saptanmıştır. Buna karşın zeytin örneklerinde *Enterobacteriaceae* ve patojen mikroorganizmalara rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızdaki 53 adet siyah zeytin örneğinde bakteri sayısının  $<10^2 - 2,94 \times 10^6$  KOB/g arasında olduğu tespit edilmiştir.

#### 4.2. İzolatların Genetik Tanısının Yapılması

Stoklanan 106 adet bakteriden 11 adedi canlılığını kaybettiği için çalışmamız 94 adet örnekle gerçekleştirilmiştir.

94 adet örnekten dizi analizi sonucunda elde edilen türler, *Enterococcus faecium* (7 adet), *Lactobacillus acidipiscis* (21 adet), *L. alimentarius* (2 adet), *L. farciminis* (1 adet), *L. namurensis* (1 adet), *L. plantarum* (52 adet), *Sphingomonas paucimobilis* (2 adet), *Sphingomonas* spp. (1 adet), *Staphylococcus hominis* (3 adet) olarak belirlenmiştir. 4 adet izolat tanımlanamamıştır (Tablo 4.1). LAB olarak tanımlanmayan *S. paucimobilis*, *Sphingomonas* sp. ve *S. hominis* türlerine ait mikroorganizmalar çalışma dışı bırakılmış ve LAB türleri ile çalışmaya devam edilmiştir. Bakterilerin genetik tanı sonuçları EK 2- Tablo 4.2' de verilmiştir.

**Tablo 4.1.** Bakterilerin tür tanısında % benzerlikleri

Suş no	Genetik tanı	% Benzerlik	Suş no	Genetik tanı	% Benzerlik
Z1B	<i>L. acidipiscis</i>	%99	Z31A	<i>L. plantarum</i>	%100
Z1C	<i>L. acidipiscis</i>	%99	Z31B	<i>L. plantarum</i>	%100
Z1D	<i>L. acidipiscis</i>	%100	Z32A	<i>L. plantarum</i>	%100
Z2A	<i>L. acidipiscis</i>	%99	Z39A	<i>L. plantarum</i>	%100
Z2B	<i>L. acidipiscis</i>	%99	Z41A	<i>L. plantarum</i>	%100
Z2C	<i>L. acidipiscis</i>	%99	Z42A	<i>L. alimentarius</i>	%98
Z6A	<i>L. acidipiscis</i>	%99	Z43A	<i>L. acidipiscis</i>	%99
Z7E	<i>S. hominis</i>	%100	Z44B	<i>L. plantarum</i>	%99
Z9A	<i>L. plantarum</i>	%100	Z46A	<i>L. acidipiscis</i>	%100
Z12A	<i>S. hominis</i>	%100	Z47A	<i>L. acidipiscis</i>	%100
Z13A	<i>L. plantarum</i>	%98	Z48A	<i>L. plantarum</i>	%99
Z17A	<i>L. plantarum</i>	%95	Z49A	<i>L. acidipiscis</i>	%92
Z20A	<i>L. plantarum</i>	%98	Z52A	<i>S. paucimobilis</i>	%99
Z23A	<i>L. plantarum</i>	%97	Z53A	<i>L. plantarum,</i>	%100
Z25A	<i>S. paucimobilis</i>	%99	Z55A	<i>L. plantarum</i>	%77
Z27A	<i>L. acidipiscis</i>	%93	Z59A	<i>L. plantarum</i>	%100
Z30A	<i>L. plantarum</i>	%100	Z59B	<i>Sphingomonas</i> sp.	%100
Z30B	<i>L. plantarum</i>	%100	Z64A	<i>L. plantarum</i>	%100
Z30C	<i>L. acidipiscis</i>	%100	Z64B	<i>L. plantarum</i>	%100

**Tablo 4.1.** Bakterilerin tür tanısında % benzerlikleri (devam)

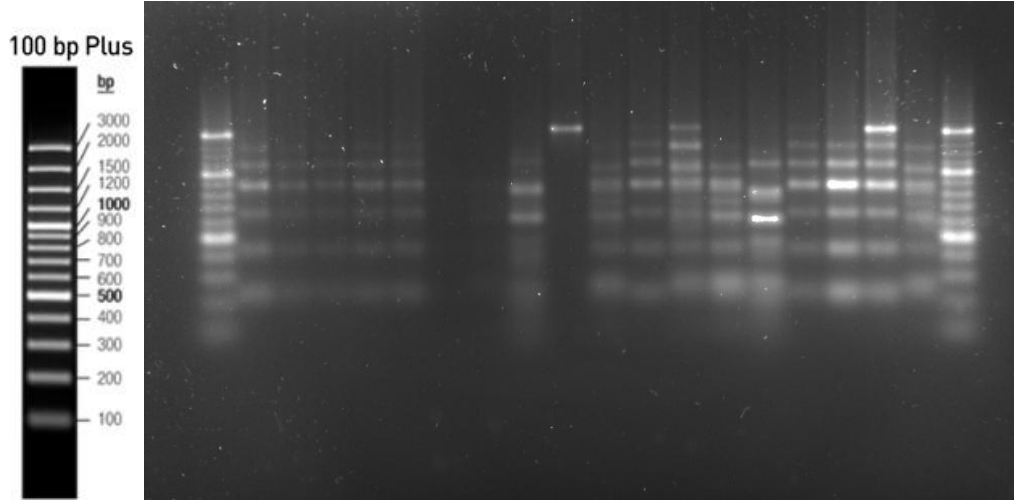
Suş no	Genetik tanı	% Benzerlik	Suş no	Genetik tanı	% Benzerlik
Z66A	<i>L. plantarum</i>	%99	Z112B	<i>L. alimentarius</i>	%100
Z70A	<i>L. acidipiscis</i>	%100	Z112C	<i>L. namurensis</i>	%100
Z73A	<i>L. acidipiscis</i>	%100	Z112D	<i>L. acidipiscis</i>	%100
Z78A	<i>L. plantarum</i>	%100	Z114A	<i>L. plantarum</i>	%100
Z78B	<i>L. plantarum</i>	%100	Z114B	<i>L. plantarum</i>	%100
Z79B	<i>S. hominis</i>	%100	Z115A	<i>L. plantarum</i>	%100
Z80B	<i>L. plantarum</i>	%100	Z118A	<i>L. acidipiscis</i>	%99
Z80C	<i>L. plantarum</i>	%100	Z120A	<i>L. plantarum</i>	%99
Z81A	<i>L. plantarum</i>	%100	Z126A	<i>L. plantarum</i>	%100
Z81B	<i>L. plantarum</i>	%100	Z128A	<i>L. acidipiscis</i>	%100
Z83B	<i>L. plantarum</i>	%100	Z134A	<i>L. plantarum</i>	%99
Z85B	<i>L. acidipiscis</i>	%100	Z134B	<i>L. plantarum</i>	%100
Z98A	<i>L. plantarum</i>	%100	Z137A	<i>E. faecium</i>	%99
Z98B	<i>L. plantarum</i>	%100	Z3a	<i>E. faecium</i>	%100
Z99A	<i>L. plantarum</i>	%100	Z4a	<i>L. farciminis</i>	%100
Z100A	<i>L. plantarum</i>	%100	Z4b	<i>E. faecium</i>	%98
Z103A	<i>L. plantarum</i>	%100	Z4c	<i>E. faecium</i>	%100
Z107C	<i>L. plantarum</i>	%100	Z6a	<i>E. faecium</i>	%100
Z111A	<i>L. plantarum</i>	%99	Z8a	<i>E. faecium</i>	%100
Z112A	<i>L. acidipiscis</i>	%100	Z8b	<i>E. faecium</i>	%96

Çalışılan bakteriler, RFLP sonucunda bant bölgelerine göre AluI RE ile 16 farklı gruba, MboI RE ile ise 17 farklı gruba ayrılmıştır. Çalışmamızda izole edilen *L. acidipiscis*, *L. plantarum*, *E. faecium*, *L. alimentarius*, *L. farciminis* ve *L. namurensis* suşlarının RFLP bant kesim sonuçlarına göre, aynı bakterilerin farklı bölgelerde kesildikleri saptanmıştır. Sonuçlar incelediğinde *L. acidipiscis* AluI RE ile kesim sonucunda 4 farklı gruba ayrılmış ve bant boyları 250-1200 bç arasında gözlenmiş, MboI RE ile kesim sonucunda ise 100-2000 bç arasında oluşturduğu bant boyları ile 4 farklı gruba ayrılmıştır. *L. plantarum* suşları AluI RE ile kesim sonucunda 250-1000 bç arasında bant boyu ile 6 farklı gruba, MboI RE ile kesim sonucunda ise 100-3000 bç bant boyu göstererek 4 farklı gruba ayrılmıştır.

*E. faecium* Z137A ve Z3a suşları AluI RE ile 250, 400 ve 800 bç'de bant verirken, MboI RE ile 200, 300 ve 900 bç büyüklüğünde bant oluşturmuştur. 5 adet *E. faecium* Z4b, Z4c, Z6a, Z8a ve Z8b suşları ise bant oluşturmamıştır. Çalışmamızda izole edilen 2 adet *L. alimentarius* suşu, AluI RE ile kesim sonucunda 250-1200 bç arasında bant boyu ile 2 farklı gruba, MboI RE ile ise 100-500 bç arası bant oluşturarak 2 farklı gruba ayrılmıştır. 1 adet *L. namurensis* Z112C suşu ise AluI RE ile kesim sonucu 250, 450, 600 ve 800 bç büyüklüğünde, MboI RE ile kesim sonucu ise 200 ve 3000 bç büyüklüğünde 2 bant oluşturmuştur (Şekil 4.4, 4.5)

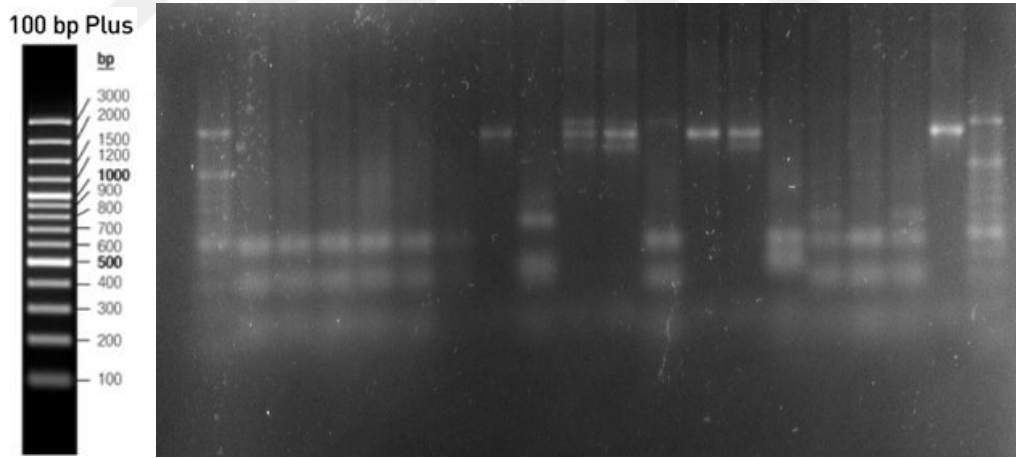
Randazzo vd. (2004), Sicilya yeşil zeytinlerinden izole edilen LAB türlerinin PCR-RFLP ile tanımlanmasının yapıldığı bir araştırmada HaeIII, Hin6 I ve AluI RE enzimleri ile çalışılmıştır. HaeIII, Hin6 I enzimleri ile suşlar 3 ayrı gruba ayrılırken, AluI enzimiyle bant profili oluşturamamışlardır. Blaiotta vd. (2008)'nin laktobasil türlerinin PCR-RFLP metodu ile tanımlaması amacıyla yaptığı bir başka çalışmada da kullanılan restriksiyon enzimleri sonucunda, 3 farklı bant grubu gözlenmiştir. *L. salivarius/L. casei/L. rhamnosus/L. zae* türleri 330 ve 169 bç bant oluşturarak A grubunda, *L. plantarum/L. pentosus* türleri ise 34, 63, 187 ve 215 bç bant oluşturarak B grubunda yer almıştır. *L. acidophilus/L. helveticus* türleri ise 34, 138 ve 327 bç bant oluşturarak C grubu içinde tanımlanmıştır. Park vd. (2012)'nin yaptığı bir çalışmada ise LAB suşlarının farklılaşması RFLP tabanlı moleküler çalışma ile incelenmiştir. Çalışmada 803 bç'lik *tuf* geni çoğaltılmış ve *AluI* ve *HaeII* RE ile laktobasil türlerinin yakın bant profilleri oluşturduğu başarılı bir şekilde saptanmıştır.

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 M



**Şekil 4.4.** Bakterilerin rRNA gen bölgelerinin AluI RE ile kesim sonrası RLFP bant profilleri (M: Marker, 1: Z1B, 2:Z1C, 3:Z1D, 4:Z2A, 5:Z2B, 6:Z2C, 7:Z9A, 8:Z12A, 9:Z30A, 10:Z30B, 11:Z30C, 12: Z31A, 13:Z41A, 14: Z42A, 15:Z43A, 16:Z46A, 17:Z47A, 18:Z64A, M: Marker )

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 M



**Şekil 4.5.** Bakterilerin rRNA gen bölgelerinin MboI RE ile kesim sonrası RLFP bant profilleri (M: Marker, 1: Z1B, 2:Z1C, 3:Z1D, 4:Z2A, 5:Z2B, 6:Z2C, 7:Z9A, 8:Z12A, 9:Z30A, 10:Z30B, 11:Z30C, 12: Z31A, 13:Z41A, 14: Z42A, 15:Z43A, 16:Z46A, 17:Z47A, 18:Z64A, M: Marker )

Zeytin fermantasyonu ve salamura suyundaki mikrobiyal çeşitlilik ile yapılan farklı çalışmalar mevcuttur. Doğal zeytin fermantasyonunda LAB'daki değişimin incelenmesi amacıyla Fernández González vd. (1993) ve Harris (1998) tarafından yapılan çalışmalarda fermantasyon sürecinde yalnızca *L. plantarum* tespit edilmiştir. Garrido-Fernandez vd. (1995)'nin çalışmasında ise izole edilen bakterilerin, %90'ı *L. plantarum* ve %10'u *L. delbruckii* şeklinde tanımlanmıştır.

Kobayashi vd. (2000) tarafından Japon kirpi balığı yumurtası fermantasyonundan izole edilen *Tetragenococcus* cinsine ait izolatların genotipik tür tanımlamasının yapıldığı bir çalışmada, RFLP ve 16S rRNA analizleri sonucunda 413 adet izolattan baskın türlerin, *T. halophilus* ve *T. muriaticus* olduğu tespit edilmiştir. Tayland'a ait fermente balıktan izole edilmiş mikroorganizmaların dizi analizleri sonucunda *L. acidipiscis* sp. suşlarına rastlandığı belirtilmiştir (Tanasupawat vd., 2000). Benzer şekilde LAB'ın zeytin fermantasyonunda başlatıcı kültür olarak kullanım olanağını araştırmak üzere yapılmış bir çalışmada, yeşil zeytin fermantasyonundan 32 izolat elde edilmiştir. Biyokimyasal ve morfolojik tanılamaya göre izolatların 14 adedinin *Lactococcus lactis*, 11 adedinin *L. plantarum*, 7 adedinin ise *Enterococcus* spp. olduğu tespit edilmiştir (Maourad, 2004). Bizim çalışmamızda ise 41 adet yeşil zeytin örneğinden elde edilen izolatların 27 adedi *L. plantarum*, 2 adedi *L. acidipiscis*, 5 adedi *E. faecium* ve 1 adedi de *L. farciminis* olarak tanımlanmıştır.

Farklı fermantasyon şartlarında yeşil zeytinlerden izole edilmiş olan mikroorganizmaların %38,9'unu baskın olarak *L. plantarum*'un oluşturduğu belirlenmiştir (Chammem vd., 2005). Bununla birlikte yapılan başka bir araştırmada 30 adet geleneksel Tayvan yemeği olan fermente siyah fasülye (dochi) toplanmıştır. Örneklerden 52 adet LAB izolatu elde edilmiş ve bakteriler fenotipik ve genotipik olarak sınıflandırılmıştır. Yapılan bu araştırmada da fermente siyah fasülyeden izole edilen LAB arasında en çok bulunan tür *E. faecium* olmuştur (Chen vd., 2006b).

Tunus'a ait zeytinlerdeki fermantasyon sürecindeki mikroorganizmalarda çeşitliliğin araştırıldığı bir diğer çalışmada ise 16S rRNA dizi analizi sonucunda 2 baskın bakteri *L. plantarum* ve *L. collinoides*'e %100 filogenetik benzerlik göstermiştir (Chamkha vd., 2008). Tayvan'a özgü geleneksel fermente hardalda (suan-tsai) bulunan LAB'ın izolasyonu, tanımlanması ve karakterize edilmesi için yapılan bir çalışmada ise *Enterococcus*'a ait 1 tür ve *Lactobacillus*'a ait *L. farciminis* türünü de içine alan 11 tür saptanmıştır (Chao vd., 2009). Çalışmalar incelendiğinde, yapılan bu araştırmada da benzer sonuçların elde edildiği görülmektedir.

Doğal fermantasyon ile üretilen Aloreña yeşil zeytinlerin fermantasyonu boyunca salamura suyunda *L. pentosus* ve *L. plantarum* gibi LAB türleri tespit edilirken, halofilik arkeler ve *Sphingomas* sp. türü de tespit edilmiştir (Abriouel vd., 2010). Bizim araştırmamızda da zeytin örneklerinden 1 adet *Sphingomas* sp. ve 1 adet *S. paucimobilis* türü tespit edilmiştir. Bu sonuç bizim sonuçlarımızla benzerlik göstermektedir.

Bevilacqua vd., (2010), Bella di Cerignola İtalyan sofralık zeytinlerinden izole edilen 19 adet LAB'ın genotipik ve fenotipik olarak yapılan tür tanımlaması sonucunda, 18 adedinin *L. plantarum*, 1 adedinin ise *E. faecalis* olduğunu belirtmiştir. An vd. (2010) tarafından Japonya'ya özgü 2 farklı fermente balık örneğinin mikrobiyal çeşitliliğinin araştırıldığı bir çalışmada 16S rDNA analizleri sonucunda, 3 adet aji-narezushi örneğinin 2 adedinde *L. acidipiscis* baskın tür olarak tespit edilirken, 3 adet iwashi-nukazuke örneğinde ise *T. muriaticus* ve *T. halophilus* baskın türler olarak belirlenmiştir. Bu çalışmalar sonucunda fermente gıdalardan izole edildiği belirlenen *Tetragenococcus* cinsine ait bir tür bizim çalışmamızda izole edilmemiştir.

Sofralık zeytinlerden izole edilen laktobasillerin probiyotik özelliklerinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan bir çalışmada ise fermente yeşil zeytin salamura suyundan izole edilen 111 izolattan 109 adedi tanımlanmıştır. İzolatların 107 adedi *L. pentosus*, 1 adedi *L. plantarum*, 1 adedi de *L. paraplantarum* olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda izolatların sofralık zeytinlerin fermantasyonunda başlatıcı kültür olarak kullanımı ile zeytinlerin besin değerine ve karakteristik özelliklerine katkı sağlayabilecekleri belirtilmiştir (Bautista-Gallego, 2013).

### **4.3. Farklı NaCl Konsantrasyonunda Bakteri Gelişimi ve Gaz Oluşumunun Belirlenmesi**

-20 °C'de stoklanan saf HLAB kültürleri %7 NaCl içeren içinde Durham tüpleri ile hazırlanmış olan MRS sıvı besiyerinde 32 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Bunun sonucunda Durham tüpleri içinde görülen gaz oluşumu ile bakterilerin heterofermantatif ya da homofermantatif özellikleri belirlenmiştir. 88 adet bakteriden yalnızca *L. acidipiscis* Z49A suşunda gaz oluşumu pozitif olarak tespit edilmiştir.

Daha sonra izolatların %7, %8, %9 ve %10 NaCl konsantrasyonunda gelişimlerinin OD<sub>595</sub> nm'de 13 °C ve 28 °C olarak iki farklı sıcaklıkta 24. ve 48. saatlerde spektrofotometrik ölçümleri alınmış ve pH değişimleri tespit edilmiştir (Tablo 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5). Bakterilerin farklı NaCl konsantrasyonlardaki gelişimlerinin ölçülmesi EK 3 - Tablo 4.3' te , gaz oluşturma özellikleri ise EK 4 - Tablo 4.4' te verilmiştir.



Çalışmamızda izole edilen *L. plantarum* suşlarının 52 adedindeki 48. saat ve 24. saatteki ölçümler değerlendirildiğinde *L. plantarum*'un 28 °C'de %7 ve %8 NaCl konsantrasyonunu en iyi tolere edebildiği belirlenmiştir. *L. plantarum*'un geliştiği besi ortamında kaydedilen en düşük pH değeri %7 NaCl içeren ortamda 3,67 olarak belirlenirken, en yüksek pH değeri ise 13 °C'de 5,55 olarak kaydedilmiştir.

21 adet *L. acidipiscis*'in 4 farklı NaCl konsantrasyonu içeren besi ortamındaki gelişimleri incelendiğinde *L. acidipiscis*'in %7 NaCl konsantrasyonu içeren besi ortamında 28 °C'de en iyi tuz toleransı gösterdiği aynı sıcaklık ve ortamda kaydedilen en düşük pH değerinin ise 3,89 olduğu tespit edilmiştir.

*L. alimentarius* Z42A suşunda en iyi gelişim %7 ve %8 NaCl konsantrasyonlarında sağlanırken gözlenen en düşük pH değeri ise 28 °C'de %8 NaCl konsantrasyonunda 3,99 olarak kaydedilmiştir. *L. alimentarius* Z112B suşunda ise en iyi gelişme %9 ve %10 NaCl konsantrasyonunda gerçekleşmiş olup, kaydedilen en düşük pH değeri ise 28 °C'de 4,05 olmuştur.

*L. farcimimis* Z4a suşunun en iyi tolere edebildiği tuz konsantrasyonlarının %7 ve %8 NaCl konsantrasyonlarında olduğu belirlenmiş, pH değeri ise 5,20 olarak ölçülmüştür.

Çalışmamızda izole edilen *L. namurensis* Z112C suşunun ise en iyi %7 ve %8 NaCl'yi tolere edebildiği ve kaydedilen pH değerinin 5,15 olduğu belirlenmiştir.

7 adet *E. faecium* Z137A, Z3a, Z4b, Z4c, Z6a, Z8a ve Z8b suşlarının ise farklı NaCl konsantrasyonlarında kaydedilen gelişim değerleri incelendiğinde enterokok izolatlarının %7 NaCl konsantrasyonu içeren besi ortamında en iyi gelişimi gösterdiği, %9 ve %10 NaCl konsantrasyonlarına ise toleransının daha düşük olduğu söylenebilir. İzolatların gelişimleri sonucunda en düşük pH değeri ise 3,75 olarak kaydedilmiştir.

Çalışmamızda OD<sub>590</sub> ile 4 farklı NaCl konsantrasyonlarında ölçümleri yapılmış olan izolatlardan *L. plantarum* suşları 0 - 1,56, *L. acidipiscis* suşları 0 - 1,232, *L. alimentarius* suşları 0,004 - 0,80, *L. farcimimis* suşu 0,14 - 0,70, *L. namurensis* suşu 0 - 0,24, *E. faecium* 0 - 1,134 absorbans değerleri arasında gelişim göstermiştir. Bu değerler bakterilerin gelişme yoğunluğunu ifade etmiştir. İzolatların büyük çoğunluğunda 13 °C'de 0 ya da çok düşük, 28 °C'de ise daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

**Tablo 4.2.** %7 NaCl Konsantrasyonunda en düşük ve en yüksek değerde gelişen izolatlar

	İzolat	13 °C (OD <sub>590</sub> )	pH	İzolat	28°C (OD <sub>590</sub> )	pH
<b>En düşük</b>	<i>L. plantarum</i> Z98B, <i>L. plantarum</i> Z107C	0,001	5,44 5,47	<i>L. plantarum</i> Z100A	0,02	4,13
<b>En yüksek</b>	<i>L. plantarum</i> Z80B	0,63	5,39	<i>L. acidipiscis</i> Z72A	1,58	3,95

**Tablo 4.3.** %8 NaCl Konsantrasyonunda en düşük ve en yüksek değerde gelişen izolatlar

	İzolat	13 °C (OD <sub>590</sub> )	pH	İzolat	28°C (OD <sub>590</sub> )	pH
<b>En düşük</b>	<i>L. plantarum</i> Z59A	0,0005	5,37	<i>L. acidipiscis</i> Z1C	0,01	4,75
<b>En yüksek</b>	<i>L. acidipiscis</i> Z6A	0,99	5,39	<i>E. faecium</i> Z8a	1,35	3,9

**Tablo 4.4.** %9 NaCl Konsantrasyonunda en düşük ve en yüksek değerde gelişen izolatlar

	İzolat	13 °C (OD <sub>590</sub> )	pH	İzolat	28°C (OD <sub>590</sub> )	pH
<b>En düşük</b>	<i>L. plantarum</i> Z78A <i>L. acidipiscis</i> Z118A	0,001	5,51 5,60	<i>L. plantarum</i> Z66A	0,001	5,41
<b>En yüksek</b>	<i>L. acidipiscis</i> Z49A	0,18	5,52	<i>L. acidipiscis</i> Z30C	1,47	4,93

**Tablo 4.5.** %10 NaCl Konsantrasyonunda en düşük ve en yüksek değerde gelişen izolatlar

	İzolat	13 °C (OD <sub>590</sub> )	pH	İzolat	28°C (OD <sub>590</sub> )	pH
<b>En düşük</b>	<i>L. acidipiscis</i> Z30C	0,0005	5,45	<i>L. acidipiscis</i> 72A, <i>L. plantarum</i> 78A	0,001	5,38
<b>En yüksek</b>	<i>L. plantarum</i> Z9A	0,174	5,45	<i>L. plantarum</i> Z64A	1,69	5,32

Fermantasyon düşük tuz yoğunluğunda hızlı, yüksek tuz yoğunluğunda daha yavaş gerçekleşmektedir. Tuz yoğunluğunun çok düşük olması durumunda istenmeyen mikroorganizmaların gelişmesi mümkün olabileceği için bozulma riski vardır. Düşük tuz oranı, bozulmalara yol açarken yüksek tuz yoğunluğu da zeytinde buruşukluklara neden olabilir. Bu yüzden tuz oranının zeytin çeşidine, seçilecek işleme yöntemine, ürünün

piyasaya arz zamanına göre ayarlanması büyük önem taşımaktadır. Farklı zeytin çeşitlerinde, farklı yoğunlukta salamura kullanılmaktadır. Örneğin; yeşil sofralık zeytin çeşitlerinin hazırlanmasında Edremit, Domat gibi çeşitlerde %8, Memecik çeşidinde ise %5-6'lık salamura kullanılır. Siyah sofralık çeşitlerin hazırlanmasında ise %10 tuz yoğunluğu uygundur. Sofralık zeytinlerin %4 ile %15 NaCl konsantrasyonlarında fermente olduğu ve genel olarak yüksek tuz konsantrasyonlarının maya gelişimini indüklerken, düşük tuz konsantrasyonlarının LAB'ın gelişimini teşvik ettiği belirtilmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda, yapılan literatür taraması sonucunda bakterilerin %7, %8, %9 ve %10 NaCl konsantrasyonlarındaki gelişimlerinin incelenmesi düşünülmüştür (Özay ve Borcaklı, 1995; Quintana vd., 1999; MEB, 2008; Hurtado vd., 2012). Fermantasyon seyrinin normal şekilde devam edebilmesi için ortamın ve salamuranın sıcaklığının belirli aralıklarla ölçülmesi gerekmektedir. Sıcaklığın 15 °C altına düşmesi durumunda fermantasyon süresi uzar (MEB, 2008). Karışık mikroorganizmaların bulunduğu fermantasyon ortamında laktik asit bakterilerinin ortama hakim olabilmeleri için en uygun fermantasyon sıcaklığının 20 - 25 °C arasında olduğu belirtilmektedir (Korukluoğlu, 2015). Yapılan literatür araştırmaları sonucunda düşük sıcaklıklarda da fermantasyonun gerçekleşebildiği saptanmıştır. Bu sebeplerden dolayı bakteri gelişimi için 13 °C ve 28 °C olarak iki sıcaklık parametresinin incelenmesi düşünülmüştür (Quintana vd., 1999; Korukluoğlu vd., 2002)

Mikroorganizmaların tuz toleransı endüstriyel uygulamalarda önemli olan faktörlerden birisidir. İspanyol tipi yeşil zeytin üretiminde genel olarak %5 ile %6 arasında tuz konsantrasyonu kullanılmaktadır, fakat ürünün korunabilmesini geliştirmek amacıyla %7 NaCl konsantrasyonunda da salamura tuzu kullanılabilir. Sofralık zeytinler %4 ile %15 NaCl konsantrasyonlarında fermente olmaktadır. Genel olarak yüksek tuz konsantrasyonları maya gelişimini indüklerken, düşük tuz konsantrasyonları LAB'ın gelişimini teşvik etmektedirler (Hurtado vd., 2012).

Tuzlu ançüezden izole edilen *P. halophilus*'un karakterizasyonunun yapıldığı bir çalışmada, bakteri %6,5 ve %10 NaCl içeren ortamlarda optimum gelişme gösterirken, NaCl yokluğunda zayıf gelişme göstermiştir. %15 ve üstü NaCl konsantrasyonlarını ise bakterilerin tolere edebildiği tespit edilmiştir (Villar vd., 1985). Ciafardini vd. (1994)'nin yaptığı farklı bir çalışmada, oleuropeini parçalama yeteneğinde olan doğal olgunlaştırılmış zeytinlerden izole edilen *Lactobacillus* sp. B17, B20 ve B21 suşlarının %8 NaCl konsantrasyonunda gelişme gösterebildiği tespit edilmiştir. Geleneksel bir fermente Hint yiyeceği olarak bilinen mesunun mikrobiyolojik çeşitliliğinin incelendiği bir çalışmada toplam 327 LAB izole edilmiş ve bu bakterilerin *L. plantarum*, *L. brevis* ve *P. pentosaceus*

türüne ait olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada fermantasyon süreci *P. pentosaceus* ile başlatılıp, *L. plantarum* ile sonuçlanırken, başlangıçta 6,4 olan pH'nin fermantasyon sonunda 3,8'e düştüğü belirlenmiştir (Tamang ve Sarkar, 1996).

*L. plantarum* B21 suşunun oleuropein varlığında gelişmesi ve glukoz, NaCl gibi faktörlerin oleuropeini parçalamasına yaptığı etkiyi incelemek amacıyla Marsilio ve Lanza (1998)'in yaptığı bir çalışmada, mikroorganizmaların %6-8 NaCl konsantrasyonları arasında iyi gelişme gösterdiği, %10 NaCl konsantrasyonunda ise mikroorganizma gelişiminin baskılandığı tespit edilmiştir. Sofralık yeşil zeytinler için fermantasyonda uygun şartları sağlamak için Quintana vd. (1999)'nin yaptığı bir çalışmada da sofralık zeytinlerin salamura suyundan 4 adet *L. plantarum* izole edilmiştir. İzolatların MRS sıvı besiyerinde büyüme hızları ve asit oluşturma yetenekleri ile yeşil zeytin salamura suyunda 4,5 ve 5,0 pH değerleri, %3, %4 ve %5 NaCl konsantrasyonları ve 9, 12, 15 °C sıcaklıklarda inkübasyon faktörlerinin etkisi araştırılmıştır. MRS sıvı besiyerindeki asidifikasyonu etkileyen en büyük parametrenin sıcaklık olduğu saptanmıştır. Maksimum asidifikasyon 13 °C'de yaklaşık %3,3 NaCl konsantrasyonunda sağlanmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde uygun başlatıcı kültür kullanımı ile %3 NaCl konsantrasyonu ve pH 5,0'da, düşük sıcaklıkta normal yeşil zeytin fermantasyonunun gerçekleşebileceği belirtilmiştir.

Thongsanit vd. (2002)'nin yaptığı bir çalışmada balık sosundan izole edilen *T. halophilus* ve *T. muriaticus* suşlarının karakterizasyonu ve tanımlaması yapılmıştır. Çalışmada mikroorganizmalar %5 NaCl içeren MRS agar ortamından izole edilmiş ve izolatların %0, %10, %15, %20, %25 olmak üzere 5 farklı NaCl konsantrasyonundaki gelişmeleri incelenmiştir. İzolatların birkaçının tuz içermeyen ortamda gelişim göstermesinin haricinde, hepsinin %25 NaCl ortamında gelişim gösterebildiği tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise %7 NaCl içeren MRS agar ortamından izole edilen bakteriler, %7, %8, %9 ve %10 olmak üzere 4 farklı NaCl konsantrasyonunun hepsinde gelişim gösterebilmiştir.

Korukluoğlu vd. (2002)'nin taze zeytin mikroflorasında bulunan LAB'ın belirlenmesi üzerine yaptıkları bir çalışmada ise, incelenen 18 örneğin yalnızca 12'sinden LAB izole edilebilmiştir. Bakterilerin 15 °C'de ve %10 tuzda gelişme yeteneğinde olması, oldukça fazla sayıda karbon kaynağından yararlanmaları ve homofermentatif olup, gazlı bozulmalar yönünden tehlike oluşturmamaları nedeniyle *L. plantarum* ve *Lc. lactis* ssp. *lactis* türlerinin doğal veya aşılmalı zeytin fermantasyonunda başlatıcı kültür olarak kullanımının uygun olabileceği belirtilmiştir. Buna karşın taze zeytin örneklerine bulaşık

LAB'ın ise heterofermantatif olduğu ve %10 tuzda gelişme göstermediği saptanmıştır, bu durumun da başlatıcı kültür olarak kullanılmalarını imkansız kıldığı ifade edilmiştir. Bizim çalışmamızda, 1 adet *L. acidipiscis* Z49A suşunun heterofermantatif olduğu tespit edilmiştir. Buna karşın enterokok suşlarının, *L. plantarum* ve *L. acidipiscis*, *L. farciminis*, *L. namurensis* ve *L. alimentarius* laktobasil suşlarının da homofermantatif özellik gösterdiği saptanmıştır.

Ishikawa vd. (2003) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise deniz canlılarından izole edilmiş halofilik ve alkalifilik laktik asit bakterileri araştırılmıştır. Çalışmada izolasyon %7 NaCl içeren GYPF besi ortamında gerçekleştirilmiştir. İzolatların %0-20,5 NaCl konsantrasyonları arasında gelişmeleri incelenmiş, bakterilerin optimum gelişme sağladığı NaCl konsantrasyonunun %2-3,75 olduğu belirlenmiştir. Kobayashi vd. (2004)'nin *Tetragenococcus* türlerinin optimum gelişme şartlarını araştırdığı bir çalışmada ise %3, %7, %15 ve %23 NaCl içeren MRS sıvı besiyerleri kullanılmıştır. Araştırma sonucunda *Tetragenococcus*'un en yüksek gelişim gösterdiği ortamın %15 NaCl içeren MRS broth olduğu saptanmıştır. Sofralık yeşil zeytinlerin farklı karbon kaynakları kullanılarak asitlik değişiminin incelendiği bir çalışmada zeytinlerden izole edilmiş *L. plantarum* başlatıcı kültür olarak kullanılmıştır. Fermantasyon ortamına karbon kaynağı olarak şeker eklenmeden yapılan ölçümde son pH değeri 4,5 olarak belirlenirken, yüksek miktarlarda şeker ilave edildikten sonra ise son pH'de düşüş meydana geldiği tespit edilmiştir (Chorianopoulos vd., 2004).

Geleneksel kurutulmuş sosisten izole edilen LAB suşlarının karakterizasyonu ve başlatıcı kültür olarak kullanım imkanlarının araştırıldığı bir başka çalışmada izolatların, farklı pH, sıcaklık ve NaCl konsantrasyonlarındaki gelişmeleri incelenmiştir. Buna göre bütün izolatlar pH 4,2-9,6 arasında %4 NaCl içeren ortamda, 15 °C'de gelişme göstermiştir. Buna karşın, aynı pH değerlerinde, 0 °C ve 45 °C'de, %10 NaCl içeren ortamda gelişme gözlenmemiştir. Bütün izolatlar aynı zamanda homofermantatif özellik göstermiştir (Ammor vd., 2005).

Chammem vd. (2005)'nin yaptığı çalışmada ise İspanyol usulü yeşil zeytin prosesine göre hazırlanmış olan yeşil zeytinlerin %6, %9 ve %12 NaCl konsantrasyonlarında bakteri gelişimi izlenmiştir. Yeşil zeytinde tespit edilen baskın floranın *Lactobacillus* suşlarına ait olduğu belirtilirken, *Lactobacillus* suşları için optimum NaCl gelişim konsantrasyonunun %9 NaCl konsantrasyonu olduğu belirlenmiştir. Tayvan'a özgü geleneksel fermente hardaldan (suan-tsai) izole edilen LAB'ın karakterizasyonunun yapıldığı bir diğer çalışmada da izolasyon ortamı olarak %6 NaCl içeren

MRS agar kullanılmıştır. Asit üreten mikroorganizmaların diğerlerinden ayırt edilmesi için ise ek olarak MRS agar ortamına %1 CaCO<sub>3</sub> eklenmiştir. Çalışma sonucunda yapılan fiziksel analizler ile tuz içermeyen ve %6 NaCl içeren ortamlarda gelişme gösteren bakteriler saptanmıştır. Bütün izolatların %6 NaCl içeren besi ortamında geliştiği gözlenirken, sadece *T. halophilus*'un %10 NaCl içeren ortamda gelişebildiği belirtilmiştir (Chen, 2006a). Thapa vd. (2006) tarafından deniz ürünlerinden izole edilen LAB'ın karakterizasyonunu belirlemek için 10 °C, 15 °C ve 45 °C olarak 3 farklı sıcaklık, pH 3,9 ve pH 9,6 olarak 2 farklı pH değeri ve MRS sıvı besiyerinde %6,5, %10, %18 NaCl konsantrasyonu olarak 3 farklı tuz konsantrasyonunda LAB'ın gelişim gösterme özellikleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda bütün izolatların pH 3,9 ve %6,5 NaCl konsantrasyonunda, optimum 10 °C ve 15 °C'de gelişim gösterdiği, pH 9.6 ve %10, %18 NaCl konsantrasyonu içeren ortamlarda ise gelişemediği tespit edilmiştir.

Ishikawa vd. (2007) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise 6 Avrupa ülkesinden 16 adet peynir örneği ile çalışılmıştır. HLAB izolasyonu %7 NaCl içeren GYPF agar (pH 9,5) ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda GYPF agardan izole edilen HLAB kolonilerinin sayısının (KOB/g) MRS agardaki koloni sayısından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Tassou vd. (2007)'nin yaptığı çalışmada ise LAB, %8 NaCl konsantrasyonunda zor gelişim gösterirken, %4 ve %6 NaCl konsantrasyonunda en iyi gelişebilen başlıca grup olmuştur. %8 NaCl konsantrasyonunda mayalar baskın florayı oluşturmuştur. Tuz konsantrasyonundaki sağlanan aşamalı düşüş ise, LAB'ın mayalara karşı baskınlık oluşturmasını sağlamıştır. Bautista-Gallego vd. (2008)'nin yaptığı çalışmada da sofralık zeytinlerden izole edilmiş *L. pentosus*'un MRS sıvı besiyerinde %8,2 NaCl konsantrasyonunda gelişebildiği tespit etmiştir.

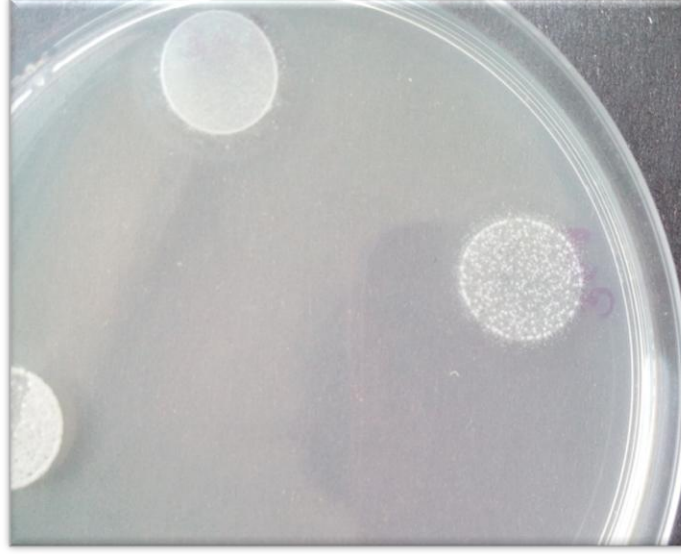
Chao vd. (2009)'nin yaptığı bir çalışmada Tayvan'a özgü fermente hardaldaki LAB çeşitliliği araştırılmıştır. İzolasyon %2 NaCl ve %0.001 sodyumazid ve sodyum sikohekzimit içeren MRS agar (pH:5,4) ortamında gerçekleştirilmiştir. İzolatların %8 ve %12 NaCl konsantrasyonlarındaki gelişimleri incelenmiştir. Araştırma sonucunda 119 izolatın %94,9'unun %8 NaCl ortamında gelişebildiği, *L. brevis*, *L. plantarum*, *Leu. pseudomesenteroides* ve *P. pentosaceus*'a ait 6 suşun ise %8 NaCl ortamında gelişemediği belirlenmiştir. Bir yıllık üründen alınan bütün örneklerin %12 NaCl konsantrasyonunda gelişebildiği, 1 aylık üründen alınan örneklerin ise sadece 2 adedinin %12 NaCl konsantrasyonunda canlılığını sürdürebildiği de tespit edilmiştir. Udomsil vd. (2010)'nin yaptığı çalışmada da balık sosu fermantasyonunda *T. halophilus*'un %26-30 NaCl içeren ortamda balık proteinlerini hidrolize edebildiği belirlenmiştir.

Bevilacqua vd. (2010), Bella di Cerignola İtalyan sofralık zeytinlerinden izole edilen 19 LAB'ın başlatıcı kültür olarak seçilebilmeleri için teknolojik ve probiyotik olma özellikleri çalışmıştır. Bakterilerin tanımlanmasından sonra farklı NaCl konsantrasyonlarında, farklı pH ve sıcaklıklarda gelişim yetenekleri incelenmiştir. *L. plantarum* ve *E. faecalis* olarak belirlenen bütün izolatların, pH 4 - 10 arası, %2,5 - 7,5 NaCl konsantrasyonunda iyi gelişim gösterdiği, dahası *E. coli* O157:H7 inhibisyonunu da sağlayabildiği belirtilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, izolatlardan en az 3 adedinin sahip oldukları probiyotik ve teknolojik özellikler neticesinde Bella di Cerignola zeytinlerinin üretiminde başlatıcı kültür olarak kullanılabilme potansiyelinde oldukları ifade edilmiştir. Bizim çalışmamızda da *Lactobacillus* suşlarının %7 ve %8 NaCl konsantrasyonunda, *Enterococcus* suşlarının %7 NaCl konsantrasyonunda, en iyi gelişim gösterdiği belirlenmiştir.

Hurtado vd. (2011)'nin *L. pentosus* B96 suşunun tuz stresi karşısında gösterdiği bakteriyosin aktivitesinin araştırılması için yaptığı bir çalışmada *L. pentosus* B96 suşunun %0, %4, %6 ve %8 NaCl içeren MRS besi ortamında gelişimini sağlanmıştır. Sonuçlara göre %4 ve %6 NaCl içeren ortamda suşun toplam biyoaktivitesinde artış gözlenirken, %8 NaCl içeren ortamda ise toplam biyoaktivitede azalma tespit edilmiştir.

#### **4.4. İzolatların Lipolitik Aktivitelerinin Kalitatif Değerlendirmesi**

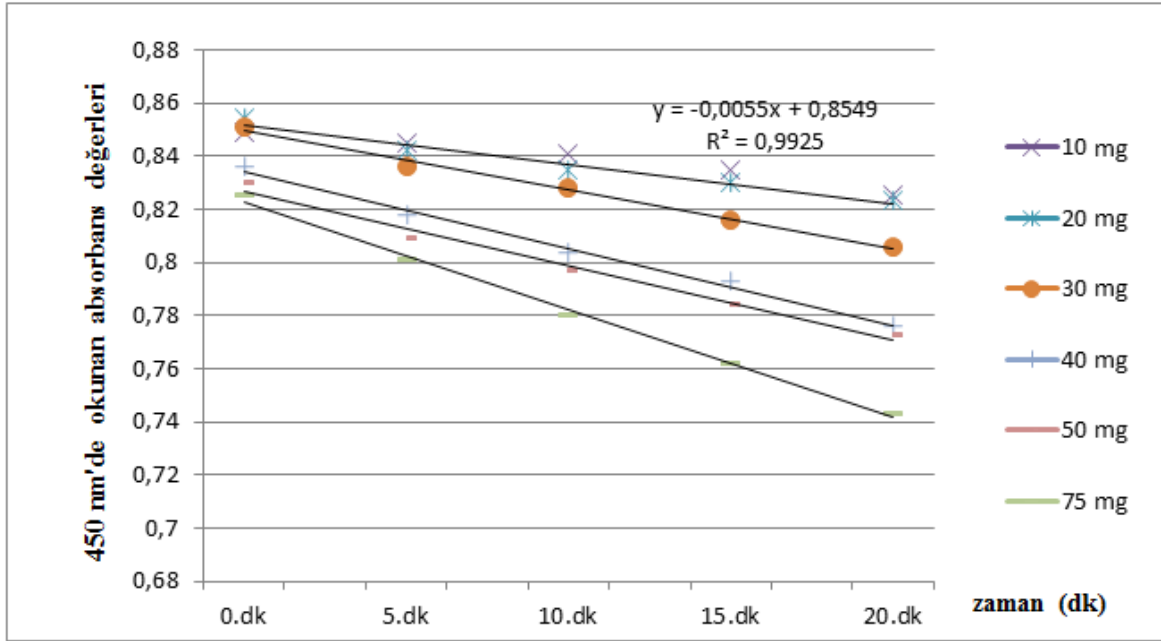
88 adet izolattan 3 adet *L. acidipiscis* ( Z2A, Z6A, Z49A), 10 adet *L. plantarum* (Z17A, Z20A, Z23A, Z53A, Z55A, Z74A, Z75A, Z78A, Z80B, Z80C), 1 adet *L. alimentarius* (Z42A) ve tanımlanamayan ve Z110A suşlarında olmak üzere toplam 15 adet izolat 2-20 mm arasında zon oluşturarak pozitif sonuç vermiştir. Buna karşın *E. faecium*, *L. namurensis* ve *L. farciminis* suşlarında ise zon oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 4.6). İzolatların lipolitik aktivitelerinin kalitatif ölçüm değerleri EK 5 - Tablo 4.5' te verilmiştir.



Şekil 4.6. Lipolitik aktivitenin kalitatif değerlendirmesinde gözle görülebilen çökeltme

#### 4.5. İzolatların Lipolitik Aktivitelerinin Kantitatif Değerlendirmesi

Lipolitik aktivite gösteren 15 adet izolatın 0,2 - 1,8 U/ml arasında lipaz üretim yeteneğinde olduğu lipaz ile hazırlanmış standart kalibrasyon eğrisine göre hesaplanmıştır (Şekil 4.7). İzolatların lipolitik aktivitelerinin kantitatif ölçüm değerleri EK 5 - Tablo 4.5’ te verilmiştir.



Şekil 4.7. Lipolitik aktivitenin kalibrasyon eğrisi ( $R^2 = 0,9925$ )



Morales vd. (2011) LAB'ın düşük lipolitik aktiviteye sahip olmasının bu bakterilen başlatıcı kültür olarak kullanılmalarında avantaj sağlayacağı belirtmiştir. Lipolitik aktivitenin düşük olmasının ürünün olgunlaşma sürecinde aroma üretiminde katkı sağlayacağı ifade edilmiştir (Morales vd., 2011). Yaptığımız çalışmada lipaz oluşumunun kalitatif değerlendirilmesi için Tween-80 kullanılmıştır. Tween kullanılan metodların temelinde Tween'in hidrolize edilmesi ile yağ asitlerinin salınımı ile kalsiyum tuzlarının çökelti oluşturması yatmaktadır. Petri üzerinde lipolitik aktivite belirlenmesinde oluşan opaklığa göre değerlendirme yapılmıştır (Plou vd., 1998). Lipaz üretiminin kantitatif değerlendirilmesi için ise pahalı olmaması ve hidrolizi ile suda çözünebilir ürün vermesi sebebiyle substrat olarak tribütirin kullanılmıştır (Smeltzer vd., 1992). Genellikle LAB arasında enterokokların lipolitik aktivitesi zayıf olarak kabul edilmektedir, fakat bu konu ile ilgili çelişkili bilgiler de mevcuttur. Dovat vd. (1970), enterokok suşlarının tripropiyonini laktokoklara göre daha iyi hidrolize ederken, tribütirin, trikaproin ve trikaprilini daha az hidrolize ettiğini belirtmiştir. Bunların sonucu olarak yapılmış çalışmalar değerlendirildiğinde enterokokların lipolitik sistemlerinin substrata özgü olduğunu söylemek mümkün olabilmektedir.

Smeltzer vd. (1992) tarafından *Staphylococcus aureus* suşlarında tribütirin kullanılarak lipolitik aktivitenin saptanması amacıyla yapılan bir çalışmada, 0.35 - 1.33 U/ml lipaz üretimi saptanmıştır. Andersen ve Østdal (1995), %5 NaCl konsantrasyonunda gelişebilen *L. plantarum* MF32 suşundan tribütirin ve domuz yağını substrat olarak kullanarak lipaz enzimini saflaştırmıştır. Çalışmada her iki substrat ile lipaz aktivitesi meydana gelirken, saptanan en düşük enzim aktivitesi 1,9 – 9 U/mg belirlenmiştir. Buna karşılık et fermantasyonu için başlatıcı kültürlerin lipolitik aktivitelerinin değerlendirilmesi amacıyla Kenneally vd. (1998)'nin yaptığı çalışmada ise test edilen laktobasil ve pediyokok suşlarından hiçbiri lipolitik aktivite göstermemiştir. Buna benzer olarak, Montel vd. (1998) tarafından yapılan çalışmada da *Lactobacillus* türlerinin zayıf lipolitik aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Enterokokların biyokimyasal ve teknolojik özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, insan, hayvan ve gıda kökenli enterokok suşlarında en iyi lipolitik aktiviteyi >0,3 mm zon oluşumu ile *E. fecalis* sağlamıştır. *E. durans* ve *E. faecium* ise *E. fecalis*'ten daha az lipolitik aktivite göstermiştir (Sarantinopoulos vd., 2001).

Geleneksel kurutulmuş sosisten izole edilmiş LAB'ın başlatıcı kültür olarak kullanım imkanının araştırıldığı başka bir çalışmada hiçbir izolat, esteraz, esteraz lipaz ve lipaz aktivitesi göstermezken, sadece E1L-31 suşu lipaz aktivitesi göstermiştir (Ammor vd., 2005). Buna karşılık, yapılan bir başka çalışmada ise Doğu Himalayaların geleneksel

işlenmiş balık ürünlerinden izole edilmiş LAB' in teknolojik ve fenotipik özelliklerinin incelenmesi amacıyla farklı ürünlerden oluşan toplam 40 örneğin mikrobiyal çeşitliliği incelenmiştir. İzole edilen LAB'tan sadece 5 adedinde lipolitik aktivite tespit edilmiştir (Thapa vd., 2006). Bizim çalışmamızda da izole edilen 88 adet LAB'ın 14 adedinde lipolitik aktivite tespit edilmiştir. Lipolitik aktivite tespit edilen LAB türleri *L. acidiphiscis*, *L. alimentarius* ve *L. plantarum* olarak belirlenmiştir.

Rashidah vd. (2007)'nin Antartika deniz suyundan izole edilmiş psikrofilik mikroorganizmaların lipolitik aktivitesini araştırdığı bir çalışmada, tribütirin içeren besi ortamında şeffaf zon oluşumu saptanmıştır. İnkübasyon süresi arttıkça zon çaplarının da arttığı belirtilmiştir. Psikrofilik bir suş olan P112 suşunun tribütirin içeren sıvı besiyerinde 5 °C'de 0.750 U/ml lipaz ürettiği tespit edilmiştir. Lipaz aktivitesinin zeytinyağı içeren sıvı besi ortamında ise 0.017 U/ml aktivite göstererek daha da düştüğü belirtilmiştir. Oda sıcaklığında ise tribütirinin kullanıldığı besi ortamında lipolitik aktivite 0.900 U/ml iken, zeytinyağının kullanıldığı besi ortamında ise lipolitik aktivite 0.183 U/ml olarak kaydedilmiştir. Moreno vd. (2009) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise aşırı halofilik bakteri olan *Salicola marasensis* IC10 suşunun, salipro olarak adlandırılan ekstrasellüler proteaz ve LipL olarak adlandırılan lipaz ürettiği tespit edilmiştir. Lipolitik aktivitesi esas olarak sitoplazmik bölümde yer alan *S. marasensis* IC102'un farklı substratlarda aktivite gösterebildiği saptanırken, en yüksek lipaz ürettiği safha enzim üretimi eksponansiyel fazının sonunda gerçekleşmiştir. 0-4 M NaCl ortamında enzim üretimini gerçekleştirebilen mikroorganizma, en yüksek enzim aktivitesini 1M NaCl içeren ortamda göstermiştir.

Meksika'ya ait geleneksel cotija ve doble crema peynirlerinden izole edilen halotolerant veya HLAB'ın tanımlandığı bir çalışmada, izole edilen mikroorganizmaların lipolitik, proteolitik aktiviteleri ve asit oluşturma kapasiteleri incelenmiştir. En yüksek proteolitik aktivite *T. halophilus* ve *L. plantarum* suşlarında tespit edilmiştir. Lipolitik aktivite tayininde ise *T. halophilus*'un substratı hidroliz ederek lipolitik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan çalışmada ise test edilen HLAB suşlarının birkaçı tribütirin agarda lipolitik aktivite göstermiştir (Morales vd., 2011). Buna karşın Jung vd. (2012) tarafından yapılan geleneksel Kore yemeği olan kimçiden izole edilen LAB'ın teknolojik özelliklerinin incelendiği bir başka çalışmada ise *Pediococcus* spp. ve *Lactobacillus* spp. olarak tanımlanan suşlarda lipaz aktivitesi tespit edilememiştir.

Anisha vd. (2012)'nin yaptığı bir çalışmada ise tuzlu balık örneklerinden 17 halofil izolatu elde edilmiştir. Suşların lipolitik aktivitesi %1 oranında Tween 80 veya Tween 40

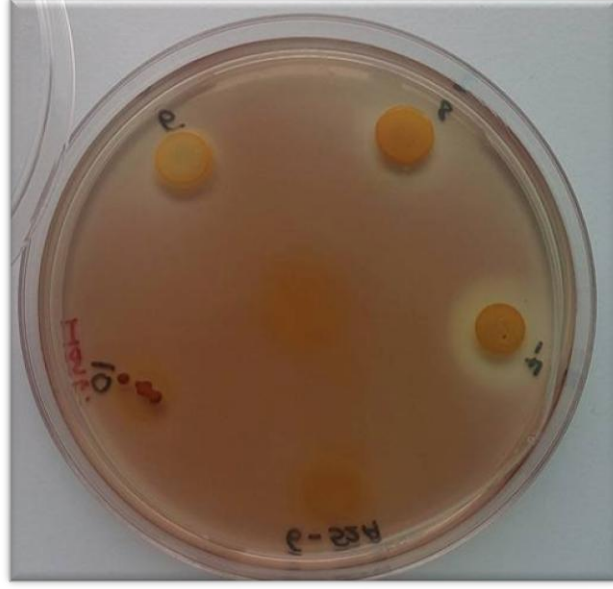
içeren besi ortamı üzerinde test edilmiştir. 16S rDNA analizi sonucunda en yüksek enzim aktivitesi *Gamma proteobacteria* sınıfına ait olan yeni bir suş olduğu belirtilmiştir. Bu suşun 2M-5M arasında tuz konsantrasyonuna kadar gelişme gösterdiği belirlenmiştir ve 2M ile 4M tuz konsantrasyonu ve pH 6-11 aralığında lipolitik aktivite gösterdiği saptanmıştır. Landeta vd. (2013)'nin kürlenmiş-kurutulmuş İspanyol sosislerinden izole edilmiş LAB'ın teknolojik özelliklerini çalıştığı bir araştırmada, izolatların hiçbiri Tween-80 veya Tween-20'yi parçalayamazken, aynı deneyin bir başka besi ortamında yapılması sonucunda yalnızca *E. faecium*, *L. plantarum*, *L. paracasei* ve *L. sakei* olarak tanımlanmış suşların lipolitik aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Arktik bölgedeki toprak örneklerinden izole edilen psikrofilik *Pseudomonas* sp. ADT3 suşunun endüstri alanında kullanılmak üzere ürettiği ekstrasellüler lipaz enziminin araştırıldığı bir çalışmada ise enzim aktivitesi titrimetrik yöntemle ölçülmüştür. Araştırma sonucunda 0,11 U/ml lipaz üretiminin gerçekleştiği saptanmıştır (Dey vd., 2014).

Esteban-Torres vd. (2015) tarafından yapılan farklı bir çalışmada ise LP\_3562 olarak tanımlanan esteraz/lipaz bölgesini kodlayan halotolerant protein incelenmiş ve *L. plantarum* WCF S1 suşundan Lp\_3562 proteininin klonlanıp, *E. coli* BL21 suşuna aktarılması ve bu proteinin biyokimyasal karakterizasyonu üzerinde çalışılmıştır. Çalışma sonucunda %25 NaCl konsantrasyonunda bile lipaz aktivitesinin değişmediği belirlenirken, araştırmacılar Lp\_3562'nin tribütirin ve diğer uzun zincirli yapılarda lipaz aktivitesi gösterebildiğini tespit etmiştir. Enzim, pH 5-8 arasında aktivite gösterebilirken, en yüksek aktivitenin pH 7'de gerçekleştiği belirlenmiştir. Lp\_3562, optimum lipaz aktivitesini ise 40 °C'de gösterirken, buzdolabı sıcaklığında gösterilen (5 °C) maksimum aktivite %40 olarak tespit edilmiştir.

#### **4.6. İzolatların Pektolitik Enzim Aktivitesinin Kalitatif Değerlendirmesi**

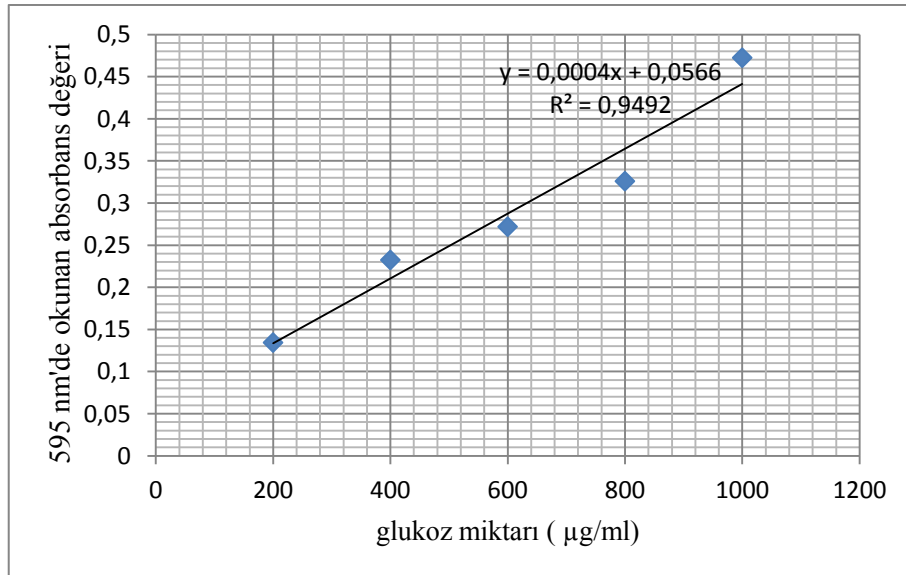
Çalışmamızda elde edilen 5 adet *L. plantarum* (Z39A, Z41A, Z53A, Z55A ve Z56A), 2 adet *L. acidipiscis* (Z1B, Z49A), *L. alimentarius* (Z42A) ve Z44A kodlu tanımlanamamış HLAB suşu olmak üzere toplam 9 adet izolat Petri yüzeyinde 2-18 mm arasında açık sarı renkte zon oluşturarak pozitif sonuç vermiştir. Buna karşın *E. faecium*, *L. farciminis* ve *L. namurensis* suşlarının ise pektolitik aktiviteye sahip olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.8). İzolatların pektolitik aktivitelerinin kalitatif ölçüm değerleri EK 6'da verilmiştir.



Şekil 4.8. Pektolitik aktivite gösteren bakterilerin oluşturduğu zon

#### 4.7. İzolatların Pektolitik Enzim Aktivitesinin Kantitatif Değerlendirmesi

Pektolitik aktivite gösteren izolatların 3,24 - 5,29 U/ml arasında pektinaz üretim yeteneğinde oldukları glukoz ile hazırlanmış standart kalibrasyon eğrisine göre hesaplanmıştır (Şekil 4.9). İzolatların pektolitik aktivitelerinin kantitatif ölçüm değerleri EK 6 - Tablo 4.6' da verilmiştir.



Şekil 4.9. Pektolitik aktivitenin kalibrasyon eğrisi ( $R^2 = 0,9492$ )

Önemli derecede endüstriyel öneme sahip olan pektinolitik enzimler, gıda işleme süreçlerinde gereklidir, özellikle meyve sularının ekstraksiyon ve berraklaştırılmasında, yağ ekstraksiyonunda, bitkisel materyallerden pigment eldesinde, tekstil, ilaç, deterjan, deri ve kağıt endüstrisinde önemli yere sahiptir (Tariq vd., 2012). Gıda işleme sürecinde önemli rol oynayan pektinolitik enzimler, ıslanıp, yumuşama, sıvılaşma ve sebze dokularının ekstraksiyonunda rol oynamaktadırlar (Panda vd., 1999).

Beg vd. (2000)'nin yaptığı çalışmada *Streptomyces* sp. QG-11-3 suşunun 36 saatlik inkübasyonu sonrasında 12 U/ml pektinaz ürettiği tespit edililirken, pektin ve pamuk tohumu küspesi ile zenginleştirilmiş ortamda ise maksimum seviyede 34 U/ml enzim ürettiği belirlenmiştir. Pektinin substrat olarak kullanıldığı ve DNS metodu kullanılarak pektinaz aktivitesinin araştırıldığı bir başka çalışmada *Bacillus* spp. 0.10 U/mL pektinaz üretmiştir (Soriano vd., 2005). Patil ve Dayanand (2006)'ın çalışmasında ise *Aspergillus niger* DM27'den ekstrakte edilmiş ekzopektinaz, glukozun susbrat olarak kullanıldığı zaman 30,3 U/ml enzim aktivitesi gösterirken, bu değerin farklı substrat kaynakları kullanıldığında ise 14,5 U/ml ve 15,5 U/mL olarak düşüş gösterdiği ifade edilmiştir.

18 adet aktinomiset ile çalışılan Jacob vd. (2008) ise 10 adet bakterinin pektini parçalama yeteneğinde olduğu tespit edilmiştir. Saptanan en yüksek enzim aktivitesi ise 18,3 U/mL olarak belirtilmiştir. Gomes vd. (2009)'nin yaptığı çalışmada ise portakal küspesi benzeri substratların eklenmesi ile *Penicillium viridicatum* suşunun ürettiği enzim aktivitesi 3,0 U/ml'den 4,1 U/ml'ye artış göstermiştir. Bizim çalışmamızda ise *L. acidipiscis* Z1B izolatının 5,29 U/ml enzim üreterek en yüksek pektolitik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

*Bacillus sphaericus* tarafından üretilen poligalakturonaz aktivitesinin belirlenmesi amacıyla Jayani vd. (2010)'nin yaptığı başka bir çalışmada da topraktan ve çürümüş bazı sebzelerden toplam 74 bakteri izole edilmiştir. 74 adet izolattan 9 adedinde 4,5 U/ml'den fazla enzim aktivesi belirlenmiştir. Çalışmada farklı karbon kaynakları ile de enzim üretimi gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak turunçgil pektinin substrat olarak kullanıldığı ortamda en yüksek enzim aktivitesi tespit edilirken, enzim üretimi için optimum sıcaklık ise 30°C olarak belirlenmiştir. Tepe ve Dursun (2012) *Bacillus pumilus*'un optimum pH'de en yüksek ekzopektinaz aktivitesini 3,20 U/mL olarak tespit etmiştir. Naderi vd. (2012)'nin çalışması ile 2 farklı subsrat kullanılarak *A. niger*'in pektinaz aktivitesi ölçülmüştür. Substrat olarak turunçgil pektinin kullanıldığı çalışmada, inkübasyondan 6 gün sonra 0,6 U/ml enzim üretimi saptanmıştır.

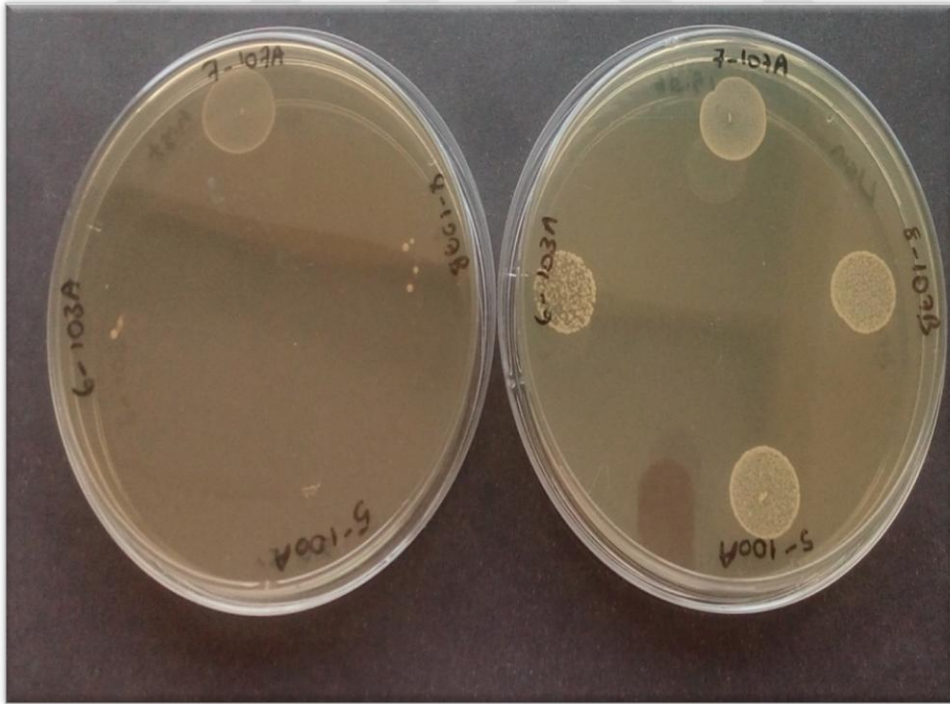
Patil vd. (2012)'nin havuç suyundan izole edilen bakterilerin pektolitik aktivitesini araştırdığı çalışmada, 39,44 U/ml enzim üreterek en iyi enzim aktivitesinin *Bacillus* spp.'ye ait olduğu tespit edilmiştir. Çürümüş meyve artıklarından izole edilmiş *Cocci* spp. tarafından alkali pektinaz üretiminin incelendiği bir diğer çalışmada pH 8'de 72 saatlik inkübasyon sonrasında saptanan maksimum enzim aktivesi 13,96 U/ml olarak belirlenmiştir. Çalışmada pektinazın endüstriyel üretimi için güçlü bir bakteri kaynağı bulunduğu da ifade edilmiştir (Kumar ve Sharma, 2012). Manyok bitkisi kullanılarak *Bacillus* sp. MFW7 suşundan pektinaz üretimi ve optimizasyonu amacıyla yapılan farklı bir çalışmada en yüksek pektinaz üretiminin, 35°C'de 72 saatte, başlangıçta pH 6,5 ile gerçekleştiği belirtilirken, saptanan en yüksek pektinaz aktivitesi 2-2,5 U/ml olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda kullanılan laktoz, pepton gibi bileşiklerin de pektinaz üretimini arttırdığı tespit edilmiştir (Mukesh Kumar vd., 2012). Siddiqui vd. (2013)'nin çalışmasında da farklı kaynaklardan izole edilmiş 40 fungustan 7 adedi yüksek pektinaz aktivitesi göstermiştir.

#### **4.8. İzolatların Dekarboksilaz Aktivitelerinin Belirlenmesi**

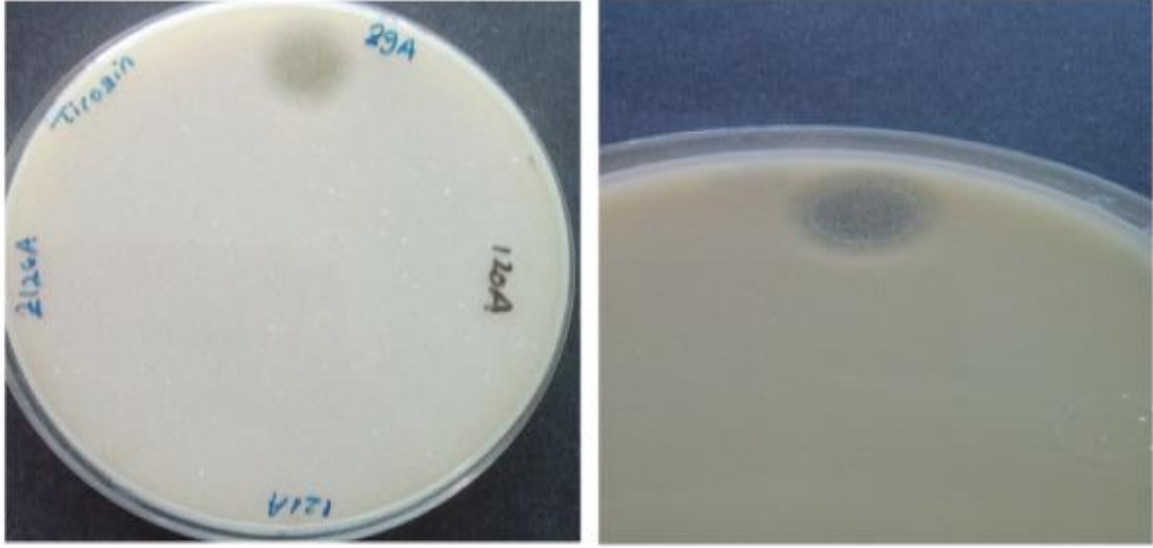
88 adet izolatın histidin, lizin ve tirozin aminoasitlerini parçalama yetenekleri incelenmiştir. Buna göre mikroorganizmalar histidin ve lizin aminoasitlerini içeren besi ortamında dekarboksilaz aktivitesi göstermeyip, besiyerinde renk değişimi meydana gelmezken, sadece tirozin aminoasidi içeren besi ortamında geliştirilen *L. plantarum* (Z13A) hafif düzeyde olmak üzere, 9 adet *L. plantarum* (Z9A, Z31B, Z32A, Z44B, Z48A, Z53A, Z55A, Z56A, Z59A), 3 adet *L. acidipiscis* (Z46A, Z47A, Z49A), 1 adet *L. alimentarius* (Z42A) suşunda 14 adet izolatın tirozin aminoasidini dekarboksile ederek koloni etrafında şeffaf zon oluşturduğu saptanmıştır (şekil 4.10, 4.11 ve 4.12). İzolatların farklı aminoasitlerde gösterdikleri dekarboksilaz aktiviteleri EK 7 - Tablo 4.7 'de verilmiştir.



Şekil 4.10. Kültür yoğunluğunun Mc Farland 0,5 e ayarlanması



Şekil 4.11. Bakterilerin histidin ve lisin içeren besiyerindeki negatif zon görüntüsü



**Şekil 4.12.** Bakterilerin tirozin içeren besiyerindeki oluşturduğu pozitif zon görüntüsü

Gıdalarda biyojen aminlerin belirlenmesi sadece biyojen aminlerin gıdalardaki toksik etkilerinden değil ayrıca gıdaların mikrobiyal kalitesini belirlemede potansiyel indikator olarak rol alması nedeniyle de oldukça önemlidir (Silla Santos, 1996; Awan vd., 2008). Bireylerin bağışıklık sistemine bağlı olmakla birlikte toksik doz; histamin için 10 mg/100 g, tiramin için 80 mg/100 g olarak verilmektedir (Halasz vd., 1994).

Meyve ve sebze gibi gıdaların çoğunda biyojen aminin düşük konsantrasyonları doğal karakteristik özelliklerini oluşturmaktadır. Gıdaların, depolanması ya da uzun süre saklanması durumlarında aminoasitlerin dekarboksilasyonu, mikroorganizmalarla ya da ham maddede bulunan enzimler ile gerçekleşmektedir. Serbest biyojen aminler, olgunlaşmış gıdaların tipik tadını oluştururken, belirli aroma bileşenlerinin de öncül maddesi olarak görev yapmaktadırlar (Stadnik ve Dolatowski, 2010). Tüketicilerin daha sağlıklı gıdaları talep etmeleri nedeniyle fermente gıdalarda bulunan bakterilerin biyojen amin üretim özelliklerinin belirlenmesi, bu bakterilerin gıda zehirlenmelerine sebep olma potansiyelleri nedeniyle oldukça önemlidir (Stadnik ve Dolatowski, 2010).

Peynirlerden izole edilmiş laktobasil suşlarının biyojen amin üretme kapasitesinin incelendiği bir çalışmada, bakteriler %2 aminoasit eklenen bazal besiyerinde 30 °C'de 7 gün inkübe edilmiştir. 15 peynir örneğinden 5 adet histidini ve 1 adet tirozini dekarboksile eden bakteri izole edilmiştir. İnkübasyon sonunda histidin, lizin ve ornitin aminoasitlerini içeren besi ortamında koloniler etrafında görünen mor zonlar pozitif, sarı zonlar ise negatif dekarboksilasyonu ifade ederken, tirozin aminoasidinin bulunduğu besi ortamındaki pozitif



dekarboksilasyon aktivitesi koloniler etrafındaki şeffaf zonlarla tespit edilmiştir. Histidini dekarboksile eden suşların *L. buchneri*, tirozini dekarboksile eden suşların ise *L. brevis* olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre tirozin aminoasidinde gözlenen şeffaf zonlar bizim çalışmamızla da benzerlik göstermektedir (Joosten ve Northolt, 1989). Bizim çalışmamızda da *L. acidipiscis* (46A, 47A, Z49A), *L. alimentarius* (Z42A) ve *L. plantarum* (Z9A, Z13A, Z31B, Z32A, Z44B, Z48A, Z53A, Z55A, Z56A, Z59A) suşları tirozin aminoasidinde şeffaf zon oluşturmuştur.

Peynir olgunlaşması boyunca oluşan biyojen amine enterokokların etkisinin incelendiği Galgano vd. (2001)'nin çalışmasında bütün *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarının tirozini parçalayıp tiramin ürettiği belirlenmiştir. Thapa vd. (2006)'nin yaptığı çalışmada Doğu Himalaya'ya ait geleneksel balık ürünlerinden izole edilen LAB'ın histidin, lizin, ornitin ve tirozin aminoasitleri kullanılarak biyojen amin üretme yetenekleri incelenmiştir. Araştırma sonucunda hiçbir suşun aminoasitleri parçalayamadığı ve biyojen amin üretme yeteneğinde olmadığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada işlenmiş balık ürünlerinin, peynir, şarap ve fermente sebzelerin genellikle histamin ve tiramin üretme yeteneğinde oldukları ifade edilmiş, fakat Doğu Himalaya'ya özgü balık ürünlerinden izole edilmiş LAB suşlarının biyojen amin üretme yeteneğinde olmaması onların ürün geliştirmede iyi bir başlatıcı kültür olabileceklerinin önemi de vurgulanmıştır. Kalhotka vd. (2012)'nin fermente sosisin üretim sürecinde üretilen biyojen amin değişimini saptamak amacıyla yaptığı çalışmada el yapımı taze sosislerde biyojen aminin düşük olduğu saptanmıştır. Sadece tirozin aminoasidinin dekarboksile olduğu ve yüksek oranda tespit edilen tiramin biyojen aminin duyarlı kişilerde risk oluşturabileceği de ifade edilmiştir.

Ertürkmen (2014)'in yaptığı çalışmada ise laktobasil, laktokok ve enterokok suşlarındaki dekarboksilaz aktivite testleri sonucunda hiçbir suşun histidin ve lizin öncü aminoasitlerini dekarboksile edemediği belirlenmiştir. Aynı çalışmada bazı enterokok suşlarının tirozini dekarboksile ederek tiramin ürettikleri tespit edilmiştir. Bizim araştırmamızda da izolatlar tarafından histidin ve lizin dekarboksile edilemezken, yalnızca tirozin aminoasidi dekarboksile edilmiştir.

Gıda ile ilgili çevresel faktörlerin *L. curvatus* tarafından üretilen tiramine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, *L. curvatus* LTH 972 suşu tirozin ile desteklenmiş sıvı besiyerinde geliştirilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde en yüksek tiramin oluşumunun 30 °C, pH 5,2 ve 0,97 su aktivitesinde gerçekleştiği tespit edilmiştir. Düşük sıcaklık, yüksek pH ve su aktivitesinde ise reaksiyonunun yavaşladığı belirlenmiştir. Çalışmada protein içeren substratların kullanılması ile de proteolitik mikroorganizmaların da varlığı

ile tiramin oluşumunda artış gözlenmiştir (Straub vd., 1994). Bover-Cid ve Holzapfel (1999) tarafından farklı fermente gıdalardan izole edilmiş LAB'ın ürettiği biyojen aminin tespit edilmesi amacıyla yapılmış bir başka çalışmada LAB tarafından üretilen başlıca biyojen amin, tiramin olmuştur. Bunun yanında enterokok, *Carnobacteria* ve özellikle *L. curvatus*, *L. brevis* ve *L. buchneri*'yi içeren laktobasil türlerinin bazı suşlarında en yoğun olarak üretilen biyojen amin yine tiramin olarak tespit edilmiştir. Buna karşın, laktobasillerin bazı suşları, *Leuconostoc* spp., *Weissella* spp. ve pediyokoklarda ise biyojen amin üretimi tespit edilmemiştir. Çalışmada Enterobacteriaceae üyelerinin kadaverin ve putresin üretimi ile ilişkisi olduğu da belirlenirken, test edilen izolatların hiçbirinde histamin üretimi saptanmamıştır.

Sofralık zeytinlerde biyojen amin miktarının belirlenmesi amacıyla García-García vd. (2000) tarafından yapılan bir çalışmada, İspanyol usulü veya depolanmış yeşil zeytinlerin biyojen amin içeriğinin ise salamura periyodunda artış gösterdiği, fakat çok fazla yüksek konsantrasyona çıkmadığı da ifade edilmiştir. Zeytin örneklerinde putresin ve tuzlama aşamasından 3 ay sonra da az miktarda kadaverin varlığı belirlenmiştir. 12 aydan sonra ise histamin, tiramin ve triptamin de tespit edilmiştir. Fermente domuz sosisinden izole edilmiş LAB'ın aminoasit dekarboksilasyonunun araştırıldığı bir çalışmada, test edilen 66 adet LAB arasında özellikle *L. curvatus* olmak üzere 21 laktobasil ve izole edilen 16 adet enterokokun hepsinde biyojen amin üretimi tespit edilmiştir. Bu bakteriler başlıca tiramin biyojen aminini üretirken, aynı zamanda feniltiramin, triptamin, putresin ve kadaverin biyojen aminlerini de oluşturduğu saptanmıştır. Buna karşın LAB'ın hiçbirisi histamin üretmemiştir (Bover-Cid vd., 2001).

García-García vd. (2001) tarafından yapılan bir başka çalışmada da paketlenmiş sofralık zeytin ve çeşitli salamura örneklerinde biyojen amin miktarı araştırılmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde, paketlenmiş zeytin, kapari, turşuluk kebere ve salatalık meyvelerinde toplam 60 mg/kg'dan daha az miktarda biyojen amin saptanmıştır. Belirlenen en yüksek üretilen biyojen amin ise 50 mg/kg ile putresin ve 38 mg/kg ile histamin olmuştur. En yüksek oranda belirlenen bu iki biyojen aminin ise sırasıyla işlem görmemiş siyah zeytin ve kebere meyvelerinden tespit edildiği belirtilmiştir. Yeşil zeytinlerin ve salatalık meyvelerinin hepsinde putresine 18 mg/kg'dan daha düşük miktarlarda da olsa rastlanmıştır. Araştırma sonucunda ise tespit edilen bu biyojen aminlerin insan sağlığı açısından risk oluşturmadığı da ifade edilmiştir. Silva vd. (2002)'nin Portekiz soğuk tütsülenmiş vakumlanmış balık örneklerinden izole edilen bakterilerin ürettiği histamin ve tiramin biyojen aminin tespit edilmesi amacıyla yaptıkları

bir çalışmada, histidin ve tirozin içeren agar ortamında bakteriler, anaerobik olarak 25 °C ve 5 °C'de, 48 saat ve 10 gün süreyle inkübe edilmiştir. İki farklı sıcaklıkta LAB, benzer sonuç sergilerken, diğer suşların 25 °C'de daha iyi histamin ve tiramin ürettiği saptanmıştır. Tirozin ilave edilmiş agar ortamında, bakterilerin ürettiği tiramin, besi ortamındaki kolonilerin etrafındaki şeffaf zonlar ile gözlenmiştir. Tiramin üreten LAB'ın ise tür tanısında *Lc. lactis lactis* ve *Carnobacterium* olduğu tespit edilmiştir. Portekiz tütülenmiş balıktan izole edilen *Acinetobacter* spp. ve *Pseudomonas* spp.'nin ise histidin içeren besi ortamında negatif sonuç verdiği fakat sıvı besi ortamında ise HPLC analizleri sonucunda histamin üretiminin gerçekleştiği belirtilmiştir.

García-García vd. (2004), fermente yeşil sofralık zeytinlerin depolama süresince zapatera tipi bozulma ile ilişkili biyojen amin oluşumunu araştırmıştır. Araştırma sonucunda depolama başlangıcında putresin konsantrasyonunu 38 mg/L olarak belirlemişler ve bu miktarın depolama süresince değişmediğini gözlemlemişlerdir. Piyasadan çeşitli yerlerden alınan sofralık zeytinlerde biyojen amin oluşumunun araştırıldığı bir çalışmada, triptamin, tiramin ve fenilettilamin biyojen aminlerinin olduğu belirlenmiştir. En yüksek konsantrasyonda oluşan biyojen amin ise triptamin olmuştur.

Çalışmada tespit edilen biyojen aminlerden en düşük konsantrasyonun ise histamine ait olduğu ve rastlanma sıklığı en düşük biyojen aminin ise spermin olduğu ifade edilmiştir. Araştırma sonucunda açıkta ya da hazır paketlenmiş olarak temin edilmiş, yeşil ya da siyah zeytinlerde biyojen amin konsantrasyonlarında bir fark olmadığı da belirtilmiştir (Ayhan ve Ergen, 2006).

MRS sıvı besiyerinde modifiye edilmiş dekarboksilasyon agarında LAB'ın ürettiği histamin ve tiramin varlığının belirlenmesi amacıyla Majjala (2008) tarafından yapılan çalışmada, başlatıcı kültür olarak 13 suş, ticari başlatıcı kültürlerden alınmış 4 suş ve kurutulmuş sosis örneklerinden izole edilmiş 10 suş ile çalışılmıştır. Test edilen suşlardan sadece *L. brevis*'in hem MRS sıvı besi ortamındaki HPLC analizleri ile hem de modifiye edilmiş dekarboksilasyon agarda pozitif biyojen amin oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre ise Finlandiya'da et ürünleri üretiminde yaygın kullanılan başlatıcı LAB kültürlerinin kullanılmasının, histamin ve tiramin biyojen aminleri üretmeleri açısından değerlendirildiğinde güvenli olabileceği vurgulanmıştır.

İtalyan sofralık zeytinlerinden izole edilen 19 LAB'ın başlatıcı kültür olarak seçilebilmeleri için teknolojik ve probiyotik olma özellikleri araştırılan bir çalışmada izolatların histamin, putresini kadaverin ve tiramin biyojen aminlerini üretmedikleri belirlenmiştir (Bevilacqua vd., 2010). 6 adet doğal fermente Yunan zeytininin kimyasal,

mikrobiyolojik ve moleküler analizlerinin yapıldığı bir başka çalışmada ise izole edilen bakterilerin histamin ve tiramin biyojen aminlerini üretme yetenekleri incelenmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde bazı örneklerde düşük miktarlarda biyojen amin ve biyojen amin üreten bakteriye rastlandığı saptanmıştır (Tofalo vd., 2012).



## 5. SONUÇ

Türkiye’de üretilen önemli tarımsal ürünlerden olan zeytinin tuz içinde korunması ve işlenmesi özellikle Akdeniz ülkelerinde çok uzun yıllardır uygulanan eski bir gelenektir. Zeytin fermantasyonunda zeytin içeriği, pH, tuz konsantrasyonu ve bakteriyel flora önemli etkenlerdendir. Mikroflora yoğunluğu zeytin fermantasyonu ve son ürün kalitesini etkileyen çok önemli bir faktördür (Özay vd., 1995). Zeytin fermantasyonundaki yüksek tuz konsantrasyonuna dayanıklı mikroorganizma grubunu HLAB oluşturmaktadır.

Yapılan çalışmamız ile ilgili literatür taraması yapıldığında ülkemizde HLAB ile ilgili çok az araştırmanın bulunduğu gözlenmiştir. Yapılan bu çalışma ile ülkemizdeki HLAB’a yönelik araştırmaların eksikliğini giderilmesi ve teknolojik özellikleri araştırılmış HLAB kültür koleksiyonu oluşturulması hedeflenmiştir. Çalışmada ilk olarak zeytinlerden, HLAB izole edilmiş ve bazı teknolojik özellikleri incelenerek bir kültür koleksiyonu oluşturulmuştur. Elde edilen izolatların genetik tanısının yapılması ile fizyolojik veya biyokimyasal tanımlamalar gibi klasik tanımlama yöntemlerine göre daha güvenilir, kesin sonuçlar elde edilmiştir.

İzolatlardan bazılarının patojen olabilme riski de göz önünde bulundurularak güvenilirlik amacıyla suşların tüketiciye sunulmadan önce biyogüvenilirlik deneylerinin yapılması gerekmektedir. Çalışmamızda izole edilen bakteriler, gerekli güvenilirlik denemeleri yapıldıktan sonra çalışılan teknolojik özelliklerine bağlı olarak seçilecek uygun suşların zeytin fermantasyonu başta olmak üzere yeni ürün geliştirmede başlatıcı kültür olarak kullanılması ve ürün verimliliğinin artırılmasına katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Araştırma sonuçlarına göre çalışılan 7 adet enterokok suşunda, pektolitik, lipolitik aktivite ve dekarboksilaz aktivitesi saptanmamıştır. *L. acidipiscis* suşlarının da büyük çoğunluğu pektolitik aktivite, lipolitik aktivite ve dekarboksilaz aktivitesi göstermemiştir. *L. plantarum* suşlarında ise lipolitik, pektolitik aktivite ve dekarboksilaz aktivitesi gözlenmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde *E. faecium* Z3a, *E. faecium* Z4b, *E. faecium* Z8a ve *E. faecium* Z8b enterokok suşları ve *L. plantarum* Z78B, *L. plantarum* Z107A, *L. alimentarius* Z112B, *L. namurensis* Z112C ve *L. acidipiscis* Z112D laktobasil suşlarının sahip oldukları teknolojik özellikleri sayesinde zeytin fermantasyonunda kullanılmaları önerilebilir.

Elde edilen sonuçların kontrollü sebze fermantasyonu açısından teknolojideki önemli bir eksikliği gidereceği, yeni ürün geliştirilmesine katkı sağlayacağı ve ileride yapılacak araştırmalara da altyapı hazırlayabileceği düşünölmektedir.



## 6. KAYNAKLAR

- Abriouel, H., Benomar, N., Lucas, R., Gálvez, A., 2010. Culture-independent study of the diversity of microbial populations in brines during fermentation of naturally-fermented Aloreña green table olives. *International Journal of Food Microbiology*, 144 (3), 487-96. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.11.006.
- Aiba, S., Kilal, K., Imanaka, T., 1983. Cloning and expression of thermostable  $\alpha$ -amilase gene from *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus subtilis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 46 (5), 1059-1065.
- Aksöz, N., 1985. Halofilik Bakteriler. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 19, 161- 167.
- AluI, 2015. Eurx Molecular Biology Products. [http://www.eurx.com.pl/ow\\_userfiles/plugins/wysiwygeditor/images/2/AluI.pdf](http://www.eurx.com.pl/ow_userfiles/plugins/wysiwygeditor/images/2/AluI.pdf) (Erişim Tarihi: 02.03.2015)
- Alvarez-Barrientos, A., Arroyo, J., Canto, R., Nombela, C., Sanchez-Perez, M., 2000. Applications of Flow Cytometry to Clinical Microbiology. *Clinical microbiology reviews*, 13 ( 2), 167–195.
- Ambadoyiannis, G., Hatzikamari, Litopoulou-Tzanetaki, E., Tzanetakis, N., 2004. Probiotic and technological properties of Enterococci isolation from infants and cheese. *Food Biotechnology*, 18, 307–325. doi: <http://dx.doi.org/10.1081/FBT-200035024>.
- Ammor, S., Dufour, E., Zagorec, M., Chaillou, S., Chevallier, I., 2005. Characterization and selection of *Lactobacillus sakei* strains isolated from traditional dry sausage for their potential use as starter cultures. *Food Microbiology*, 22 (6), 529–538. doi:10.1016/j.fm.2004.11.016.
- An, C., Takahashi, H., Kimura, B., Kuda, T., 2010. Comparison of PCR-DGGE and PCR-SSCP analysis for bacterial flora of Japanese traditional fermented fish products, ajinarezushi and iwashi-nukazuke. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 1796–1801.
- Andersen, H.J., Østdal, H., 1995. Partial purification and characterisation of alipase from *Lactobacillus plantarum* MF32. *Food Chemistry*, 53 (4), 369–373.
- Anisha, C., Mathew, J., Radhakrishnan, E.K., 2012. Extracellular Lipolytic Enzyme Production by a Novel Extremely Halophilic Bacterium. *Universal Journal of Environmental Research and Technology*, 2 (3), 143-148.
- Awan, M.A., Fleet, I., Thomas, C.L.P., 2008. Determination of biogenic diamines with a vaporization derivatisation approach using solid-phase microextraction gas chromatography–mass spectrometry. *Food Chemistry*, 111, 462-468.
- Ayhan, K., Ergen, Ö., 2006. Sofralık Zeytinlerde Biyojen Amin Miktarlarının Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Kesin Raporu.

- Başığit Kılıç, G., 2004. Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Olarak Kullanılma Özellikleri. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Başığit Kılıç, G., 2009. Bazı Laktobasil Suşlarının Genetik Tanısının Yapılması ve Faj Dirençliliklerinin Belirlenmesi, Doktora Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Başığit Kılıç, G., Kuleaşan, H., Eralp, İ., Karahan, A.G., 2009. Manufacture of Turkish Beyaz cheese added with probiotic strains. *LTW- Food Science and Technology*, 42, 1003-1008. doi:10.1016/j.lwt.2008.12.015.
- Başığit Kılıç, G., Kuleaşan, H., Sömer, V. F., Akpınar, D., 2013. Determination of potential probiotic properties of human originated *Lactobacillus plantarum* strains. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 18, 479-485.
- Bautista-Gallego, J., Arroyo-López, F.N., Durán-Quintana, M.C., Garrido- Fernandez, A., 2008. Individual effects of sodium, potassium, calcium, and magnesium chloride salts on *Lactobacillus pentosus* and *Saccharomyces cerevisiae* growth. *Journal of Food Protection* 71 (7), 1412-21.
- Bautista-Gallego, J., Arroyo-López, F.N., Rantsiou, K., Jiménez-Díaz, R., Garrido-Fernández, A., Cocolin, L., 2013. Screening of lactic acid bacteria isolated from fermented table olives with probiotic potential, *Food Research International*, 50 (1), 135–142.
- Bayley, S.T., 1979. Halobacteria-a problem in biochemical evolution. *Trends In Biochemical Sciences*, 4 (10), 223-225.
- Beg, Q.K., Blushan, B., Kapoor, M., Hoondal, G.S., 2000. Production and characterization of thermostable xylanase and pectinase from *Streptomyces* sp. QG-11-3. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 24 (6), 396-402.
- Beisson, F., Tiss, A., Rivière, C., Verger, R., 2000. Methods for lipase detection and assay: a critical review. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102 (2), 133-153.
- Bevilacqua, A., Altieri, C., Corbo, M.R., Sinigaglia, M., Ouoba, L.I., 2010. Characterization of lactic acid bacteria isolated from Italian Bella di Cerignola table olives: selection of potential multifunctional starter cultures. *Journal of Food Science*, 75 (8), 536-540. doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01793.x.
- Blaiotta, G., Fusco, V., Ercolini, D., Aponte, M., Pepe, O., Villani, F., 2008. *Lactobacillus* Strain Diversity Based on Partial hsp60 Gene Sequences and Design of PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Assays for Species Identification and Differentiation. *Applied and Environmental Microbiology*, 74 (1), 208–215.
- Boeckh, M., Boivin, G., 1998. Quantitation of Cytomegalovirus: Methodologic Aspects and Clinical Applications. *Clinical Microbiology Reviews*, 11 (3), 533–554.



- Borcakli, M., Özay, G., Alperden, I., Ozsan, E., Erdek, Y., 1993. Changes in chemical and microbiological composition of two varieties of olive during fermentation. *Grasas y Aceite*, 44 (4-5), 253-258.
- Brenes, M., 2004. Olive Fermentation and Processing: Scientific and Technological Challenges. *Journal of Food Science*, 69 (1). DOI: 10.1111/j.1365-2621.2004.tb17875.x
- Brigidi, P., Swennen, E., Vitali, B., Rossi, M., Matteuzzi, D., 2003. PCR detection of *Bifidobacterium* strains and *Streptococcus thermophilus* in feces of human subjects after oral bacteriotherapy and yogurt consumption. *International Journal of Food Microbiology*, 81, 203-209.
- Bover-Cid, S., Heinrich Holzapfel, W., 1999. Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 53 (1), 33–41.
- Bover-Cid, S., Hugas, M., Izquierdo-Pulido, M., Vidal-Carou, M.C., 2001. Amino acid-decarboxylase activity of bacteria isolated from fermented pork sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 66 (3), 185–189. doi:10.1016/S0168-1605(00)00526-2.
- Bulut Ç. 2003. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from cheese. İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 112s, İzmir.
- Busch, U., Nitschko, N., 1999. Methods for the differentiation of microorganisms. *Journal of Chromatography B*, 722, 263–278.
- Cai, Y., Ohmomo, S., Ogawa, M., Kumai, S., 1997. Effects of NaCl-tolerant bacteria and NaCl on the fermentation characteristics and aerobic stability of silage. *Journal of Applied Microbiology*, 83 (3), 307-313.
- Cappuccino, J, Sherma, N., 2007. *Microbiology: A Laboratory manual*. 7th. Ed. Pearson Education.
- Chamkha, M., Sayadi, S., Bru, V., Godon, J.J., 2008. Microbial diversity in Tunisian olive fermentation brine as evaluated by small subunit rRNA - Single strand conformation polymorphism analysis. *International Journal of Food Microbiology*, 122 (1-2), 211-215. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.052.
- Chammem, N., Kachouri, M., Mejri, M., Peres, C., Boudabous, A., Hamdi, M., 2005. Combined effect of alkali pretreatment and sodium chloride addition on the olive fermentation process. *Bioresource Technology*, 96 (11), 1311-6.
- Chao, S.-H., Wu, R.-J., Watanabe, K., Tsai, Y.-C., 2009. Diversity of lactic acid bacteria in suan-tsai and fu-tsai, traditional fermented mustard products of Taiwan, *International Journal of Food Microbiology*, 135 (3), 203-210. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.07.032.

- Chen, Y.-S., Yanagida, F., Hsu, J.-S., 2006a. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from suan-tsai (fermented mustard), a traditional fermented food in Taiwan, *Journal of Applied Microbiology*, 101, 125–130. doi:10.1111/j.1365-2672.2006.02900.x
- Chen, Y.-S., Yanagida, F., Hsu, J.-S., 2006b. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from *dochi* (fermented black beans), a traditional fermented food in Taiwan, *Letters in Applied Microbiology*, 43 (2), 229–235. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2006.01922.x.
- Chorianopoulos, N.G., Boziaris, I.S., Stamatiou, A., Nychas, G.-J.E., 2004. Microbial association and acidity development of unheated and pasteurized green-table olives fermented using glucose or sucrose supplements at various levels. *Food Microbiology*, 22 (1), 117-124.
- Ciafardini, G., Marsilio, V., Lanza, B., Pozzi, N., 1994. Hydrolysis of Oleuropein by *Lactobacillus plantarum* Strains Associated with Olive Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 60 (11), 4142–4147.
- Collins, J.D., Noerrung, B., Budka, H., Andreoletti, O., Buncic, S., Griffin, J., Hald, T., Havelaar, A., Hope, J., Klein, G., Koutsoumanis, K., McLauchlin, J., Müller-Graf, C., Nguyen-The, C., Peixe, L., Maradona, M.P., Ricci, A., Sofos, J., Threlfall, J., Vågsholm, I., Vanopdenbosch, E., 2011. Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA Journal*, 9 (10), 2393.
- Collins, M.D., Rodrigues, U., Aguirre, A.M., 1991. Phylogenetic analysis of the genus *Lactobacillus* and related lactic acid bacteria as determined by reverse transcriptase sequencing of 16S rRNA. *FEMS Microbiology Letters*, 77, 5-12.
- Corsetti, A., Perpetuini, G., Schirone, M., Tofalo, R., Suzzi, G., 2012. Application of starter cultures to table olive fermentation: an overview on the experimental studies. *Frontiers In Microbiology*, 3, 1-6. doi: 10.3389/fmicb.2012.00248.
- DeMan, J.C., Rogosa, M., Sharpe, M.E., 1960. A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. *Journal of Applied Microbiology*, 23 (1), 130-135. DOI: 10.1111/j.1365-2672.1960.tb00188.x.
- De Vuyst, L., 2000. Technology aspects related to the application of functional starter cultures. *Food Technology and Biotechnology*, 38, 105–112.
- Deveau, H., Moineau, S., 2003. Use of RFLP to characterize *Lactococcus lactis* strains producing exopolysaccharides. *Journal of Dairy Science*, 86, 1472–5.
- Dey, A., Chattopadhyay, A., Saha, P., Mukhopadhyay, S., Maiti, T.K., Chatterjee, S., Roy, P., 2014. An Approach to the Identification and Characterisation of a Psychrotrophic Lipase Producing *Pseudomonas* sp. ADT3 from Arctic Region. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 5, 322-33.

- Dobson, C.M., Deneer, H., Lee, S., Hemmingsen, S., Glaze, S., Ziola, B., 2002. Phylogenetic analysis of the genus *Pediococcus*, including *Pediococcus claussenii* sp. nov., a novel lactic acid bacterium isolated from beer, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52, 2003-2010.
- Doğan, H.B, Tükel, Ç., Çakır, İ., 2000. Lipolitik Bakteriler. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını. Sim Matbaası, 522 s, 29. Bölüm, Ankara.
- Dovat, A.M., Reinbold, G.W., Hammond, E.G., Vedamuthu, E.R., 1970. Lipolytic and proteolytic activity of enterococci and lactic group streptococci isolated from young Cheddar cheese. *Journal of Milk and Food Technology*, 33, 365–372.
- Ennahar, S., Cai, Y., 2005. Biochemical and genetic evidence for the transfer of *Enterococcus solitarius* Collins et al. 1989 to the genus *Tetragenococcus* as *Tetragenococcus solitarius* comb. nov., *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55, 589–592.
- Epstein, W., S. G. Schultz., 1965. Cation transport in *Escherichia Coli* V. Regulation of cation content. *The Journal of General Physiology*, 49, 221-234.
- Ertürkmen, P., 2014. Beyaz peynir üretimi için starter kültür izolasyonu ve bu kültürlerin peynirin özellikleri üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Esteban-Torres, M., Mancheno, J.M., Rivas, B., Munoz, R., 2015. Characterization of a halotolerant lipase from the lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum* useful in food fermentations. *LWT-Food Science and Technology*, 60 (1), 246–252. doi:10.1016/j.lwt.2014.05.063.
- Evren, M., Apan, M., Tutkun, E., Evren, S., 2011. Geleneksel Fermente Gıdalarda Bulunan Laktik Asit Bakterileri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 09 (1), 11-17.
- Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K-H., Stackebrandt, E., 2006. *The Prokaryotes: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria*, Third Edition, Springer Science & Business Media, 4, 1140 s.
- Fernández Gonzalez, M.J., García García, P., Garrido Fernández, A., Durán Quintana, M.C., 1993. Microflora of the aerobic preservation of directly brined green olives from Hojiblanca cultivar. *Journal of Applied Microbiology*, 75 (3), 226–233.
- Fleming, H.P., W.M.J.R. Walter, Etchells J.L., 1973. Antimicrobial properties of oleuropein and products of its hydrolysis from green olives. *Applied Microbiology*, 26 (5), 777–782.
- Franz, C.M.A.P., Holzappel, W, Stiles, M.E., 1999. Enterococci at the crossroads of food safety?, Review. *International Journal of Food Microbiology*, 47 (1-2), 1-24.

- Franz, C.M.A.P., Schillinger, U., Holzapfel, W.H., 1996. Production and characterization of enterocin 900, a bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* BFE 900 from black olives. *International Journal of Food Microbiology*, 29 (2–3), 255–270. doi:10.1016/0168-1605(95)00036-4
- Galgano, F., Suzzi, G., Favati, F., Caruso, M., Martuscelli, M., Gardini, F., Salzano, G., 2001. Biogenic amines during ripening in 'Semicotto Caprino'cheese: role of enterococci. *International Journal of Food Science and Technology*, 36, 153-160.
- Gao, S.J., Moore, P.S., 1996. Molecular Approaches to the Identification of Unculturable Infectious Agents. *Emerging Infectious Diseases*, 2 (3), 159- 167.
- García-García, P., Brenes-Balbuena, M., Hornero-Mendez, D., Garcia-Borrego, A., Garrido-Fernández, A., 2000. Content of biogenic amines in table olives. *Journal of Food Protection*, 63 (1), 111-116.
- García-García, P., Brenes-Balbuena, M., Romero-Barranco, C., Garrido-Fernández, A., 2001. Biogenic amines in packed table olives and pickles. *Journal of Food Protection*, 64 (3), 374-378.
- García-García, P., Romero-Barranco, C., Durán-Quintana, M.C., Garrido-Fernández, A., 2004. Biogenic amine formation and “Zapatera” spoilage of fermented green olives: Effect of storage temperature and debittering process. *Journal of Food Protection*, 67 (1), 117-123.
- Garrido Fernández, A., García García, P., Balbuena, M.B., 1995. Olive fermentations, *Enzymes, biomass, food and feed*. VCH, New York, 593-627.
- Glaasker, E., Konings, W.N., Poolman, B., 1996. Glycine Betaine Fluxes in *Lactobacillus plantarum* during Osmostasis and Hyper- and Hypo-osmotic Shock. *The Journal of Biological Chemistry*, 271, 17, 10060–10065.
- Golomb, B.L., Morales, V., Jung, A., Yau, B., Boundy-Mills, K.L., Marco, M.L., 2013. Effects of pectinolytic yeast on the microbial composition and spoilage of olive fermentations. *Food Microbiology*, 33, 97-106.
- Gomes, E., Ribeiro Leite, R.S., da Silva, R., Silva, D., 2009. Purification of an Exopolysaccharidase from *Penicillium viridicatum* RFC3 Produced in Submerged Fermentation. *International Journal of Microbiology*. doi:10.1155/2009/631942.
- Gupta, P., Upadhyay, L.S.B., Shrivastana, R., 2011. Lipase catalyzed-transesterification of vegetable oils by lipolytic bacteria. *Research Journal of Microbiology*, 6 (3), 281-288. DOI: 10.3923/jm.2011.281.288.
- Halasz, A., Barath, A., Simon Sakardi, L., Holzapfel, W., 1994. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends in Food Science and Technology*, 5, 42-49.

- Hardie, J. M., Whiley, R. A., 1997. Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. *Journal of Applied Microbiology*, Symposium Supplement, 83, 1-11.
- Harris, L.J., 1998. The microbiology of vegetable fermentations. In: Wood, B.J.B. (Ed.), *Microbiology of Fermented Foods*, 1, Blackie Academic & Professional, London, 45-72.
- Heperkan, D., 2013. Microbiota of table olive fermentations and criteria of selection for their use as starters. *Frontiers in Microbiology*, 2, 1-11. doi: 10.3389/fmicb.2013.00143.
- Holzapfel, W.H., Franz, C.M.A.P., Ludwig, W., Back, W., Dicks, L.M.T., 2006. The genera *Pediococcus* and *Tetragenococcus*, *The Prokaryotes*, 4, 229-266.
- Holzapfel, W.H., Wood, B.J.B., 1995. The Genera of Lactic Acid Bacteria. Springer Science & Business Media., 2, 38-40.
- Houde, A., Kademi, A., Leblanc, D., 2004. Lipases and their industrial applications: an overview. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 118 (1-3), 155-170.
- Hughenoltz, J., 2008. The lactic acid bacterium as a cell factory for food ingredient production. *International Dairy Journal*, 18 (5), 466-475. doi:10.1016/j.idairyj.2007.11.015
- Hurtado, A., Reguant, C., Bordons, A., Rozès, N., 2011. Expression of *Lactobacillus pentosus* B96 bacteriocin genes under saline stress, *Food Microbiology*, 28 (7), 1339-44. doi: 10.1016/j.fm.2011.06.004.
- Hurtado, A., Reguant, C., Bordons, A., Rozès, N., 2012. Lactic acid bacteria from fermented table olives, *Food Microbiology*, 31, 1-8.
- Ishikawa, M., Kodama, K., Yasuda, H., Okamoto-Kainuma, A., Koizumi, K., Yamasato, K., 2007. Presence of halophilic and alkaliphilic lactic acid bacteria in various cheeses. The Society for Applied Microbiology, *Letters in Applied Microbiology*, 44, 308-313.
- Ishikawa, M., Nakajima, K., Yanagi, M., Yamamoto, Y., Yamasato, K., 2003. “*Marinilactibacillus psychrotolerans* gen. nov., sp. nov., a halophilic and alkaliphilic marine lactic acid bacterium isolated from marine organisms in temperate and subtropical areas of Japan”, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53, 711-720.
- Jacob, N., Niladevi, K.N., Anisha, G.S., Prema, P., 2008. Hydrolysis of pectin: An enzymatic approach and its application in banana fiber processing. *Microbiological Research*, 163, 538-544.
- Jaeger, K.E., Dijkstra, B.W., Reetz, M.T., 1999. Bacterial biocatalysts: molecular biology, three-dimensional structures, and biotechnological applications of lipases. *Annual Review of Microbiology*, 53, 315-351.

- Jayani, R.S., Shukla, S.K., Gupta, R., 2010. Screening of Bacterial Strains for Polygalacturonase Activity: Its Production by *Bacillus sphaericus* (MTCC 7542). *Enzyme Research*, 5 sayfa. <http://dx.doi.org/10.4061/2010/306785>.
- Joosten, H.M.L.J., Northolt, M.D., 1989. Detection, Growth, and Amine-Producing Capacity of Lactobacilli In Cheese. *Applied and Environmental Microbiology*, 55 (9), 2356–2359.
- Jung, S.H., Park, J.W., Cho, I.J., Lee, N.K., Yeo, In-C., Kim, B.Y., Kim, H.K., Hahm, Y.T., 2012. Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Sauce-type *Kimchi*, *Preventive Nutrition and Food Science*, 17, 217-222. <http://dx.doi.org/10.3746/pnf.2012.17.3.217>.
- Justé, A., Lievens, B., Rediers, H., Willems, K.A., 2014. Genus *Tetragenococcus*, Chapter 16. DOI: 10.1002/9781118655252.ch16
- Kalhotka, L., Cwiková, O., Čírtková (Kovářová), V., Matoušová, Z., Přichystalová, J., 2012. Changes In Counts of Microorganisms and Biogenic Amines Production During the Manufacture of Fermented Sausages Poličan. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2 (2), 667-683.
- Kandler, O., Weiss, N., 1986. Genus *Lactobacillus* Beijerinck. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Baltimore, MD: Williams and Wilkins, 2, 1209-1234.
- Kang, J.H., Lee, M.S., 2005. Characterization of a bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* GM-1 isolated from an infant, *Journal of Applied Microbiology*, 98 (5), 1169–1176.
- Karovičova, J., Kohajdova, Z., 2005. Biogenic Amines in Food. *Chemical Papers*, 59 (1), 70-79.
- Kato, K., Toh, H., Sakamoto, N., Mori, K., Tashiro, K., Hibi, N., Sonomoto, K., Nakayama, J., 2014. Draft Genome Sequence of *Lactobacillus namurensis* Chizuka 01, Isolated from Nukadoko, a Pickling Bed of Fermented Rice Bran, *Genome Announcements*, 2, 1.
- Kenneally, P.M., Leuschner, R.G., Arendt, E.K., 1998. Evaluation of the lipolytic activity of starter cultures for meat fermentation purposes. *Journal of Applied Microbiology*, 84, 839–846.
- Kobayashi, T., Kimura, B., Fujii, T., 2000. Differentiation of *Tetragenococcus* populations occurring in products and manufacturing processes of puffer fish ovaries fermented with rice-bran. *International Journal of Food Microbiology*, 56, 211–218.
- Kobayashi, T., Kajiwara, M., Wahyuni, M., Hamada-Sato, N., Imada, C., Watanabe, E., 2004. Effect of culture conditions on lactic acid production of *Tetragenococcus* species. *Journal of Applied Microbiology*, 96 (6), 1215-21.

- Kim, M.-S, Park, E.-J., 2014. Bacterial communities of traditional salted and fermented seafoods from Jeju Island of Korea using 16S rRNA gene clone library analysis, *Journal of Food Science*, 79, 5. doi: 10.1111/1750-3841.12431.
- Kok, J., 1990. Genetics of the proteolytic system of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 7, (1-2), 15–42.
- Korukluoğlu, M., 2015. Sofralık siyah zeytin üretimi. Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü.  
[www.uzzk.org/Belgeler/SOFRALIK\\_SIYAH\\_ZEYTIN\\_URETIMI.pdf](http://www.uzzk.org/Belgeler/SOFRALIK_SIYAH_ZEYTIN_URETIMI.pdf). (Erişim tarihi: 20.12.2015)
- Korukluoğlu, M., Gürbüz, O., Şahin, İ., 2002. Taze Zeytin Mikroflorasında Bulunan Laktik Asit Bakterilerinin Belirlenmesi, *Tarım Bilimleri Dergisi*, 8 (2), 109-113.
- Kumar, A., Sharma, R., 2012. Production of alkaline pectinase by bacteria (*Cocci* sp.) isolated from decomposing fruit materials. *Journal of Phytology*, 4, 01-05.
- Kunte, H.J, Lentzen, G., Galinski, E.A., 2014. Industrial Production of the Cell Protectant Ectoine: Protection Mechanisms, Processes, and Products, *Current Biotechnology*, 3, 10-25.
- Kushner, D.J., 1978. Life in high salt and solute concentrations: Halophilic bacteria. *In Microbial Life in Extreme Environments*, Academic Press, 317-368.
- Lahtinen, S., Ouwehand, A.C., Salminen, S., Wright von A., 2011. *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*, Forth Edition, CRC Press, 98-99.
- Landeta, G., Curiel, J.A., Carrascosa, A.V., Muñoz, de las Rivas, B., 2013. Technological and safety properties of lactic acid bacteria isolated from Spanish dry-cured sausages. *Meat Science*, 95, 272–280.
- Lanyi, J. K., Avron, M., Bayley, S. T., Brock, T. D., Brown, A. D., Fitt, P. S., Griffin, D. M., Horowitz, N. H., Kushner, D. J., Larsen, H., Norkrans, B., Truper, H. G., Weber, J., 1979. Life at low water activities; group report. *Strategies of microbial life in extreme environments*, 125–135, Berlin.
- Larsen, H., 1962. *The Bacteria: a Treatise on Structure and Function*, Akademik baskı, 4, 297-342, Newyork, (I.C.Gunsalus, R.Y. Stainer, eds).
- Lemay, M.J., Rodrigue, N., Gariépy, C., Saucier, L., 2000. Adaptation of *Lactobacillus alimentarius* to environmental stresses. *International Journal of Food Microbiology*, 55 (1-3), 249-53.
- Ljungh, A., Wadström, T., 2009. *Lactobacillus* Molecular Biology: From Genomics to Probiotics, Horizon Scientific Press., İsveç.
- López-Pérez, M., Ghai, R., Leon, M.J., Olmos-Rodríguez, Á., Copa-Patiño, J.L., Soliveri, J., Sanchez-Porro, C., Ventosa, A., Rodriguez-Valera, F., 2013. Genomes of

- “*Spiribacter*”, a streamlined, successful halophilic bacterium. *BMC Genomics*, 14, 787.
- Lyhs, U., Korkeala, H., Vandamme, P., Björkroth, J., 2001. *Lactobacillus alimentarius*: a specific spoilage organism in marinated herring. *International Journal of Food Microbiology*, 64 (3), 355–360. doi:10.1016/S0168-1605(00)00486-4.
- Maijala, R. L., 2008. Formation of histamine and tyramine by some lactic acid bacteria in MRS-broth and modified decarboxylation agar. *Letters in Applied Microbiology*, 17 (1), 40-43. DOI: 10.1111/j.1472-765X.1993.tb01431.x.
- Marsilio, V., Lanza, B., 1998. Characterisation of an Oleuropein Degrading Strain of *Lactobacillus plantarum*. Combined Effects of Compounds Present in Olive Fermenting Brines (Phenols, Glucose and NaCl) on Bacterial Activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76 (4), 520-524.
- Marsilio, V., Seghetti, L., Lannucci, E., Russi, F., Lanza, B., Felicioni, M., 2005. Use of a lactic acid bacteria starter culture during green olive (*Olea europaea* L cv Ascolana tenera) processing, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85 (7), 1084–1090.
- MboI, 2015. Eurx Molecular Biology Products. [http://www.eurx.com.pl/ow\\_userfiles/plugins/wysiwygeditor/images/2/MboI.pdf](http://www.eurx.com.pl/ow_userfiles/plugins/wysiwygeditor/images/2/MboI.pdf) (Erişim Tarihi: 02.03.2015)
- MEB, 2008. Sofralık Zeytin Fermantasyonu. Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi. Ankara.
- Miller, G.L., 1951. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, 426-428.
- Mohania, D., Nagpal, R., Kumar, M., Bhardwaj, A., Yadav, Shalini Jain, S., Francesco Marotta, F., Singh, V., Parkash, O., Yadav, H., 2008. Molecular approaches for identification and characterization of lactic acid bacteria. *Journal of Digestive Diseases*, 9 (4), 190–198. doi: 10.1111/j.1751-2980.2008.00345.x.
- Montel, M.C., Masson, F., Talon, R., 1998. Bacterial role in flavour development. *Meat Science*, 49, 111-123.
- Morales, F., Morales, I.J., Hernandez, C.H., 2011. Isolation and partial characterization of halotolerant lactic acid bacteria from two Mexican cheeses. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 164, 889-905.
- Moreno, M.L., García, M.T., Ventosa, A., Mellado, E., 2009. Characterization of *Salicola* sp. IC10, a lipase- and protease-producing extreme halophile. *FEMS Microbiology Ecology*, 68, 59-71.
- Morrison, D., Woodford, N., Cookson. B., 1997. Enterococci as emerging pathogens of humans. *Journal of Applied Microbiology*, Symposium Supplement, 83, 89-99.



- Moschetii, G., Blaiotta, G., Aponte, M., Catzeddu, P., Vilani, F., Deianna, P., Coppola, S., 1998. Random amplified polymorphic DNA and amplified ribosomal DNA spacer polymorphism : powerful methods to differentiate *Streptococcus thermophilus* strains. *Journal of Applied Microbiology*, 85 (1), 25-36.
- Moura, P., Barata, R., Carvalheiro, F, Gírio, F., Loureiro-Dias, M.C., Esteves, M.P., 2007. In vitro fermentation of xylo-oligosaccharides from corn cobs autohydrolysis by *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* strains. *LWT – Food Science and Technology*, 40 (6), 963-972.
- Mourad, K., Halima, Z.-K., Nour-Eddine, K., 2004. Isolation of lactic acid bacteria for its possible use in the fermentation of green algerian olives. *Grasas y Aceites*, 55 (4), 385-393.
- Mukesh Kumar, D.J., Saranya, G.M., Suresh, K., Andal Priyadharshini, D., Rajakumar, R., Kalaichelvan, P.T., 2012. Production and Optimization of Pectinase from *Bacillus* sp. MFW7 using Cassava Waste. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 2 (3), 369-375.
- Naderi, S., Naghavi, N.S., Shahanipoor, K., 2012. Pectinolytic activity of *Aspergillus niger* on pectic agricultural substrates . *The 1th International and The 4th National Congress on Recycling of Organic Waste in Agriculture*, Isfahan, Iran.
- Naila, A., Flint, S., Fletcher, G., Bremer, P., Meerdink, G., 2010. Control of Biogenic Amines in Food—Existing and Emerging Approaches, *Journal of Food Science*, 75 (7), 139-150.
- Naser, S.M., Vancanneyt, M., Hoste, B., Snauwaert, C., Swings, J., 2006. *Lactobacillus cypricasei* Lawson et al. 2001 is a later heterotypic synonym of *Lactobacillus acidipiscis* Tanasupawat et al. 2000. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56 (7), 1681-1683.
- Nwodo, U.U., Green, E., Okoh, A.I., 2012. Bacterial Exopolysaccharides: Functionality and Prospects, *International Journal of Molecular Sciences*, 13 (11), 14002-14015. doi:10.3390/ijms131114002.
- Nychas, G.-J., Panagou, E.Z., Parker, M.L., Waldron, K.W., Tassou, C.C., 2002. Microbial colonization of naturally black olives during fermentation and associated biochemical activities in the cover brine. *Letters in Applied Microbiology*, 34 (3), 173-177.
- Olasupo, N.A., Schillinger, U., Franz, C.M.A.P., Holzapfel, W.H., 1994. Bacteriocin production by *Enterococcus faecium* NA01 from ‘Wara’ – a fermented skimmed cow milk product from West Africa. *Letters in Applied Microbiology*, 19 (6), 438–441.
- Oren, A., 2010. Industrial and environmental applications of halophilic microorganisms, *Environmental Technology*, 31 (8–9), 825–834. DOI: 10.1080/09593330903370026.

- Osmanoğlu, Ö., Kıran, F., Oral, B., 2011. Bazı laktik asit bakterilerinde 16s rDna dizi analizi ve 16S-23S rDNA ara bölge (ISR) temel alınarak gerçekleştirilen filogenetik analizler. *Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Kesin Raporu*, Ankara.
- Özay, G., Borcakli, M., 1995. Effect of brine replacement and salt concentration on the fermentation of naturally black olives, *Food Research International*, 28 (6), 553-559.
- Özdil, F., 2007. Mitokondriyel DNA PCR-RFLP(Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi) Markerleri kullanılarak Türkiye'nin Farklı Yörelere Ait Bal Arılarının Tanımlanması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Paludan-Müller, C., Madsen, M., Sophanodora, P., Gram, L., Lange Møller, P., 2002. Fermentation and microflora of plaasom, a Thai fermented fish product prepared with different salt concentrations. *International Journal of Food Microbiology*, 73, 61-70.
- Panda, T., Naidu, G.S.N., Sinha, J., 1999. Multiresponse analysis of microbiological parameters affecting the production of pectolytic enzymes by *Aspergillus niger*: a statistical view. *Process Biochemistry*, 35, 187-195.
- Parente, E., Matuscelli, M., Gadrini, F., Grieco, S., Crudele, M. A., Suzzi, G., 2001. Evolution of microbial populations and biogenic amines production in dry sausages produced in Southern Italy. *Journal of Applied Microbiology*, 90, 882-891.
- Park, S.-H., Jung, J.-H., Seo, D.-H., Lee, H.-L., Kim, H.-L., Park, S.-Y., Shin, W.-C., Hong, S., Park, C.-S., 2012. Differentiation of lactic acid bacteria based on RFLP analysis of the tuf gene. *Food Science and Biotechnology*, 21 (3), 911-915.
- Patil, R.C., Murugkar, T.P., Shaikh, S.A., 2012. Extraction of pectinase from pectinolytic bacteria isolated from carrot waste. *International Journal of Physical Sciences*, 3 (1), 261-266.
- Patil, S.R., Dayanand, A., 2006. Production of pectinase from deseeded sunflower head by *Aspergillus niger* in submerged and solid-state conditions. *Bioresource Technology*, 97 (16), 2054-2058.
- Plou, J.F., Ferrer, M., Neuro, O.M., Calvo, M.V., Alcalde, M., Reyes, F., Ballesteros, A., 1998. Analysis of Tween 80 as an esterase/ lipase substrate for lipolytic activity assay. *Biotechnology Techniques*, 12 (3), 183-186.
- Quintana, M.C., Garcia Garcia P., Fernandez, A.G., 1999. Establishment of conditions for green table olive fermentation at low temperature, *International Journal of Food Microbiology*, 51 (2-3), 133-143. doi:10.1016/S0168-1605(99)00123-3.
- Rachman, C.N., Kabadjova, P., Prevost, H., Dousset, X., 2003. Identification of *Lactobacillus alimentarius* and *Lactobacillus farciminis* with 16S-23S rDNA intergenic spacer region polymorphism and PCR amplification using species-specific oligonucleotide. *Journal of Applied Microbiology*, 95, (6), 1207-1216.

- Randazzo CL, Caggia C and Neviani E. 2009. Application of molecular approaches to study lactic acid bacteria in artisanal cheeses. *Journal of Microbiological Methods*, 78, 1-9.
- Randazzo, C.L., Restuccia, C., Romano, A.D., Caggia, C., 2004. *Lactobacillus casei*, dominant species in naturally fermented Sicilian green olives. *International Journal of Food Microbiology*, 90, 9-14.
- Rashidah, A., Nazalan, N., Razip, S., Koay P.C., 2007. Lipase producing psychrophilic microorganism isolated from Antarctica, Malaysia.
- Rattanachaikunsopon, P., Phumkhachorn, P., 2010. Lactic acid bacteria: their antimicrobial compounds and their uses in food production, *Annals of Biological Research*, 1 (4), 218-228.
- Reshetnikov, A.S., Khmelenina, V.N., Mustahimov, I.I., Klayuzhnaya, M., Lidstrom, M., Trotsenko, Y.A., 2011. Diversity and phylogeny of the ectoine biosynthesis genes in aerobic, moderately halophilic methylotrophic bacteria. *Extremophiles*, 15 (6), 653-663. doi: 10.1007/s00792-011-0396-x.
- Reuter, G., 1983. *Lactobacillus alimentarius* sp. nov., nom rev. and *Lactobacillus farciminis* sp. nov., nom rev. *Systematic and Applied Microbiology*, 4 (2), 277-279.
- Rodas, A.M., Ferrer, S., Pardo, I., 2003. 16S-ARDRA: A tool for identification of lactic acid bacteria isolated from grape must and wine. *Systematic and Applied Microbiology*, 26, 412-22.
- Rodríguez, H., Curiel, J.A., Landete, J.M., Rivas, B.R., Felipe, F.L., Gómez-Cordovés, C., Mancheño, J.M., Muñoz, R., 2009. Food phenolics and lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 132, 79-90.
- Sağdıç, O., Öztürk, İ., Cankurt, H., Tornuk, F., 2012. Interaction between some phenolic compounds and probiotic bacterium in functional ice cream production *Food and Bioprocess Technology*, 5 (8), 2964-2971. DOI 10.1007/s11947-011-0611-x.
- Salvetti, E., Torriani, S., Feis, G.E., 2012. The Genus *Lactobacillus*: A Taxonomic Update. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 4 (4), 217-226.
- Sambrook, J., Russell, D.W., 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 3rd Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Pres, p. 999, Rockville MD, USA.
- Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, R., 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74 (12), 5463-5467.
- Sarantinopoulos, P., Andrighetto, C., Georgalaki, M.D., Rea, M.C., Lombardi, A., Cogan, T.M., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E., 2001. Biochemical properties of enterococci relevant to their technological performance. *International Dairy Journal*, 11, 621-647.

- Sarra, M., Taoufik, G., Patrick, L.C., Benjamin, B., Yannick, F., Khaled, H., 2013. Isolation and Characterization of Enterococci Bacteriocin Strains from Tunisian Fish Viscera, *Food and Nutrition Sciences*, 4, 701-708.
- Satomi, M., Kimufu, B., Mizoi, M., Sato, T., Fujii, T., 1997. *Tetragenococcus muriaticus* sp. nov., a new moderately halophilic lactic acid bacterium isolated from fermented squid liver sauce, *International Journal Of Systematic Bacteriology*, 47 (3), 832-836.
- Scheirlinck, I., Van der Meulen, R., Schoor, A.V., Cleenwerck, I., Huys, G., Vandamme, P., Vuyst, L.D., Vancanneyt, M., 2007. *Lactobacillus namurensis* sp. nov., isolated from a traditional Belgian sourdough, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57, 223-227.
- Schleifer, K.H., 1987. Recent changes in the taxonomy of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 46 (3), 201-203.
- Schleifer, K.H., Killper-Bälz, R., 1987. Molecular and chemotaxonomic approaches to the classification of streptococci, enterococci and lactococci: a review. *Systematic and Applied Microbiology*, 10, 1-19.
- Shivanand, P., Mugeraya, G., 2011. Halophilic bacteria and their compatible solutes – osmoregulation and potential applications, *Current Science*, 100 (10), 1516-1521.
- Siddiqui, M.A., Pande, V., Arif, M., 2013. Polygalacturonase production from *Rhizomucor pusillus* isolated from fruit markets of Uttar Pradesh. *African Journal of Microbiology Research*, 7 (3), 252-259. DOI: 10.5897/AJMR12.2176.
- Silla Santos, M.H., 1996. Biogenic amines: Their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 29, 213-231.
- Silva, M.V.D., Pinho, P., Ferreira, I., Plestilov, L., Gibbs, P.A., 2002. Production of histamine and tyramine by bacteria isolated from Portuguese vacuum-packed cold-smoked fish, *Food Control*, 13 (6-7), 457-461.
- Singh, S., Goswami, P., Singh, R., Heller, K.J., 2009. Application of molecular identification tools for *Lactobacillus*, with a focus on discrimination between closely related species: A review. *Food Science and Technology*, 42, 448-457.
- Smeltzer, M.S., Hart, M.E., Iandolo, J.J., 1992. Quantitative Spectrophotometric Assay for Staphylococcal Lipase. *Applied and Environmental Microbiology*, 58, 9, 2815-2819.
- Song, Y.-L., Kato, N., Matsumiya, Y., Liu, C.-X., Kato, H., Watanabe, K., 1999. Identification of and hydrogen peroxide production by fecal and vaginal lactobacilli isolated from Japanese women and newborn infants, *Journal of Clinical Microbiology*, 37, 3062-3064.
- Soriano, M., Diaz, P., Pastor, F.I., 2005. Pectinolytic systems of two aerobic sporogenous bacterial strains with high activity on pectin. *Current Microbiology*, 50 (2), 114-8.

- Sönmez, N., Çakmakçı, M.L., Karahan, A.G., 1999. Probiyotik kullanımı ve ülke şartlarında geliştirilmesi. Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu Müdürlüğü, Araştırma Projesi (yayınlanmamış), Ankara.
- Spano, G., Russo, P., Lonvaud-Funel, A., Lucas, P., Alexandre, H., Grandvalet, C., Coton, E., Coton, M., Barnovon, L., Bach, B., Rattray, F., Bunte, A., Magni, C., Ladero, V., Alvarez, M., Fernandez, M., Lopez, P., Palencia, de P.F., Corbi, A., Trip, H., Lolkema, J.S., 2010. Biogenic amines in fermented foods. *European Journal of Clinical Nutrition*, 64, 95–100. doi: 10.1038/ejcn.2010.218.
- Stadnik, J., Dolatowski, Z.J., 2010. Biogenic amines in meat and fermented meat products. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 9 (3), 251-263.
- Straub, B.W., Tichaczek, P.S., Kicherer, M., Hammes, W.P., 1994. Formation of tyramine by *Lactobacillus curvatus* LTH 972. *Z Lebensm Unters Forsch*, 199 (1), 9-12.
- Stiles, M.E., Holzapfel, W.H., 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36 (1), 1-29.
- Sudağidan, M., 2007. 16S Internally Transcribed spacer (ITS) Polimeraz Zincir Reaksiyon-Restriction Fragment Length Polymorphism(16S-ITS PZR-RFLP) ile Stafilokokların Tür Düzeyinde Tanımlanması. *4.Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji Kursu*, İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi.
- Tamang, J.P., Sarkar, P.K. 1996. Microbiology of mesu, a traditional fermented bamboo shoot product, *International Journal of Food Microbiology*, 29 (1), 49–58. doi:10.1016/0168-1605(95)00021-6.
- Tanasupawat, S., Shida, O., Okada, S., Komagata, K., 2000. *Lactobacillus acidipiscis* sp. nov. and *Weissella thailandensis* sp. nov., isolated from fermented fish in Thailand. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50, 1479-1485. doi: 10.1099/00207713-50-4-1479.
- Tanasupawat, S., Thongsanit, J., Okada, S., Komagata, K., 2002. Lactic acid bacteria isolated from soy sauce mash in Thailand. *Journal of Genetic and Applied Microbiology*, 48 (4), 201–209.
- Tariq, A., Latif, Z. 2012. Isolation and biochemical characterization of bacterial isolates producing different levels of polygalacturonases from various sources. *African Journal of Microbiology Research*, 6 (45), 7259-7264. DOI: 10.5897/AJMR12.923.
- Tassou, C.C, Katsaboxakis, C.Z., Georget, D.M.R., Parker, M.L., Waldron, K.W., Smith, A.C., Panagou, E.Z., 2007. Effect of calcium chloride on mechanical properties and microbiological characteristics of cv. Conservolea naturally black olives fermented at different sodium chloride levels, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 1123–1131.
- Tepe, Ö., Dursun Y.A., 2012. *Bacillus pumilus* ile ekzo pektinaz üretiminde ortam pH'ının etkisi. *Onuncu Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi*, İstanbul Koç Üniversitesi.

- Thapa, N., Pal, J., Tamang, J.P., 2006. Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally processed fish products of the Eastern Himalayas. *International Journal of Food Microbiology*, 107 (1), 33-8.
- Thongsanit, J., Tanasupawat, S., Keeratipibul, S., Jitikavanich, S., 2002. Characterization and Identification of *Tetragenococcus halophilus* and *Tetragenococcus muriaticus* strains from fish sauce (Nam-pla). *Japanese Journal of Lactic Acid Bacteria*, 13 (1), 46–52.
- Tkachenko, A., Nesterova, L., Pshenichnov, M., 2001. The role of the natural polyamine putrescine in defense against oxidative stress in *Escherichia coli*. , 176 (1), 155-157.
- Todar, K. Todar's Online Textbook of Bacteriology. (Erişim tarihi: 19.10.2015).
- Todorov, S.D., Franco, B.D.G.D.M., 2010. *Lactobacillus plantarum*: Characterization of the Species and Application in Food Production, *Food Reviews International*, 26, 205–229. DOI: 10.1080/87559129.2010.484113.
- Tofalo, R., Schirone, M., Perpetuini, G., Angelozzi, G., Suzzi, G., Corsetti, A., 2012. Microbiological and chemical profiles of naturally fermented table olives and brines from different Italian cultivars. *Antonie van Leeuwenhoek*, 102 (1), 121-131. doi: 10.1007/s10482-012-9719-x.
- Torimiro, N., Okonji, R.E., 2013. A comparative study of pectinolytic enzyme production by *Bacillus* species, *African Journal of Biotechnology*, 12 (46), 6498-6503.
- Uchida, M., Miyoshi, T., Yoshida, G., Niwai, K., Mori, M., Wakabayashi, H., 2014. Isolation and characterization of halophilic lactic acid bacteria acting as a baslatici culture for sauce fermentation of the red alga Nori (*Porphyra yezoensis*), *Journal of Applied Microbiology*, 116 (6), 1506–1520.
- Udomsil, N., Rodtong, S., Tanasupawat, S., Yongsawatdigul, J., 2010. Proteinase-producing halophilic lactic acid bacteria isolated from fish sauce fermentation and their ability to produce volatile compounds, *International Journal of Food Microbiology*, 141, 186–194.
- U.S. Food and Drug Administration (FDA). Processing Parameters Needed to Control Pathogens in Cold Smoked Fish Chapter IV. Potential Hazards in Cold-Smoked Fish: Biogenic Amines. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/SafePracticesforFoodProcesses/ucm094579.htm> (Erişim Tarihi: 20.12.2015)
- Van Qua, D., Simidu, U., Taga, N., 1981. Occurrence and Generic Composition of Protease-producing Moderately Halophilic Bacteria in Neritic Seawater around Japan. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 47 (3), 359-364.

- Villar, M., Holgado, A.P.R.,(de var) Sanchez, J.J., Trucco, R.E., Oliver, G., 1985. Isolation and characterization of *Pediococcus halophilus* from salted anchovies (*Engraulis anchoita*). *Applied Environmental Microbiology*, 49 (3), 664–666.
- Visciano, P., Schirone, M., Tofalo, R., Suzzi, G., 2012. Biogenic amines in raw and processed seafood. *Frontiers in Microbiology*, 3, 188. doi: 10.3389/fmicb.2012.00188.
- Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.-H., Whitman, W., 2011. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 3: The Firmicutes*. Springer Science & Business Media, 611-616, New York.
- Weisburg, W.G., Barns, S.M., Pelletier, D.A., Lane, D.J., 1991. 16S Ribosomal DNA amplification for phylogenetic study, *Journal of Bacteriology*, 173, 697–703.
- Whatmore, A.M., Reed, R.H., 1990. Determination of turgor pressure in *Bacillus subtilis*: a possible role for K<sup>+</sup> in turgor regulation. *Journal of General Microbiology*, 136, 2521–2526.
- Woese, C.R., 1987. Bacterial evolution. *Microbiological Reviews*, 51, 221–271.
- Woese, C.R., Stackebrandt, E., Macke, T.J., Fox, G.E., 1985. A phylogenetic definition of the major eubacterial taxa. *Systematic and Applied Microbiology*, 6, 143–151.
- Yanagida, F., Chen, Y., Shinohara, T., 2005. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from soils in vineyards. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 51, 313–8.
- Ye, Z.-W., Jiang, J.-G., Wu, G.-H., 2008. Biosynthesis and regulation of carotenoids in *Dunaliella*: progress and prospects, *Biotechnology Advances*, 26 (4), 352–360.
- Yıldız, G., Uylaşer, V., 2011. Doğal Bir Antimikrobiyel: Oleuropein. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1 (25), 131-142.
- Yılmaz, M., Yuvalı Çelik, G., 2007. Bakteriyel Ekstraselüler Polisakkaritler (EPS), *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 05 (2), 7-13.
- Zajc, J., Kogej, T., Galinski, E.A., Ramos, J., Cimerman, N.G., 2014. Osmoadaptation Strategy of the Most Halophilic Fungus, *Wallemia ichthyophaga*, Growing Optimally at Salinities above 15% NaCl, *Applied and Environmental Microbiology*, 80 (1), 247–256.

## EKLER

**EK 1 - Tablo 4.1.** Bakterilerin Sayım Sonucu

Örnek Kodu	Sayım (KOB/g)	Örnek Kodu	Sayım (KOB/g)
<b>Z1</b>	$2,17 \times 10^5$	<b>Z26</b>	$2,75 \times 10^5$
<b>Z2</b>	$3,38 \times 10^5$	<b>Z27</b>	$7,00 \times 10^5$
<b>Z6</b>	$0,40 \times 10^2$	<b>Z29</b>	$9,50 \times 10^2$
<b>Z7</b>	$1,25 \times 10^4$	<b>Z30</b>	$7,90 \times 10^3$
<b>Z9</b>	$1,57 \times 10^5$	<b>Z31</b>	$8,05 \times 10^3$
<b>Z10</b>	$2,65 \times 10^5$	<b>Z32</b>	$1,70 \times 10^3$
<b>Z12</b>	$5,29 \times 10^5$	<b>Z33</b>	$3,22 \times 10^5$
<b>Z13</b>	$5,66 \times 10^5$	<b>Z34</b>	$3,50 \times 10^5$
<b>Z14</b>	$7,85 \times 10^5$	<b>Z35</b>	$< 10^2$
<b>Z15</b>	$3,15 \times 10^5$	<b>Z36</b>	$1,80 \times 10^6$
<b>Z16</b>	$9,50 \times 10^4$	<b>Z37</b>	$8,88 \times 10^4$
<b>Z17</b>	$8,40 \times 10^5$	<b>Z38</b>	$1,58 \times 10^6$
<b>Z18</b>	$1,20 \times 10^5$	<b>Z39</b>	$3,89 \times 10^5$
<b>Z19</b>	$1,04 \times 10^4$	<b>Z40</b>	$7,15 \times 10^4$
<b>Z20</b>	$2,80 \times 10^3$	<b>Z41</b>	$0,10 \times 10^4$
<b>Z21</b>	$< 10^2$	<b>Z42</b>	$2,10 \times 10^4$
<b>Z22</b>	$5,80 \times 10^5$	<b>Z43</b>	$1,89 \times 10^5$
<b>Z23</b>	$< 10^2$	<b>Z44</b>	$1,92 \times 10^4$
<b>Z24</b>	$< 10^2$	<b>Z45</b>	$4,70 \times 10^4$
<b>Z25</b>	$5,05 \times 10^3$	<b>Z46</b>	$2,94 \times 10^6$



**EK 1 - Tablo 4.1. Bakterilerin Sayım Sonucu (devam)**

<b>Örnek Kodu</b>	<b>Sayım (KOB/g)</b>	<b>Örnek Kodu</b>	<b>Sayım (KOB/g)</b>
<b>Z47</b>	$4,95 \times 10^4$	<b>Z69</b>	$7,80 \times 10^5$
<b>Z48</b>	$8,27 \times 10^4$	<b>Z70</b>	$5,85 \times 10^5$
<b>Z49</b>	$1,30 \times 10^4$	<b>Z71</b>	$10,30 \times 10^5$
<b>Z50</b>	$18,75 \times 10^5$	<b>Z72</b>	$7,15 \times 10^5$
<b>Z51</b>	$9,00 \times 10^2$	<b>Z73</b>	$4,97 \times 10^5$
<b>Z52</b>	$5,23 \times 10^5$	<b>Z74</b>	$7,36 \times 10^4$
<b>Z53</b>	$1,59 \times 10^5$	<b>Z75</b>	$2,60 \times 10^3$
<b>Z54</b>	$2,30 \times 10^3$	<b>Z76</b>	$< 10^2$
<b>Z55</b>	$3,92 \times 10^5$	<b>Z77</b>	$2,25 \times 10^4$
<b>Z56</b>	$3,25 \times 10^5$	<b>Z78</b>	$4,55 \times 10^5$
<b>Z57</b>	$< 10^2$	<b>Z79</b>	$2,71 \times 10^5$
<b>Z58</b>	$1,34 \times 10^6$	<b>Z80</b>	$4,87 \times 10^5$
<b>Z59</b>	$3,66 \times 10^4$	<b>Z81</b>	$1,40 \times 10^5$
<b>Z60</b>	$4,00 \times 10^2$	<b>Z82</b>	$1,60 \times 10^4$
<b>Z61</b>	$2,82 \times 10^5$	<b>Z83</b>	$1,30 \times 10^6$
<b>Z62</b>	$2,70 \times 10^3$	<b>Z84</b>	$9,45 \times 10^5$
<b>Z63</b>	$2,04 \times 10^5$	<b>Z85</b>	$2,45 \times 10^5$
<b>Z64</b>	$1,65 \times 10^5$	<b>Z86</b>	$8,00 \times 10^2$
<b>Z65</b>	$5,07 \times 10^4$	<b>Z87</b>	$5,00 \times 10^3$
<b>Z66</b>	$2,30 \times 10^5$	<b>Z88</b>	$1,82 \times 10^5$
<b>Z67</b>	$< 10^2$	<b>Z89</b>	$4,10 \times 10^4$
<b>Z68</b>	$2,36 \times 10^3$	<b>Z90</b>	$6,20 \times 10^3$

**EK 1 - Tablo 4.1. Bakterilerin Sayım Sonucu (devam)**

<b>Örnek Kodu</b>	<b>Sayım (KOB/g)</b>	<b>Örnek Kodu</b>	<b>Sayım (KOB/g)</b>
<b>Z91</b>	2,08 x 10 <sup>4</sup>	<b>Z112</b>	2,95 x 10 <sup>5</sup>
<b>Z92</b>	7,40 x 10 <sup>3</sup>	<b>Z113</b>	5,05 x 10 <sup>4</sup>
<b>Z93</b>	< 10 <sup>2</sup>	<b>Z114</b>	1,50 x 10 <sup>4</sup>
<b>Z94</b>	1,67 x 10 <sup>4</sup>	<b>Z115</b>	1,30 x 10 <sup>4</sup>
<b>Z95</b>	4,85 x 10 <sup>5</sup>	<b>Z116</b>	2,25 x 10 <sup>5</sup>
<b>Z96</b>	4,30 x 10 <sup>5</sup>	<b>Z117</b>	2,27 x 10 <sup>4</sup>
<b>Z97</b>	2,15 x 10 <sup>4</sup>	<b>Z118</b>	5,57 x 10 <sup>5</sup>
<b>Z98</b>	3,08 x 10 <sup>4</sup>	<b>Z119</b>	3,25 x 10 <sup>4</sup>
<b>Z99</b>	7,75 x 10 <sup>5</sup>	<b>Z120</b>	3,47 x 10 <sup>5</sup>
<b>Z100</b>	3,43 x 10 <sup>4</sup>	<b>Z121</b>	3,72 x 10 <sup>4</sup>
<b>Z101</b>	6,45 x 10 <sup>3</sup>	<b>Z122</b>	8,60 x 10 <sup>3</sup>
<b>Z102</b>	4,35 x 10 <sup>5</sup>	<b>Z123</b>	< 10 <sup>2</sup>
<b>Z103</b>	< 10 <sup>2</sup>	<b>Z124</b>	4,35 x 10 <sup>5</sup>
<b>Z104</b>	6,60 x 10 <sup>5</sup>	<b>Z125</b>	2,66 x 10 <sup>4</sup>
<b>Z105</b>	0,60 x 10 <sup>5</sup>	<b>Z126</b>	1,80 x 10 <sup>4</sup>
<b>Z106</b>	0,90 x 10 <sup>5</sup>	<b>Z127</b>	7,55 x 10 <sup>4</sup>
<b>Z107</b>	1,17 x 10 <sup>4</sup>	<b>Z128</b>	2,25 x 10 <sup>4</sup>
<b>Z108</b>	7,70 x 10 <sup>4</sup>	<b>Z129</b>	3,12 x 10 <sup>4</sup>
<b>Z109</b>	3,14 x 10 <sup>5</sup>	<b>Z130</b>	3,04 x 10 <sup>5</sup>
<b>Z110</b>	8,80 x 10 <sup>3</sup>	<b>Z131</b>	5,60 x 10 <sup>4</sup>
<b>Z111</b>	4,67 x 10 <sup>5</sup>	<b>Z132</b>	3,57 x 10 <sup>5</sup>

**EK 1 - Tablo 4.1. Bakterilerin Sayım Sonucu (devam)**

<b>Örnek Kodu</b>	<b>Sayım (KOB/g)</b>	<b>Örnek Kodu</b>	<b>Sayım (KOB/g)</b>
<b>Z133</b>	$3,73 \times 10^5$	<b>Z142</b>	$< 10^2$
<b>Z134</b>	$3,45 \times 10^5$	<b>Z143</b>	$1,93 \times 10^5$
<b>Z135</b>	$< 10^2$	<b>Z144</b>	$4,36 \times 10^4$
<b>Z136</b>	$9,75 \times 10^5$	<b>Z145</b>	$4,00 \times 10^3$
<b>Z137</b>	$9,80 \times 10^5$	<b>Z146</b>	$0,71 \times 10^4$
<b>Z138</b>	$1,03 \times 10^6$	<b>Z147</b>	$< 10^2$
<b>Z139</b>	$< 10^2$	<b>Z148</b>	$4,10 \times 10^5$
<b>Z140</b>	$< 10^2$	<b>Z149</b>	$0,94 \times 10^4$
<b>Z141</b>	$9,63 \times 10^4$	<b>Z150</b>	$1,50 \times 10^5$

**EK 2 - Tablo 4.2.** Bakterilerin Genetik Tanısı

Örnek adı	Tanı sonucu	Primer	AluI RE (bç)	MboI RE (bç)
Z1B Z1C Z1D Z2A Z2B Z2C Z27A Z46A	<i>L. acidipiscis</i>	HLAB1/HLAB2	250 450 650 900 1200	100 300 500
Z6A Z43A Z47A Z73A	<i>L. acidipiscis</i>	HLAB1/HLAB2	250 450 650 900 1200	100 300 500 600
Z72A Z49	<i>L. acidipiscis</i>	HLAB1/HLAB2	250 450 650 900 1200	150 2000
Z30C	<i>L. acidipiscis</i>	HLAB1/HLAB2	250 450 700 900 1200	100 300 500
Z85B	<i>L. acidipiscis</i>	HLAB1/HLAB2	250 450 650 900 1200	100 300 400 600
Z70A	<i>L. acidipiscis</i>	HLAB1/HLAB2	250 450 650 900 1000	100 300 400 600
Z112A Z112D	<i>L. acidipiscis</i>	HLAB1/HLAB2	250 400 600 900	200 300 500 600
Z118A Z128A	<i>L. acidipiscis</i>	HLAB1/HLAB2	250 400 650 900 1200	100 300 500

**EK 2 - Tablo 4.2.** Bakterilerin Genetik Tanısı (devam)

Örnek adı	Tanı sonucu	Primer	AluI RE (bç)	MboI RE (bç)
Z9A	<i>L. plantarum</i>	HLAB1/HLAB2	250 600 900	-
Z30A Z30B Z31A Z41A Z64A Z64B Z66A Z78B	<i>L. plantarum</i>	HLAB1/HLAB2	250 450 700 900 1200	100 2000
Z78A Z98A	<i>L. plantarum</i>	HLAB1/HLAB2	250 450 700 900	150 3000
Z100A Z107A Z107C	<i>L. plantarum</i>	HLAB1/HLAB2	250 450 600 900	200 3000
Z114A Z114B Z115A Z120A Z126A Z134A Z135A	<i>L. plantarum</i>	HLAB1/HLAB2	250 400 600 900	200 3000
Z55A Z59A	<i>L. plantarum</i>	HLAB1/HLAB2	250 400 600 900	100 2000
Z53A Z56A	<i>L. plantarum</i>	HLAB1/HLAB2	250 400 600 900	500 2000

**EK 2 - Tablo 4.2.** Bakterilerin Genetik Tanısı (devam)

Örnek adı	Tanı sonucu	Primer	AluI RE (bç)	MboI RE (bç)
Z33A Z81A Z99A Z103A	<i>L. plantarum</i>	HLAB1/HLAB2	250 400 600 900 1000	2000 3000
Z32A Z74A Z75A Z80A Z80B Z81B Z83A Z134B	<i>L. plantarum</i>	HLAB1/HLAB2	250 450 610 900	2000 3000
Z107B Z111A Z121A	<i>L. plantarum</i>	HLAB1/HLAB2	250 450 600	2000 3000
Z112B	<i>L. alimentarius</i>	HLAB1/HLAB2	300 450 610	300 450 500
Z42A	<i>L. alimentarius</i>	HLAB1/HLAB2	250 450 600 800 1200	100 350 500
Z112C	<i>L. namurensis</i>	HLAB1/HLAB2	250 450 600 800	200 3000
Z12A	<i>S. hominis</i>	HLAB1/HLAB2	250 450 600 810	100 300 600

**EK 2 - Tablo 4.2.** Bakterilerin Genetik Tanısı (devam)

Örnek adı	Tanı sonucu	Primer	AluI RE (bç)	MboI RE (bç)
Z79B	<i>S. hominis</i>	WISC1/WISC2	250 400 600 810	150 300 500
Z7E	<i>S. hominis</i>	WISC1/WISC2	-	-
Z137A Z3a	<i>E. faecium</i>	HLAB1/HLAB2	250 400 800	200 300 900
Z8a Z4c Z6a	<i>E. faecium</i>	HLAB1/HLAB2	-	-
Z4b Z8b	<i>E. faecium</i>	WISC1/WISC2	-	-
Z13A	<i>L. plantarum</i>	WISC1/WISC2	-	-
Z17A	<i>L. plantarum</i>	WISC1/WISC2	-	-
Z20A	<i>L. plantarum</i>	WISC1/WISC2	-	-

**EK 2 - Tablo 4.2.** Bakterilerin Genetik Tanısı (devam)

Örnek adı	Tanı sonucu	Primer	AluI RE (bç)	MboI RE (bç)
Z31B	<i>L. plantarum</i>	HLAB1/HLAB2	-	-
Z39A	<i>L. plantarum</i>	HLAB1/HLAB2	-	-
Z44B	<i>L. plantarum</i>	HLAB1/HLAB2	-	-
Z80C	<i>L. plantarum</i>	WISC1/WISC2	-	-
Z83B	<i>L. plantarum</i>	WISC1/WISC2	-	-
Z85A	<i>L. plantarum</i>	WISC1/WISC2	-	-
Z59B	<i>Sphingomonas</i> sp.	WISC1/WISC2	-	-
Z25A	<i>S. paucimobilis</i>	HLAB1/HLAB2	-	-
z4a	<i>L. farciminis</i>	WISC1/WISC2	-	-



**EK 3 - Tablo 4.3.** Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi

İzolat	%7 NaCl 13 °C		%7 NaCl 28 °C	
	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH	Bakteri Gelişimi	pH
<i>L. acidipiscis</i> Z1B	0,04 ± 0,03	5,42 ± 0,01	0,15 ± 0,10	4,86 ± 0,15
<i>L. acidipiscis</i> Z1C	0,04 ± 0,03	5,42 ± 0,0	0,25 ± 0,18	4,87 ± 0,19
<i>L. acidipiscis</i> Z1D	0,04 ± 0,03	5,43 ± 0,01	0,36 ± 0,25	4,75 ± 0,07
<i>L. acidipiscis</i> Z2A	0,19 ± 0,13	5,41 ± 0,01	0,28 ± 0,20	4,55 ± 0,04
<i>L. acidipiscis</i> Z2B	0,17 ± 0,12	5,41 ± 0,01	0	4,6 ± 0,05
<i>L. acidipiscis</i> Z2C	0,04 ± 0,03	5,40 ± 0,02	0	4,65 ± 0,10
<i>L. acidipiscis</i> Z6A	0	5,46 ± 0,01	1,31 ± 0,93	4,46 ± 0,55
<i>L. plantarum</i> Z9A	0,26 ± 0,19	5,45 ± 0,01	0,63 ± 0,44	5,3 ± 0,09
<i>L. plantarum</i> Z13A	0,46 ± 0,33	5,35 ± 0,01	0,32 ± 0,23	4,23 ± 0,02
<i>L. plantarum</i> Z17A	0,29 ± 0,20	5,43 ± 0,02	0,63 ± 0,45	4,8 ± 0,47
<i>L. plantarum</i> Z20A	0,24 ± 0,17	5,45 ± 0,01	0,64 ± 0,45	4,67 ± 0,55
<i>L. plantarum</i> Z23A	0,06 ± 0,04	5,49 ± 0,03	0,38 ± 0,26	4,87 ± 0,45
<i>L. acidipiscis</i> Z27A	0,01 ± 0,01	5,54 ± 0,01	0,18 ± 0,13	5,29 ± 0,12
<i>L. plantarum</i> Z30A	0,02 ± 0,01	5,4 ± 0,02	0	4,25 ± 0,37
<i>L. plantarum</i> Z30B	0,05 ± 0,04	5,43 ± 0,007	0	4,38 ± 0,17
<i>L. acidipiscis</i> Z30C	0,01 ± 0,01	5,39 ± 0,007	0,14 ± 0,10	4,53 ± 0,38
<i>L. plantarum</i> Z31A	0,13 ± 0,09	5,33 ± 0	0,23 ± 0,16	3,72 ± 0,35
<i>L. plantarum</i> Z31B	0,13 ± 0,09	5,28 ± 0,028	0,41 ± 0,30	3,89 ± 0,43
<i>L. plantarum</i> Z32A	0,007 ± 0,005	5,45 ± 0,007	0,35 ± 0,25	5,35 ± 0,06

**EK 3 - Tablo 4.3.** Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi (devam)

İzolat	%7 NaCl 13 °C		%7 NaCl 28 °C	
	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH
<i>L. plantarum</i> Z33A	0,008 ± 0,005	5,26 ± 0,13	1,561 ± 1,10	3,77 ± 0,79
Z36A	0	5,45 ± 0	0	4,3 ± 0,26
<i>L. plantarum</i> Z39A	0,006 ± 0,004	5,39 ± 0,02	1,52 ± 1,07	4,28 ± 0,87
<i>L. plantarum</i> Z41A	0,01 ± 0,01	5,39 ± 0	0,61 ± 0,43	4,33 ± 0,63
<i>L. alimentarius</i> Z42A	0,08 ± 0,06	5,3 ± 0,02	0,33 ± 0,23	4,08 ± 0,30
<i>L. acidipiscis</i> Z43A	0,02 ± 0,01	5,4 ± 0,04	0,06 ± 0,04	4,18 ± 0,32
Z44A	0,04 ± 0,03	5,3 ± 0,03	0,48 ± 0,34	3,6 ± 0,47
<i>L. plantarum</i> Z44B	0,10 ± 0,07	5,45 ± 0,007	0,99 ± 0,70	5,05 ± 0,25
<i>L. acidipiscis</i> Z46A	0	5,41 ± 0,02	0,31 ± 0,02	4,25 ± 0,70
<i>L. acidipiscis</i> Z47A	0,02 ± 0,01	5,35 ± 0,007	0,47 ± 0,33	4,25 ± 0,41
<i>L. plantarum</i> Z48A	0,02 ± 0,01	5,45 ± 0,01	0,15 ± 0,11	5,41 ± 0,03
<i>L. acidipiscis</i> Z49A	0,09 ± 0,06	5,46 ± 0	0,71 ± 0,50	5,34 ± 0,02
<i>L. plantarum</i> Z53A	0,12 ± 0,08	5,49 ± 0,01	1,37 ± 0,97	4,25 ± 0,82
<i>L. plantarum</i> Z55A	0,19 ± 0,13	5,44 ± 0	0,73 ± 0,52	5,35 ± 0,04
<i>L. plantarum</i> Z56A	0,47 ± 0,33	5,39 ± 0,10	0,71 ± 0,50	5,39 ± 0,07
<i>L. plantarum</i> Z59A	0,02 ± 0,01	5,47 ± 0,06	0,31 ± 0,21	5,48 ± 0,02
<i>L. plantarum</i> Z64A	0,01 ± 0,01	5,31 ± 0,07	0,32 ± 0,22	3,8 ± 0,20
<i>L. plantarum</i> Z64B	0,007 ± 0,004	4,02 ± 0,77	0,34 ± 0,24	3,95 ± 0,23
<i>L. plantarum</i> Z66A	0,005 ± 0,003	3,8 ± 0,80	0,28 ± 0,20	3,67 ± 0,26
<i>L. acidipiscis</i> Z70A	0,01 ± 0,01	4,24 ± 0,76	0,06 ± 0,04	4,12 ± 0,33

**EK 3 - Tablo 4.3.** Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi (devam)

İzolat	%7 NaCl 13 °C		%7 NaCl 28 °C	
	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH
<i>L. acidipiscis</i> Z72A	0	5,39 ± 0,007	1,58 ± 1,11	3,95 ± 0,89
<i>L. acidipiscis</i> Z73A	0,20 ± 0,14	4,2 ± 0,92	1,35 ± 0,95	3,90 ± 0,84
<i>L. plantarum</i> Z74A	0,04 ± 0,02	5,37 ± 0,11	0,60 ± 0,43	5,45 ± 0,02
<i>L. plantarum</i> Z75A	0,007 ± 0,005	5,37 ± 0,12	0,84 ± 0,59	4,53 ± 0,68
Z77A	0,004 ± 0,002	5,48 ± 0,03	0,50 ± 0,35	5,4 ± 0,07
<i>L. plantarum</i> Z78A	0,008 ± 0,005	5,45 ± 0,04	0,27 ± 0,19	3,82 ± 0,35
<i>L. plantarum</i> Z78B	0,007 ± 0,005	5,26 ± 0,12	1,48 ± 1,05	3,78 ± 0,45
<i>L. plantarum</i> Z80A	0	4,16 ± 0,84	0,67 ± 0,47	3,76 ± 0,45
<i>L. plantarum</i> Z80B	0,63 ± 0,45	5,39 ± 0,13	0,93 ± 0,66	4,84 ± 0,45
<i>L. plantarum</i> Z80C	0,06 ± 0,04	5,55 ± 0,01	0,81 ± 0,58	5,17 ± 0,22
<i>L. plantarum</i> Z81A	0,18 ± 0,13	5,32 ± 0,09	0,08 ± 0,06	3,82 ± 1,10
<i>L. plantarum</i> Z81B	0,15 ± 0,10	5,36 ± 0,07	0,43 ± 0,30	3,82 ± 0,30
<i>L. plantarum</i> Z83A	0,15 ± 0,10	5,55 ± 0,007	1,35 ± 0,95	4,17 ± 0,51
<i>L. plantarum</i> Z83B	0,008 ± 0,006	3,93 ± 0,81	0,91 ± 0,64	3,74 ± 0,34
<i>L. plantarum</i> Z85A	0,004 ± 0	5,44 ± 0,05	0,80 ± 0,55	5,34 ± 0,11
<i>L. acidipiscis</i> Z85B	0,002 ± 0	4,3 ± 0,65	0,30 ± 0,21	4,12 ± 0,34
<i>L. plantarum</i> Z98A	0	5,49 ± 0,01	0,49 ± 0,35	3,96 ± 0,70
<i>L. plantarum</i> Z98B	0,001 ± 0,001	5,44 ± 0,02	0,36 ± 0,26	3,94 ± 0,60
<i>L. plantarum</i> Z99A	0,03 ± 0,02	5,18 ± 0,18	0,81 ± 0,57	3,74 ± 0,53
<i>L. plantarum</i> Z100A	0	5,46 ± 0,01	0,02 ± 0,01	4,13 ± 0,58

**EK 3 - Tablo 4.3.** Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi (devam)

İzolat	%7 NaCl 13 °C		%7 NaCl 28 °C	
	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH
<i>L. plantarum</i> Z103A	0,01 ± 0,01	5,4 ± 0,03	0,44 ± 0,31	3,72 ± 0,45
<i>L. plantarum</i> Z107A	0	5,45 ± 0	0,48 ± 0,34	3,71 ± 0,46
<i>L. plantarum</i> Z107B	0,07 ± 0,05	5,41 ± 0,04	0,33 ± 0,23	3,68 ± 0,31
<i>L. plantarum</i> Z107C	0,001 ± 0	5,47 ± 0	0,41 ± 0,29	3,7 ± 0,44
Z110A	0,007 ± 0	5,46 ± 0,01	1,17 ± 0,83	4,6 ± 0,63
<i>L. plantarum</i> Z111A	0,15 ± 0,11	5,23 ± 0,09	0,11 ± 0,08	3,76 ± 0,14
<i>L. acidipiscis</i> Z112A	0,01 ± 0,008	5,5 ± 0,03	0,55 ± 0,39	4,25 ± 0,42
<i>L. alimentarius</i> 112B	0,02 ± 0,01	5,42 ± 0,02	0,27 ± 0,19	3,91 ± 0,38
<i>L. namurensis</i> Z112C	0,004 ± 0	5,57 ± 0,02	0,24 ± 0,17	5,15 ± 0,25
<i>L. acidipiscis</i> Z112D	0,03 ± 0,02	5,46 ± 0,02	0,25 ± 0,17	3,89 ± 0,37
<i>L. plantarum</i> Z114A	0,02 ± 0,01	5,5 ± 0,01	0,60 ± 0,42	3,97 ± 0,57
<i>L. plantarum</i> Z114B	0,04 ± 0,02	5,49 ± 0,01	0,34 ± 0,24	4,02 ± 0,48
<i>L. plantarum</i> Z115A	0,14 ± 0,10	5,35 ± 0,09	0,05 ± 0,03	3,66 ± 0,26
<i>L. acidipiscis</i> Z118A	0,02 ± 0,01	5,49 ± 0,01	0,45 ± 0,32	4,28 ± 0,41
<i>L. plantarum</i> Z120A	0,07 ± 0,05	5,41 ± 0,02	0,007 ± 0,005	5,44 ± 0,01
<i>L. plantarum</i> Z121A	0,34 ± 0,24	5,29 ± 0,09	0,29 ± 0,21	3,71 ± 0,21
<i>L. plantarum</i> Z126A	0,03 ± 0,02	5,31 ± 0,09	0,33 ± 0,24	3,86 ± 0,48
<i>L. acidipiscis</i> Z128A	0	5,4 ± 0,04	0,61 ± 0,43	4,8 ± 0,41
<i>L. plantarum</i> Z134A	0,07 ± 0,04	5,41 ± 0,01	0,42 ± 0,30	3,69 ± 0,36

**EK 3 - Tablo 4.3.** Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi (devam)

İzolat	%7 NaCl 13 °C		%7 NaCl 28 °C	
	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH
<i>L. plantarum</i> Z134B	0,07 ± 0,04	5,46 ± 0,04	0,31 ± 0,22	3,82 ± 0,53
<i>L. plantarum</i> Z135A	0,11 ± 0,08	5,41 ± 0,007	0,56 ± 0,40	3,78 ± 0,50
<i>E. faecium</i> Z137A	0,21 ± 0,15	5,55 ± 0,01	0,68 ± 0,48	5,38 ± 0,09
<i>E. faecium</i> Z3a	0,25 ± 0,18	5,51 ± 0,02	0,51 ± 0,36	5,25 ± 0,11
<i>L. farciminis</i> Z4a	0,20 ± 0,10	5,44 ± 0,006	0,65 ± 0,30	5,20 ± 0,12
<i>E. faecium</i> Z4b	0,05 ± 0,03	5,5 ± 0,03	1,46 ± 1,03	5,31 ± 0,13
<i>E. faecium</i> Z4c	0,20 ± 0,13	5,54 ± 0	0,84 ± 0,60	5,26 ± 0,07
<i>E. faecium</i> Z6a	0,11 ± 0,08	5,28 ± 0,10	0	3,75 ± 0,31
<i>E. faecium</i> Z8a	0,03 ± 0,02	5,58 ± 0,01	0,81 ± 0,57	3,88 ± 0,84
<i>E. faecium</i> Z8b	0,04 ± 0,03	5,38 ± 0,01	0,74 ± 0,52	3,75 ± 0,41

**EK 3 - Tablo 4.3.** Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi (devam)

İzolat	%8 NaCl 13 °C		%8 NaCl 28 °C	
	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH
<i>L. acidipiscis</i> Z1B	0,072 ± 0,05	5,42 ± 0,02	0	4,68 ± 0,15
<i>L. acidipiscis</i> Z1C	0,05 ± 0,04	5,4 ± 0,02	0,01 ± 0,01	4,75 ± 0,10
<i>L. acidipiscis</i> Z1D	0,06 ± 0,04	5,41 ± 0,01	0	4,25 ± 0,41
<i>L. acidipiscis</i> Z2A	0,15 ± 0,10	5,39 ± 0,02	0	4,2 ± 0,36
<i>L. acidipiscis</i> Z2B	0,11 ± 0,08	5,4 ± 0,01	0	3,97 ± 0,50
<i>L. acidipiscis</i> Z2C	0,05 ± 0,03	5,37 ± 0,02	0	4,1 ± 0,45
<i>L. acidipiscis</i> Z6A	0,99 ± 0,70	5,39 ± 0,02	1,18 ± 0,84	4,51 ± 0,61
<i>L. plantarum</i> Z9A	0,21 ± 0,15	5,43 ± 0,02	0,29 ± 0,21	5,3 ± 0,07
<i>L. plantarum</i> Z13A	0,32 ± 0,22	5,37 ± 0,02	0	3,62 ± 0,62
<i>L. plantarum</i> Z17A	0,29 ± 0,20	5,4 ± 0,03	0,33 ± 0,23	5,33 ± 0,06
<i>L. plantarum</i> Z20A	0,38 ± 0,27	5,41 ± 0,02	0,53 ± 0,38	5,34 ± 0,07
<i>L. plantarum</i> Z23A	0,08 ± 0,06	5,47 ± 0,02	0,09 ± 0,06	5,46 ± 0,03
<i>L. acidipiscis</i> Z27A	0,009 ± 0,006	5,5 ± 0,01	0,40 ± 0,28	5,3 ± 0,14
<i>L. plantarum</i> Z30A	0,01 ± 0,01	5,33 ± 0,02	0	4,78 ± 0,24
<i>L. plantarum</i> Z30B	0,03 ± 0,02	5,39 ± 0,02	0	3,95 ± 0,53
<i>L. acidipiscis</i> Z30C	0,01 ± 0,008	5,28 ± 0,05	0,21 ± 0,14	4,51 ± 0,20
<i>L. plantarum</i> Z31A	0,06 ± 0,04	5,03 ± 0,06	0,51 ± 0,36	3,68 ± 0,24
<i>L. plantarum</i> Z31B	0,07 ± 0,05	5,01 ± 0,12	0,59 ± 0,41	3,75 ± 0,32
<i>L. plantarum</i> Z32A	0,01 ± 0,007	5,43 ± 0	0,32 ± 0,22	5,36 ± 0,03

**EK 3 - Tablo 4.3.** Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi (devam)

İzolat	%8 NaCl 13 °C		%8 NaCl 28 °C	
	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH
<i>L. plantarum</i> Z33A	0	5,42 ± 0,007	1,26 ± 0,89	4,37 ± 0,66
Z36A	0	5,42 ± 0	0,23 ± 0,16	4,17 ± 0,63
<i>L. plantarum</i> Z39A	0,002 ± 0,001	5,41 ± 0,02	0,44 ± 0,31	4,69 ± 0,49
<i>L. plantarum</i> Z41A	0,008 ± 0,005	5,3 ± 0,01	0,96 ± 0,68	4,3 ± 0,36
<i>L. alimentarius</i> Z42A	0,07 ± 0,05	4,94 ± 0,18	0,33 ± 0,23	3,99 ± 0,30
<i>L. acidipiscis</i> Z43A	0,01 ± 0,008	5,14 ± 0,05	0,33 ± 0,23	3,98 ± 0,28
Z44A	0,03 ± 0,02	5,39 ± 0,02	0,58 ± 0,41	3,92 ± 0,36
<i>L. plantarum</i> Z44B	0,08 ± 0,06	5,41 ± 0,007	0,94 ± 0,66	4,91 ± 0,29
<i>L. acidipiscis</i> Z46A	0,009 ± 0,006	5,38 ± 0,02	0,95 ± 0,67	4,18 ± 0,57
<i>L. acidipiscis</i> Z47A	0,01 ± 0,01	5,17 ± 0,05	0,64 ± 0,45	4,22 ± 0,19
<i>L. plantarum</i> Z48A	0,02 ± 0,01	5,43 ± 0	0,12 ± 0,08	5,4 ± 0,01
<i>L. acidipiscis</i> Z49A	0,13 ± 0,09	5,38 ± 0,02	0,66 ± 0,46	5,3 ± 0,04
<i>L. plantarum</i> Z53A	0,08 ± 0,05	5,47 ± 0,03	1,29 ± 0,91	4,65 ± 0,57
<i>L. plantarum</i> Z55A	0,10 ± 0,07	5,41 ± 0,02	0,70 ± 0,50	5,32 ± 0,02
<i>L. plantarum</i> Z56A	0,60 ± 0,42	5,45 ± 0,02	0,63 ± 0,44	5,32 ± 0,07
<i>L. plantarum</i> Z59A	0,0005 ± 0	5,37 ± 0,03	0,49 ± 0,35	5,36 ± 0,06
<i>L. plantarum</i> Z64A	0,01 ± 0,009	5,37 ± 0,007	0,40 ± 0,28	3,7 ± 0,28
<i>L. plantarum</i> Z64B	0	5,36 ± 0,09	0,28 ± 0,20	3,98 ± 0,50
<i>L. plantarum</i> Z66A	0	5,36 ± 0,02	0,55 ± 0,38	3,75 ± 0,48
<i>L. acidipiscis</i> Z70A	0,001 ± 0,001	5,41 ± 0,02	0,41 ± 0,29	4,18 ± 0,48

**EK 3 - Tablo 4.3.** Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi (devam)

İzolat	%8 NaCl 13 °C		%8 NaCl 28 °C	
	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH
<i>L. acidipiscis</i> Z72A	0	5,37 ± 0,007	1,05 ± 0,74	4,82 ± 0,37
<i>L. acidipiscis</i> Z73A	0,10 ± 0,07	5,45 ± 0,05	1,14 ± 0,81	4,38 ± 0,70
<i>L. plantarum</i> Z74A	0,02 ± 0,01	5,43 ± 0,02	0,81 ± 0,57	5,34 ± 0,05
<i>L. plantarum</i> Z75A	0	5,45 ± 0,02	0,70 ± 0,50	5,34 ± 0,06
Z77A	0,76 ± 0,54	5,44 ± 0,04	0,67 ± 0,47	5,39 ± 0,04
<i>L. plantarum</i> Z78A	0,01 ± 0,007	5,45 ± 0,01	0,47 ± 0,33	3,92 ± 0,49
<i>L. plantarum</i> Z78B	0,06 ± 0,04	5,32 ± 0,09	1,10 ± 0,78	3,98 ± 0,77
<i>L. plantarum</i> Z80A	0	5,41 ± 0,01	0,86 ± 0,60	4,16 ± 0,56
<i>L. plantarum</i> Z80B	0,30 ± 0,21	5,46 ± 0,01	1,17 ± 0,82	5,42 ± 0,03
<i>L. plantarum</i> Z80C	0,03 ± 0,02	5,51 ± 0,03	0,72 ± 0,51	5,32 ± 0,09
<i>L. plantarum</i> Z81A	0,10 ± 0,07	5,34 ± 0,05	0,12 ± 0,08	3,67 ± 0,30
<i>L. plantarum</i> Z81B	0,06 ± 0,04	5,4 ± 0,02	0,38 ± 0,27	3,75 ± 0,46
<i>L. plantarum</i> Z83A	0,11 ± 0,07	5,5 ± 0,02	1,31 ± 0,92	4,43 ± 0,67
<i>L. plantarum</i> Z83B	0	5,42 ± 0,01	0,58 ± 0,41	5,36 ± 0,06
<i>L. plantarum</i> Z85A	0,09 ± 0,06	5,37 ± 0,02	0,63 ± 0,44	3,88 ± 0,56
<i>L. acidipiscis</i> Z85B	0	5,42 ± 0,01	0,21 ± 0,15	4,19 ± 0,48
<i>L. plantarum</i> Z98A	0	5,45 ± 0	0,93 ± 0,66	4,07 ± 0,80
<i>L. plantarum</i> Z98B	0,003 ± 0,002	5,45 ± 0,014	0,69 ± 0,49	3,85 ± 0,82
<i>L. plantarum</i> Z99A	0,02 ± 0,01	5,34 ± 0,06	1,17 ± 0,82	3,85 ± 0,70
<i>L. plantarum</i> Z100A	0,007 ± 0,005	5,44 ± 0	0,89 ± 0,63	4,25 ± 0,61



**EK 3 - Tablo 4.3.** Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi (devam)

İzolat	%8 NaCl 13 °C		%8 NaCl 28 °C	
	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH
<i>L. plantarum</i> Z103A	0,002± 0,001	5,45 ± 0,007	1,07 ± 0,76	3,9 ± 0,56
<i>L. plantarum</i> Z107A	0	5,43 ± 0	0,72 ± 0,51	3,85 ± 0,65
<i>L. plantarum</i> Z107B	0,01 ± 0,01	5,41 ± 0,01	0,48 ± 0,33	3,82 ± 0,47
<i>L. plantarum</i> Z107C	0	5,4 ± 0,007	0,70 ± 0,49	3,85 ± 0,56
Z110A	0,009 ± 0,006	5,5 ± 0	0,60 ± 0,43	4,92 ± 0,41
<i>L. plantarum</i> Z111A	0,09 ± 0,06	5,4 ± 0,007	0,12 ± 0,08	3,76 ± 0,18
<i>L. acidipiscis</i> Z112A	0,01 ± 0,008	5,46 ± 0	0,28 ± 0,19	4,31 ± 0,45
<i>L. alimentarius</i> 112B	0,02 ± 0,01	5,51 ± 0	0,30 ± 0,21	4,34 ± 0,70
<i>L. namurensis</i> Z112C	0,007 ± 0,004	5,5 ± 0	0,24 ± 0,17	5,5 ± 0,04
<i>L. acidipiscis</i> Z112D	0,01± 0,007	5,5 ± 0	0,39 ± 0,27	3,95 ± 0,37
<i>L. plantarum</i> Z114A	0,01± 0,01	5,43 ± 0,007	0,78 ± 0,55	3,96 ± 0,55
<i>L. plantarum</i> Z114B	0,01 ± 0,01	5,38 ± 0,02	0,77 ± 0,54	3,8 ± 0,60
<i>L. plantarum</i> Z115A	0,04 ± 0,02	5,31 ± 0,06	0,40 ± 0,28	3,83 ± 0,26
<i>L. acidipiscis</i> Z118A	0,009 ± 0	5,41 ± 0,01	0,72 ± 0,50	4,33 ± 0,47
<i>L. plantarum</i> Z120A	0,03 ± 0,02	5,36 ± 0,02	0,46 ± 0,32	3,87 ± 0,43
<i>L. plantarum</i> Z121A	0,14 ± 0,10	5,33 ± 0,07	0,36 ± 0,26	3,67 ± 0,38
<i>L. plantarum</i> Z126A	0,01 ± 0,01	5,36 ± 0,02	0,76 ± 0,54	3,84 ± 0,62
<i>L. acidipiscis</i> Z128A	0	5,43 ± 0,02	0,32 ± 0,23	4,94 ± 0,28
<i>L. plantarum</i> Z134A	0,02 ± 0,01	5,37 ± 0,007	0,86 ± 0,61	3,86 ± 0,53

**EK 3 - Tablo 4.3.** Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi (devam)

İzolat	%8 NaCl 13 °C		%8 NaCl 28 °C	
	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH
<i>L. plantarum</i> Z134B	0,03 ± 0,02	5,47 ± 0,01	0,93 ± 0,65	3,88 ± 0,55
<i>L. plantarum</i> Z135A	0,01 ± 0,009	5,44 ± 0,007	0,95 ± 0,67	3,82 ± 1,18
<i>E. faecium</i> Z137A	0,18 ± 0,12	5,49 ± 0,01	0,73 ± 0,51	5,42 ± 0,01
<i>E. faecium</i> Z3a	0,28 ± 0,20	5,38 ± 0,10	0,74 ± 0,52	5,32 ± 0,10
<i>L. farciminis</i> Z4a	0,25 ± 0,07	5,44 ± 0,007	0,70 ± 0,60	5,25 ± 0,08
<i>E. faecium</i> Z4b	0	5,49 ± 0,028	0,72 ± 0,51	5,33 ± 0,09
<i>E. faecium</i> Z4c	0,13 ± 0,09	5,46 ± 0,04	0,008 ± 0	5,3 ± 0,09
<i>E. faecium</i> Z6a	0,09 ± 0,06	5,4 ± 0,06	0,58 ± 0,41	3,9 ± 0,52
<i>E. faecium</i> Z8a	0,02 ± 0,02	5,52 ± 0,01	1,35 ± 0,95	3,9 ± 0,89
<i>E. faecium</i> Z8b	0,01 ± 0,007	5,29 ± 0,07	1,23 ± 0,86	3,8 ± 0,61

**EK 3 - Tablo 4.3.** Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi (devam)

İzolat	%9 NaCl 13 °C		%9 NaCl 28 °C	
	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH
<i>L. acidipiscis</i> Z1B	0,031 ± 0,02	5,44 ± 0,02	0,604 ± 0,42	4,16 ± 0,56
<i>L. acidipiscis</i> Z1C	0,026 ± 0,01	5,42 ± 0,03	0,6435 ± 0,45	4,12 ± 0,62
<i>L. acidipiscis</i> Z1D	0,012 ± 0,008	5,42 ± 0,03	0,737 ± 0,52	4,21 ± 0,58
<i>L. acidipiscis</i> Z2A	0,02 ± 0,01	5,44 ± 0,06	0,766 ± 0,54	4,33 ± 0,53
<i>L. acidipiscis</i> Z2B	0,002 ± 0,001	5,48 ± 0,03	1,0505 ± 0,74	4,99 ± 0,27
<i>L. acidipiscis</i> Z2C	0,017 ± 0,01	5,43 ± 0,01	0,677 ± 0,47	4,2 ± 0,49
<i>L. acidipiscis</i> Z6A	0	5,42 ± 0,02	0	5,21 ± 0,14
<i>L. plantarum</i> Z9A	0,157 ± 0,11	5,49 ± 0,01	0,662 ± 0,46	5,33 ± 0,07
<i>L. plantarum</i> Z13A	0,033 ± 0,02	5,38 ± 0,01	0,718 ± 0,5	4,25 ± 0,52
<i>L. plantarum</i> Z17A	0,14 ± 0,09	5,47 ± 0	0,771 ± 0,54	5,23 ± 0,14
<i>L. plantarum</i> Z20A	0,127 ± 0,08	5,46 ± 0,007	0,702 ± 0,49	5,3 ± 0,08
<i>L. plantarum</i> Z23A	0,005 ± 0,003	5,5 ± 0,04	0,104 ± 0,07	5,47 ± 0,01
<i>L. acidipiscis</i> Z27A	0,008 ± 0,005	5,48 ± 0,01	0,174 ± 0,12	5,47 ± 0,03
<i>L. plantarum</i> Z30A	0,016 ± 0,01	5,42 ± 0,03	0,794 ± 0,56	4,71 ± 0,38
<i>L. plantarum</i> Z30B	0,009 ± 0,006	5,42 ± 0,07	0,8425 ± 0,59	4,26 ± 0,54
<i>L. acidipiscis</i> Z30C	0,0085 ± 0,006	5,43 ± 0,03	1,47 ± 1,03	4,93 ± 0,29
<i>L. plantarum</i> Z31A	0,003 ± 0,002	5,42 ± 0	0,605 ± 0,42	4,06 ± 0,65
<i>L. plantarum</i> Z31B	0,0305 ± 0,02	5,4 ± 0,02	0,755 ± 0,53	4,3 ± 0,50
<i>L. plantarum</i> Z32A	0,0155 ± 0,01	5,52 ± 0,01	1,09 ± 0,77	4,61 ± 0,55

**EK 3 - Tablo 4.3.** Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi (devam)

İzolat	%9 NaCl 13 °C		%9 NaCl 28 °C	
	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH
<i>L. plantarum</i> Z33A	0,002 ± 0,001	5,42 ± 0,01	0,036 ± 0,02	5,50 ± 0,03
Z36A	0,003 ± 0,002	5,42 ± 0,01	0,496 ± 0,35	5,31 ± 0,07
<i>L. plantarum</i> Z39A	0,007 ± 0,004	5,42 ± 0,01	0	5,4 ± 0,01
<i>L. plantarum</i> Z41A	0,012 ± 0,008	5,51 ± 0,007	0,393 ± 0,27	5,3 ± 0,12
<i>L. alimentarius</i> Z42A	0,004 ± 0,002	5,51 ± 0,02	0,163 ± 0,11	5,3 ± 0,08
<i>L. acidipiscis</i> Z43A	0,024 ± 0,01	5,44 ± 0,01	0,959 ± 0,67	4,15 ± 0,62
Z44A	0,008 ± 0,005	5,4 ± 0,007	0,3735 ± 0,26	4,6 ± 0,42
<i>L. plantarum</i> Z44B	0,055 ± 0,03	5,52 ± 0,007	1,098 ± 0,77	5 ± 0,31
<i>L. acidipiscis</i> Z46A	0	0	0	0
<i>L. acidipiscis</i> Z47A	0,007 ± 0,004	5,5 ± 0,01	0,035 ± 0,02	5,44 ± 0,01
<i>L. plantarum</i> Z48A	0,043 ± 0,03	5,52 ± 0,007	0,313 ± 0,22	5,37 ± 0,05
<i>L. acidipiscis</i> Z49A	0,187 ± 0,13	5,52 ± 0,03	1,085 ± 0,76	4,66 ± 0,54
<i>L. plantarum</i> Z53A	0,048 ± 0,03	5,47 ± 0,02	0,613 ± 0,43	5,42 ± 0,03
<i>L. plantarum</i> Z55A	0,162 ± 0,11	5,5 ± 0	1,07 ± 0,75	4,98 ± 0,35
<i>L. plantarum</i> Z56A	0,022 ± 0,01	5,5 ± 0,007	0,62 ± 0,43	5,34 ± 0,05
<i>L. plantarum</i> Z59A	0,045 ± 0,03	5,51 ± 0,007	0,836 ± 0,59	5,33 ± 0,05
<i>L. plantarum</i> Z64A	0,013 ± 0,009	5,45 ± 0,035	0,879 ± 0,62	4,53 ± 0,48
<i>L. plantarum</i> Z64B	0	5,5 ± 0	0,012 ± 0,008	5,38 ± 0,02
<i>L. plantarum</i> Z66A	0,011 ± 0,007	5,5 ± 0,007	0,001 ± 0,0007	5,41 ± 0,007
<i>L. acidipiscis</i> Z70A	0,006 ± 0,004	5,45 ± 0,02	1,232 ± 0,87	4,34 ± 0,62

**EK 3 - Tablo 4.3.** Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi (devam)

İzolat	%9 NaCl 13 °C		%9 NaCl 28 °C	
	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH
<i>L. acidipiscis</i> Z72A	0,002 ± 0,001	5,43 ± 0,01	0,004 ± 0,002	5,37 ± 0,04
<i>L. acidipiscis</i> Z73A	0,196 ± 0,13	5,5 ± 0,01	0,906 ± 0,64	5,35 ± 0,04
<i>L. plantarum</i> Z74A	0,1645 ± 0,11	5,49 ± 0,01	0,6305 ± 0,44	5,38 ± 0,03
<i>L. plantarum</i> Z75A	0,2145 ± 0,15	5,5 ± 0,02	0,6295 ± 0,44	5,35 ± 0,04
Z77A	0,078 ± 0,05	5,51 ± 0	0,7795 ± 0,55	5,44 ± 0,03
<i>L. plantarum</i> Z78A	0,001 ± 0	5,51 ± 0,007	0	5,46 ± 0,02
<i>L. plantarum</i> Z78B	0,018 ± 0,01	5,41 ± 0,01	0,901 ± 0,63	4,81 ± 0,41
<i>L. plantarum</i> Z80A	0,024 ± 0,01	5,34 ± 0,007	1,0855 ± 0,76	4,47 ± 0,51
<i>L. plantarum</i> Z80B	0,0355 ± 0,02	5,35 ± 0,01	1,018 ± 0,71	4,33 ± 0,57
<i>L. plantarum</i> Z80C	0,005 ± 0,003	5,39 ± 0	0,701 ± 0,49	3,99 ± 0,58
<i>L. plantarum</i> Z81A	0,010 ± 0,007	5,38 ± 0,01	0,856 ± 0,60	3,9 ± 0,61
<i>L. plantarum</i> Z81B	0,009 ± 0,006	5,4 ± 0,01	1,172 ± 0,82	4,62 ± 0,44
<i>L. plantarum</i> Z83A	0,029 ± 0,02	5,44 ± 0,01	1,235 ± 0,87	4,85 ± 0,41
<i>L. plantarum</i> Z83B	0,0475 ± 0,03	5,43 ± 0,01	0,785 ± 0,55	5,3 ± 0,09
<i>L. plantarum</i> Z85A	0,023 ± 0,01	5,44 ± 0,04	0,689 ± 0,48	5,36 ± 0,07
<i>L. acidipiscis</i> Z85B	0,0185 ± 0,01	5,34 ± 0,02	1,014 ± 0,71	4,27 ± 0,56
<i>L. plantarum</i> Z98A	0,008 ± 0,005	5,34 ± 0,04	0,7615 ± 0,53	4,01 ± 0,62
<i>L. plantarum</i> Z98B	0,012 ± 0,008	5,43 ± 0,007	0,02 ± 0,01	5,38 ± 0,04
<i>L. plantarum</i> Z99A	0,014 ± 0,009	5,41 ± 0,02	0,4215 ± 0,29	4,92 ± 0,29
<i>L. plantarum</i> Z100A	0,056 ± 0,03	5,38 ± 0,02	0,0165 ± 0,01	5,44 ± 0,007

**EK 3 - Tablo 4.3.** Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi (devam)

İzolat	%9 NaCl 13 °C		%9 NaCl 28 °C	
	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH
<i>L. plantarum</i> Z103A	0,009 ± 0,006	5,38 ± 0,03	0,227 ± 0,16	5,37 ± 0,02
<i>L. plantarum</i> Z107A	0,003 ± 0,002	5,38 ± 0,02	0,5065 ± 0,35	5,16 ± 0,18
<i>L. plantarum</i> Z107B	0,002 ± 0,001	5,37 ± 0,02	0,666 ± 0,47	4,7 ± 0,40
<i>L. plantarum</i> Z107C	0,011 ± 0,008	5,31 ± 0,02	1,02 ± 0,72	3,98 ± 0,62
Z110A	0,011 ± 0,007	5,44 ± 0	1,358 ± 0,96	5,4 ± 0,02
<i>L. plantarum</i> Z111A	0,008 ± 0,005	5,37 ± 0,01	0,807 ± 0,57	3,89 ± 0,63
<i>L. acidipiscis</i> Z112A	0,003 ± 0,002	5,36 ± 0,01	0,664 ± 0,46	4,04 ± 0,58
<i>L. alimentarius</i> 112B	0,018 ± 0,012	5,31 ± 0,05	0,528 ± 0,37	4,05 ± 0,45
<i>L. namurensis</i> Z112C	0,006 ± 0,004	5,61 ± 0,04	0	5,4 ± 0,10
<i>L. acidipiscis</i> Z112D	0,017 ± 0,012	5,34 ± 0,007	0,009 ± 0,006	3,97 ± 0,45
<i>L. plantarum</i> Z114A	0,008 ± 0,005	5,4 ± 0,007	1,2535 ± 0,88	4,14 ± 0,67
<i>L. plantarum</i> Z114B	0	5,35 ± 0,007	0,1675 ± 0,11	4,88 ± 0,29
<i>L. plantarum</i> Z115A	0	5,36 ± 0,007	0,804 ± 0,56	3,95 ± 0,65
<i>L. acidipiscis</i> Z118A	0,001 ± 0	5,6 ± 0,03	0,098 ± 0,06	4,63 ± 0,65
<i>L. plantarum</i> Z120A	0	5,55 ± 0,01	0,004 ± 0,002	3,85 ± 1,18
<i>L. plantarum</i> Z121A	0	5,54 ± 0,02	0	3,81 ± 1,20
<i>L. plantarum</i> Z126A	0	5,54 ± 0,01	0,25 ± 0,17	4,1 ± 1,00
<i>L. acidipiscis</i> Z128A	0,002 ± 0,001	5,41 ± 0,04	0,081 ± 0,05	5,3 ± 0,09
<i>L. plantarum</i> Z134A	0	5,54 ± 0,02	0,006 ± 0,004	4,09 ± 0,99

**EK 3 - Tablo 4.3.** Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi (devam)

İzolat	%9 NaCl 13 °C		%9 NaCl 28 °C	
	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH
<i>L. plantarum</i> Z134B	0	5,4 ± 0,01	0	3,96 ± 1,00
<i>L. plantarum</i> Z135A	0	5,42 ± 0,01	0,015 ± 0,01	5,28 ± 0,08
<i>E. faecium</i> Z137A	0	5,6 ± 0	0,774 ± 0,54	5,45 ± 0,10
<i>E. faecium</i> Z3a	0,007 ± 0,005	5,47 ± 0,01	0,649 ± 0,45	5,37 ± 0,05
<i>L. farciminis</i> Z4a	0,146 ± 0,10	5,44 ± 0,01	0,680 ± 0,06	5,20 ± 0,03
<i>E. faecium</i> Z4b	0,015 ± 0,01	5,49 ± 0,007	0,613 ± 0,43	5,41 ± 0,04
<i>E. faecium</i> Z4c	0,015 ± 0,01	5,5 ± 0,01	0,339 ± 0,23	5,41 ± 0,04
<i>E. faecium</i> Z6a	0,02 ± 0,01	5,44 ± 0,02	0,443 ± 0,31	4,57 ± 0,47
<i>E. faecium</i> Z8a	0	0	0	0
<i>E. faecium</i> Z8b	0,004 ± 0,002	5,37 ± 0,03	0,597 ± 0,42	4,65 ± 0,43

**EK 3 - Tablo 4.3.** Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi (devam)

İzolat	%10 NaCl 13 °C		%10 NaCl 28 °C	
	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH
<i>L. acidipiscis</i> Z1B	0,023 ± 0,01	5,42 ± 0,007	0,767 ± 0,54	4,25 ± 0,52
<i>L. acidipiscis</i> Z1C	0,0205 ± 0,01	5,42 ± 0	0,8745 ± 0,61	4,21 ± 0,54
<i>L. acidipiscis</i> Z1D	0,018 ± 0,01	5,42 ± 0,007	0,837 ± 0,59	4,11 ± 0,59
<i>L. acidipiscis</i> Z2A	0,018 ± 0,01	5,4 ± 0,03	0,794 ± 0,56	4,34 ± 0,45
<i>L. acidipiscis</i> Z2B	0,005 ± 0,003	5,43 ± 0,02	0,356 ± 0,25	5,23 ± 0,12
<i>L. acidipiscis</i> Z2C	0,017 ± 0,01	5,4 ± 0,01	0,65 ± 0,45	4,22 ± 0,48
<i>L. acidipiscis</i> Z6A	0,005 ± 0,003	5,38 ± 0,02	1,223 ± 0,86	5,1 ± 0,19
<i>L. plantarum</i> Z9A	0,174 ± 0,12	5,45 ± 0,01	0,649 ± 0,45	5,31 ± 0,01
<i>L. plantarum</i> Z13A	0,035 ± 0,02	5,37 ± 0,007	0,772 ± 0,54	4,26 ± 0,52
<i>L. plantarum</i> Z17A	0,143 ± 0,10	5,43 ± 0,02	0,6625 ± 0,46	5,34 ± 0,07
<i>L. plantarum</i> Z20A	0,129 ± 0,09	5,45 ± 0,01	0,728 ± 0,51	5,36 ± 0,07
<i>L. plantarum</i> Z23A	0,004 ± 0,002	5,49 ± 0,02	0,1005 ± 0,07	5,4 ± 0,02
<i>L. acidipiscis</i> Z27A	0,0175 ± 0,01	5,43 ± 0,02	0,1805 ± 0,12	5,46 ± 0,007
<i>L. plantarum</i> Z30A	0,0175 ± 0,01	5,41 ± 0,01	0,399 ± 0,28	4,9 ± 0,24
<i>L. plantarum</i> Z30B	0,0055 ± 0,003	5,4 ± 0,07	0,002 ± 0,001	4,3 ± 0,48
<i>L. acidipiscis</i> Z30C	0,0005 ± 0	5,45 ± 0,04	1,076 ± 0,76	4,9 ± 0,35
<i>L. plantarum</i> Z31A	0	5,37 ± 0,007	0,86 ± 0,60	4,2 ± 0,53
<i>L. plantarum</i> Z31B	0,016 ± 0,01	5,35 ± 0,007	0,735 ± 0,52	4,36 ± 0,50
<i>L. plantarum</i> Z32A	0,015 ± 0,01	5,48 ± 0,09	0,322 ± 0,22	5,41 ± 0,02



**EK 3 - Tablo 4.3.** Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi (devam)

İzolat	%10 NaCl 13 °C		%10 NaCl 28 °C	
	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH
<i>L. plantarum</i> Z33A	0,0425 ± 0,03	5,36 ± 0,02	0,239 ± 0,16	5,33 ± 0,007
Z36A	0,003 ± 0,002	5,38 ± 0,01	0,475 ± 0,33	5,27 ± 0,05
<i>L. plantarum</i> Z39A	0,0065 ± 0,004	5,26 ± 0,10	0,028 ± 0,02	5,38 ± 0
<i>L. plantarum</i> Z41A	0,014 ± 0,009	5,47 ± 0,02	0,159 ± 0,11	5,41 ± 0,02
<i>L. alimentarius</i> Z42A	0,004 ± 0,002	5,46 ± 0,01	0,012 ± 0,008	5,42 ± 0,01
<i>L. acidipiscis</i> Z43A	0,021 ± 0,01	5,42 ± 0	1,097 ± 0,77	4,45 ± 0,53
Z44A	0,011 ± 0,07	5,38 ± 0,03	0,961 ± 0,67	4,59 ± 0,39
<i>L. plantarum</i> Z44B	0,035 ± 0,02	5,47 ± 0,02	0,753 ± 0,53	5,3 ± 0,10
<i>L. acidipiscis</i> Z46A	0	5,50 ± 0	0	5,54 ± 0,10
<i>L. acidipiscis</i> Z47A	0,069 ± 0,04	5,48 ± 0	0,014 ± 0,010	5,33 ± 0,07
<i>L. plantarum</i> Z48A	0,001 ± 0	5,47 ± 0,08	0,012 ± 0,008	5,41 ± 0,007
<i>L. acidipiscis</i> Z49A	0,141 ± 0,09	5,46 ± 0,007	0,817 ± 0,57	5,33 ± 0,06
<i>L. plantarum</i> Z53A	0,072 ± 0,05	5,43 ± 0,03	0,697 ± 0,49	5,4 ± 0,007
<i>L. plantarum</i> Z55A	0,089 ± 0,06	5,48 ± 0,04	0,818 ± 0,57	5,29 ± 0,09
<i>L. plantarum</i> Z56A	0,010 ± 0,007	5,46 ± 0,007	0,303 ± 0,21	5,34 ± 0,02
<i>L. plantarum</i> Z59A	0,032 ± 0,02	5,43 ± 0,007	0,611 ± 0,43	5,38 ± 0,02
<i>L. plantarum</i> Z64A	0,012 ± 0,008	5,46 ± 0,02	1,696 ± 1,19	5,32 ± 0,03
<i>L. plantarum</i> Z64B	0	5,4 ± 0,04	0	5,43 ± 0,02
<i>L. plantarum</i> Z66A	0,008 ± 0	5,44 ± 0,007	0,0055 ± 0,003	5,41 ± 0,007
<i>L. acidipiscis</i> Z70A	0,009 ± 0,006	5,45 ± 0,05	1,4 ± 0,98	4,62 ± 0,44

**EK 3 - Tablo 4.3.** Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi (devam)

İzolat	%10 NaCl 13 °C		%10 NaCl 28 °C	
	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH
<i>L. acidipiscis</i> Z72A	0	5,34 ± 0,08	0,001 ± 0	5,38 ± 0,02
<i>L. acidipiscis</i> Z73A	0,137 ± 0,09	5,39 ± 0,02	0,647 ± 0,45	5,33 ± 0,04
<i>L. plantarum</i> Z74A	0,1415 ± 0,10	5,42 ± 0	0,6265 ± 0,44	5,31 ± 0,07
<i>L. plantarum</i> Z75A	0,1735 ± 0,12	5,44 ± 0,02	0,6615 ± 0,46	5,33 ± 0,07
Z77A	0,0445 ± 0,03	5,47 ± 0	0,775 ± 0,54	5,4 ± 0,04
<i>L. plantarum</i> Z78A	0,002 ± 0,001	5,44 ± 0,02	0,001 ± 0	5,39 ± 0,04
<i>L. plantarum</i> Z78B	0,0625 ± 0,04	5,38 ± 0,02	0,5945 ± 0,42	4,66 ± 0,45
<i>L. plantarum</i> Z80A	0,014 ± 0,009	5,4 ± 0,007	0,8865 ± 0,62	4,73 ± 0,37
<i>L. plantarum</i> Z80B	0,01 ± 0,007	5,4 ± 0,01	0,739 ± 0,52	4,54 ± 0,49
<i>L. plantarum</i> Z80C	0,006 ± 0,004	5,42 ± 0	0,8205 ± 0,58	4,4 ± 0,47
<i>L. plantarum</i> Z81A	0	5,38 ± 0,01	1,034 ± 0,73	4,27 ± 0,55
<i>L. plantarum</i> Z81B	0,003 ± 0,002	5,4 ± 0,01	0,695 ± 0,49	5,05 ± 0,21
<i>L. plantarum</i> Z83A	0,02 ± 0,01	5,42 ± 0,02	0,593 ± 0,41	5,2 ± 0,16
<i>L. plantarum</i> Z83B	0,053 ± 0,03	5,42 ± 0,03	0,623 ± 0,44	5,41 ± 0,02
<i>L. plantarum</i> Z85A	0,017 ± 0,01	5,44 ± 0,02	0,339 ± 0,23	5,4 ± 0,10
<i>L. acidipiscis</i> Z85B	0,006 ± 0,004	5,41 ± 0,02	1,045 ± 0,73	5,28 ± 0,60
<i>L. plantarum</i> Z98A	0,007 ± 0,004	5,37 ± 0,02	0,9805 ± 0,69	4,33 ± 0,57
<i>L. plantarum</i> Z98B	0,005 ± 0,003	5,36 ± 0	0,153 ± 0,10	4,23 ± 0,01
<i>L. plantarum</i> Z99A	0,009 ± 0,006	5,42 ± 0,07	0,9615 ± 0,67	5,41 ± 0,33
<i>L. plantarum</i> Z100A	0	5,35 ± 0,01	0,002 ± 0,001	4,8 ± 0

**EK 3 - Tablo 4.3.** Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi (devam)

İzolat	%10 NaCl 13 °C		%10 NaCl 28 °C	
	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH
<i>L. plantarum</i> Z103A	0,005 ± 0,003	5,42 ± 0,01	0,3 ± 0,21	5,36 ± 0,04
<i>L. plantarum</i> Z107A	0	5,43 ± 0	0,031 ± 0,02	5,38 ± 0,04
<i>L. plantarum</i> Z107B	0	5,36 ± 0,03	0,209 ± 0,14	5,1 ± 0,14
<i>L. plantarum</i> Z107C	0,004 ± 0,002	5,36 ± 0,02	1,04 ± 0,73	4,2 ± 0,63
Z110A	0,003 ± 0,002	5,42 ± 0,01	0,105 ± 0,07	5,41 ± 0
<i>L. plantarum</i> Z111A	0,006 ± 0,004	5,36 ± 0,01	0,977 ± 0,69	4,17 ± 0,57
<i>L. acidipiscis</i> Z112A	0	5,37 ± 0	0,902 ± 0,63	4,17 ± 0,55
<i>L. alimentarius</i> 112B	0,029 ± 0,02	5,34 ± 0,03	0,805 ± 0,56	4,15 ± 0,58
<i>L. namurensis</i> Z112C	0,007 ± 0,004	5,5 ± 0	0,24 ± 0,17	5,5 ± 0,04
<i>L. acidipiscis</i> Z112D	0,01 ± 0,007	5,5 ± 0	0,39 ± 0,27	3,95 ± 0,37
<i>L. plantarum</i> Z114A	0,01 ± 0,01	5,43 ± 0,007	0,78 ± 0,55	3,96 ± 0,55
<i>L. plantarum</i> Z114B	0,01 ± 0,01	5,38 ± 0,02	0,77 ± 0,54	3,8 ± 0,60
<i>L. plantarum</i> Z115A	0,04 ± 0,02	5,31 ± 0,06	0,40 ± 0,28	3,83 ± 0,26
<i>L. acidipiscis</i> Z118A	0,007 ± 0,00	5,56 ± 0,04	0,04 ± 0,02	4,9 ± 0,41
<i>L. plantarum</i> Z120A	0,005 ± 0,003	5,47 ± 0,03	0,004 ± 0,002	4,62 ± 0,54
<i>L. plantarum</i> Z121A	0	5,47 ± 0	0,42 ± 0,29	4,36 ± 0,70
<i>L. plantarum</i> Z126A	0,011 ± 0,007	5,49 ± 0	0	4,36 ± 0,73
<i>L. acidipiscis</i> Z128A	0	5,4 ± 0,007	0,207 ± 0,14	5,26 ± 0,11
<i>L. plantarum</i> Z134A	0,007 ± 0,004	5,49 ± 0,007	0	5,44 ± 0,02

**EK 3 - Tablo 4.3.** Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Bakteri Gelişimi (devam)

İzolat	%10 NaCl 13 °C		%10 NaCl 28 °C	
	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH	Bakteri Gelişimi (OD <sub>590</sub> )	pH
<i>L. plantarum</i> Z134B	0,044 ± 0,03	5,49 ± 0,007	0	5,14 ± 0,17
<i>L. plantarum</i> Z135A	0	5,49 ± 0,007	0,002 ± 0,001	5,34 ± 0,02
<i>E. faecium</i> Z137A	0	5,58 ± 0,04	0,503 ± 0,35	5,46 ± 0,06
<i>E. faecium</i> Z3a	0,147 ± 0,10	5,54 ± 0	0,273 ± 0,9	5,3 ± 0,13
<i>L. farciminis</i> Z4a	0,140 ± 0,12	5,43 ± 0,01	0,626 ± 0,40	5,25 ± 0,06
<i>E. faecium</i> Z4b	0,012 ± 0,008	5,45 ± 0,02	0,726 ± 0,51	5,34 ± 0,07
<i>E. faecium</i> Z4c	0	5,53 ± 0,02	0,307 ± 0,21	5,38 ± 0,08
<i>E. faecium</i> Z6a	0,026 ± 0,01	5,38 ± 0,08	1,079 ± 0,76	4,41 ± 0,52
<i>E. faecium</i> Z8a	0	5,60 ± 0	0	5,58 ± 0,007
<i>E. faecium</i> Z8b	0	5,35 ± 0,02	1,134 ± 0,80	4,5 ± 0,53

**EK 4 - Tablo 4.4.** Bakterilerin Gaz Oluşturma Yetenekleri

İzolat	Gaz Oluşumu	İzolat	Gaz Oluşumu
<i>L. acidipiscis</i> Z1B	-	<i>L. plantarum</i> Z39A	-
<i>L. acidipiscis</i> Z1C	-	<i>L. plantarum</i> Z41A	-
<i>L. acidipiscis</i> Z1D	-	<i>L. alimentarius</i> Z42A	-
<i>L. acidipiscis</i> Z2A	-	<i>L. acidipiscis</i> Z43A	-
<i>L. acidipiscis</i> Z2B	-	Z44A	-
<i>L. acidipiscis</i> Z2C	-	<i>L. plantarum</i> Z44B	-
<i>L. acidipiscis</i> Z6A	-	<i>L. acidipiscis</i> Z46A	-
<i>L. plantarum</i> Z9A	-	<i>L. acidipiscis</i> Z47A	-
<i>L. plantarum</i> Z13A	-	<i>L. plantarum</i> Z48A	-
<i>L. plantarum</i> Z17A	-	<i>L. acidipiscis</i> Z49A	+
<i>L. plantarum</i> Z20A	-	<i>L. plantarum</i> Z53A	-
<i>L. plantarum</i> Z23A	-	<i>L. plantarum</i> Z55A	-
<i>L. acidipiscis</i> Z27A	-	<i>L. plantarum</i> Z56A	-
<i>L. plantarum</i> Z30A	-	<i>L. plantarum</i> Z59A	-
<i>L. plantarum</i> Z30B	-	<i>L. plantarum</i> Z64A	-
<i>L. acidipiscis</i> Z30C	-	<i>L. plantarum</i> Z64B	-
<i>L. plantarum</i> Z31A	-	<i>L. plantarum</i> Z66A	-
<i>L. plantarum</i> Z31B	-	<i>L. acidipiscis</i> Z70A	-
<i>L. plantarum</i> Z32A	-	<i>L. acidipiscis</i> Z72A	-
<i>L. plantarum</i> Z33A	-	<i>L. acidipiscis</i> Z73A	-
Z36A	-	<i>L. plantarum</i> Z74A	-

**EK 4 - Tablo 4.4. Bakterilerin Gaz Oluşturma Yetenekleri (devam)**

<b>İzolat</b>	<b>Gaz Oluşumu</b>	<b>İzolat</b>	<b>Gaz Oluşumu</b>
<i>L. plantarum</i> Z75A	-	Z110A	-
Z77A	-	<i>L. plantarum</i> Z111A	-
<i>L. plantarum</i> Z78A	-	<i>L. acidipiscis</i> Z112A	-
<i>L. plantarum</i> Z78B	-	<i>L. alimentarius</i> 112B	-
<i>L. plantarum</i> Z80A	-	<i>L. namurensis</i> Z112C	-
<i>L. plantarum</i> Z80B	-	<i>L. acidipiscis</i> Z112D	-
<i>L. plantarum</i> Z80C	-	<i>L. plantarum</i> Z114A	-
<i>L. plantarum</i> Z81A	-	<i>L. plantarum</i> Z114B	-
<i>L. plantarum</i> Z81B	-	<i>L. plantarum</i> Z115A	-
<i>L. plantarum</i> Z83A	-	<i>L. acidipiscis</i> Z118A	-
<i>L. plantarum</i> Z83B	-	<i>L. plantarum</i> Z120A	-
<i>L. plantarum</i> Z85A	-	<i>L. plantarum</i> Z121A	-
<i>L. acidipiscis</i> Z85B	-	<i>L. plantarum</i> Z126A	-
<i>L. plantarum</i> Z98A	-	<i>L. acidipiscis</i> Z128A	-
<i>L. plantarum</i> Z98B	-	<i>L. plantarum</i> Z134A	-
<i>L. plantarum</i> Z99A	-	<i>L. plantarum</i> Z134B	-
<i>L. plantarum</i> Z100A	-	<i>L. plantarum</i> Z135A	-
<i>L. plantarum</i> Z103A	-	<i>E. faecium</i> Z137A	-
<i>L. plantarum</i> Z107A	-	<i>E. faecium</i> Z3a	-
<i>L. plantarum</i> Z107B	-	<i>L. farciminis</i> Z4a	-
<i>L. plantarum</i> Z107C	-	<i>E. faecium</i> Z4b	-

**EK 4 - Tablo 4.4.** Bakterilerin Gaz Oluşturma Yetenekleri (devam)

<b>Tanı sonucu</b>	<b>Gaz Oluşumu</b>	<b>Tanı sonucu</b>	<b>Gaz Oluşumu</b>
<i>E. faecium</i> Z4c	-	<i>E. faecium</i> Z8a	-
<i>E. faecium</i> Z6a	-	<i>E. faecium</i> Z8b	-



**EK 5 - Tablo 4.5.** Bakterilerin Lipolitik Aktivitelerinin Kalitatif ve Kantitatif Ölçümleri

<b>İzolat</b>	<b>Lipolitik Aktivite Kalitatif Ölçüm</b>	<b>Lipolitik Aktivite Kantitatif Ölçüm (U/ml)</b>
<i>L. acidipiscis</i> Z1B	-	0
<i>L. acidipiscis</i> Z1C	-	0
<i>L. acidipiscis</i> Z1D	-	0
<i>L. acidipiscis</i> Z2A	+ (8 mm)	0,70
<i>L. acidipiscis</i> Z2B	-	0,40
<i>L. acidipiscis</i> Z2C	-	0
<i>L. acidipiscis</i> Z6A	+ (4 mm)	0,51
<i>L. plantarum</i> Z9A	-	0
<i>L. plantarum</i> Z13A	-	0
<i>L. plantarum</i> Z17A	+ (8 mm)	0,50
<i>L. plantarum</i> Z20A	+ (6 mm)	0,87
<i>L. plantarum</i> Z23A	+ (10 mm)	0,60
<i>L. acidipiscis</i> Z27A	-	0
<i>L. plantarum</i> Z30A	-	0
<i>L. plantarum</i> Z30B	-	0
<i>L. acidipiscis</i> Z30C	-	0
<i>L. plantarum</i> Z31A	-	0,10
<i>L. plantarum</i> Z31B	-	0
<i>L. plantarum</i> Z32A	-	0



**EK 5 - Tablo 4.5.** Bakterilerin Lipolitik Aktivitelerinin Kalitatif ve Kantitatif Ölçümleri  
(devam)

<b>İzolat</b>	<b>Lipolitik Aktivite Kalitatif Ölçüm</b>	<b>Lipolitik Aktivite Kantitatif Ölçüm (U/ml)</b>
<i>L. plantarum</i> Z33A	-	0
Z36A	-	0
<i>L. plantarum</i> Z39A	-	0
<i>L. plantarum</i> Z41A	-	0
<i>L. alimentarius</i> Z42A	+ Hafif	0
<i>L. acidipiscis</i> Z43A	-	0
44A	-	0,14
<i>L. plantarum</i> Z44B	-	0
<i>L. acidipiscis</i> Z46A	-	0
<i>L. acidipiscis</i> Z47A	-	0
<i>L. plantarum</i> Z48A	-	0
<i>L. acidipiscis</i> Z49A	+ (3 mm)	0,37
<i>L. plantarum</i> Z53A	Hafif	0
<i>L. plantarum</i> Z55A	Hafif	0
<i>L. plantarum</i> Z56A	-	0
<i>L. plantarum</i> Z59A	-	0
<i>L. plantarum</i> Z64A	-	0
<i>L. plantarum</i> Z64B	-	0
<i>L. plantarum</i> Z66A	-	0
<i>L. acidipiscis</i> Z70A	-	0,6

**EK 5 - Tablo 4.5.** Bakterilerin Lipolitik Aktivitelerinin Kalitatif ve Kantitatif Ölçümleri  
(devam)

<b>İzolat</b>	<b>Lipolitik Aktivite Kalitatif Ölçüm</b>	<b>Lipolitik Aktivite Kantitatif Ölçüm (U/ml)</b>
<i>L. acidipiscis</i> Z72A	-	0
<i>L. acidipiscis</i> Z73A	-	0,32
<i>L. plantarum</i> Z74A	+ (20 mm)	1,47
<i>L. plantarum</i> Z75A	+ (20 mm)	1,80
Z77A	-	0,92
<i>L. plantarum</i> Z78A	Hafif	0,27
<i>L. plantarum</i> Z78B	-	0
<i>L. plantarum</i> Z80A	-	0,27
<i>L. plantarum</i> Z80B	Hafif	0,38
<i>L. plantarum</i> Z80C	Hafif	0
<i>L. plantarum</i> Z81A	-	0,43
<i>L. plantarum</i> Z81B	-	0,05
<i>L. plantarum</i> Z83A	-	0,49
<i>L. plantarum</i> Z83B	-	0
<i>L. plantarum</i> Z85A	-	0,10
<i>L. acidipiscis</i> Z85B	-	0,80
<i>L. plantarum</i> Z98A	-	0,54
<i>L. plantarum</i> Z98B	-	0,27
<i>L. plantarum</i> Z99A	-	0
<i>L. plantarum</i> Z100A	-	0

**EK 5 - Tablo 4.5.** Bakterilerin Lipolitik Aktivitelerinin Kalitatif ve Kantitatif Ölçümleri  
(devam)

<b>İzolat</b>	<b>Lipolitik Aktivite Kalitatif Ölçüm</b>	<b>Lipolitik Aktivite Kantitatif Ölçüm (U/ml)</b>
<i>L. plantarum</i> Z103A	-	0,32
<i>L. plantarum</i> Z107A	-	0,49
<i>L. plantarum</i> Z107B	-	0
<i>L. plantarum</i> Z107C	-	0
Z110A	+ (4 mm)	0,05
<i>L. plantarum</i> Z111A	-	0,16
<i>L. acidipiscis</i> Z112A	-	0
<i>L. alimentarius</i> Z112B	-	0
<i>L. namurensis</i> Z112C	-	0,32
<i>L. acidipiscis</i> Z112D	-	0
<i>L. plantarum</i> Z114A	-	0,32
<i>L. plantarum</i> Z114B	-	0,76
<i>L. plantarum</i> Z115A	-	0,6
<i>L. acidipiscis</i> Z118A	-	0,05
<i>L. plantarum</i> Z120A	-	0,05
<i>L. plantarum</i> Z121A	-	0
<i>L. plantarum</i> Z126A	-	0,21
<i>L. acidipiscis</i> Z128A	-	1,09
<i>L. plantarum</i> Z134A	-	0,21
<i>L. plantarum</i> Z134B	-	0,10

**EK 5 - Tablo 4.5.** Bakterilerin Lipolitik Aktivitelerinin Kalitatif ve Kantitatif Ölçümleri  
(devam)

<b>İzolat</b>	<b>Lipolitik Aktivite Kalitatif Ölçüm</b>	<b>Lipolitik Aktivite Kantitatif Ölçüm (U/ml)</b>
<i>L. plantarum</i> Z135A	-	0
<i>E. faecium</i> Z137A	-	0,4
<i>E. faecium</i> Z3a	-	0
<i>L. farciminis</i> Z4a	-	0
<i>E. faecium</i> Z4b	-	0,16
<i>E. faecium</i> Z4c	-	0,38
<i>E. faecium</i> Z6a	-	0,10
<i>E. faecium</i> Z8a	-	0,76
<i>E. faecium</i> Z8b	-	0

**EK 6 - Tablo 4.6.** Bakterilerin Pektolitik Aktivitelerinin Kalitatif ve Kantitatif Ölçümleri

<b>İzolat</b>	<b>Pektolitik Aktivite Kalitatif Ölçüm</b>	<b>Pektolitik Aktivite Kantitatif Ölçüm (U/ml)</b>
<i>L. acidipiscis</i> Z1B	+ (7 mm)	5,29
<i>L. acidipiscis</i> Z1C	-	4,82
<i>L. acidipiscis</i> Z1D	-	4,63
<i>L. acidipiscis</i> Z2A	-	4,54
<i>L. acidipiscis</i> Z2B	-	3,63
<i>L. acidipiscis</i> Z2C	-	5,10
<i>L. acidipiscis</i> Z6A	-	5,00
<i>L. plantarum</i> Z9A	-	4,83
<i>L. plantarum</i> Z13A	-	4,05
<i>L. plantarum</i> Z17A	-	5,03
<i>L. plantarum</i> Z20A	-	4,61
<i>L. plantarum</i> Z23A	-	4,07
<i>L. acidipiscis</i> Z27A	-	4,22
<i>L. plantarum</i> Z30A	-	4,43
<i>L. plantarum</i> Z30B	-	4,25
<i>L. acidipiscis</i> Z30C	-	4,42
<i>L. plantarum</i> Z31A	-	5,04
<i>L. plantarum</i> Z31B	-	5,00
<i>L. plantarum</i> Z32A	-	4,51

**EK 6 - Tablo 4.6.** Bakterilerin Pektolitik Aktivitelerinin Kalitatif ve Kantitatif Ölçümleri  
(devam)

<b>İzolat</b>	<b>Pektolitik Aktivite Kalitatif Ölçüm</b>	<b>Pektolitik Aktivite Kantitatif Ölçüm (U/ml)</b>
<i>L. plantarum</i> Z33A	-	5,18
Z36A	-	4,31
<i>L. plantarum</i> Z39A	+ (6 mm)	5,15
<i>L. plantarum</i> Z41A	+ (6 mm)	4,18
<i>L. alimentarius</i> Z42A	+ (4 mm)	3,96
<i>L. acidipiscis</i> Z43A	-	3,50
Z44A	+ (7 mm)	3,92
<i>L. plantarum</i> Z44B	-	3,20
<i>L. acidipiscis</i> Z46A	-	3,62
<i>L. acidipiscis</i> Z47A	-	3,50
<i>L. plantarum</i> Z48A	-	3,62
<i>L. acidipiscis</i> Z49A	+ (8 mm)	3,24
<i>L. plantarum</i> Z53A	+ (8 mm)	5,14
<i>L. plantarum</i> Z55A	+ (6 mm)	4,35
<i>L. plantarum</i> Z56A	+ (2 mm)	4,26
<i>L. plantarum</i> Z59A	-	3,71
<i>L. plantarum</i> Z64A	-	2,76
<i>L. plantarum</i> Z64B	-	3,61
<i>L. plantarum</i> Z66A	-	3,99
<i>L. acidipiscis</i> Z70A	-	2,96

**EK 6 - Tablo 4.6.** Bakterilerin Pektolitik Aktivitelerinin Kalitatif ve Kantitatif Ölçümleri  
(devam)

<b>İzolat</b>	<b>Pektolitik Aktivite Kalitatif Ölçüm</b>	<b>Pektolitik Aktivite Kantitatif Ölçüm (U/ml)</b>
<i>L. acidipiscis</i> Z72A	-	4,14
<i>L. acidipiscis</i> Z73A	-	3,94
<i>L. plantarum</i> Z74A	-	4,04
<i>L. plantarum</i> Z75A	-	3,75
Z77A	-	4,01
<i>L. plantarum</i> Z78A	-	3,82
<i>L. plantarum</i> Z78B	-	2,96
<i>L. plantarum</i> Z80A	-	4,14
<i>L. plantarum</i> Z80B	-	3,43
<i>L. plantarum</i> Z80C	-	4,45
<i>L. plantarum</i> Z81A	-	3,54
<i>L. plantarum</i> Z81B	-	3,63
<i>L. plantarum</i> Z83A	-	4,15
<i>L. plantarum</i> Z83B	-	3,25
<i>L. plantarum</i> Z85A	-	3,11
<i>L. acidipiscis</i> Z85B	-	3,17
<i>L. plantarum</i> Z98A	-	4,35
<i>L. plantarum</i> Z98B	-	4,33
<i>L. plantarum</i> Z99A	-	3,60
<i>L. plantarum</i> Z100A	-	3,10

**EK 6 - Tablo 4.6.** Bakterilerin Pektolitik Aktivitelerinin Kalitatif ve Kantitatif Ölçümleri  
(devam)

<b>İzolat</b>	<b>Pektolitik Aktivite Kalitatif Ölçüm</b>	<b>Pektolitik Aktivite Kantitatif Ölçüm (U/ml)</b>
<i>L. plantarum</i> Z103A	-	3,43
<i>L. plantarum</i> Z107A	-	2,67
<i>L. plantarum</i> Z107B	-	3,39
<i>L. plantarum</i> Z107C	-	3,03
Z110A	-	4,43
<i>L. plantarum</i> Z111A	-	3,26
<i>L. acidipiscis</i> Z112A	-	3,33
<i>L. alimentarius</i> Z112B	-	2,99
<i>L. namurensis</i> Z112C	-	3,45
<i>L. acidipiscis</i> Z112D	-	3,49
<i>L. plantarum</i> Z114A	-	3,45
<i>L. plantarum</i> Z114B	-	3,42
<i>L. plantarum</i> Z115A	-	3,07
<i>L. acidipiscis</i> Z118A	-	3,01
<i>L. plantarum</i> Z120A	-	4,85
<i>L. plantarum</i> Z121A	-	3,42
<i>L. plantarum</i> Z126A	-	4,40
<i>L. acidipiscis</i> Z128A	-	3,95
<i>L. plantarum</i> Z134A	-	3,06
<i>L. plantarum</i> Z134B	-	3,98



**EK 6 - Tablo 4.6.** Bakterilerin Pektolitik Aktivitelerinin Kalitatif ve Kantitatif Ölçümleri  
(devam)

<b>İzolat</b>	<b>Pektolitik Aktivite Kalitatif Ölçüm</b>	<b>Pektolitik Aktivite Kantitatif Ölçüm (U/ml)</b>
<i>L. plantarum</i> Z135A	-	4,42
<i>E. faecium</i> Z137A	-	3,09
<i>E. faecium</i> Z3a	-	4,40
<i>L. farciminis</i> Z4a	-	4,36
<i>E. faecium</i> Z4b	-	4,63
<i>E. faecium</i> Z4c	-	4,82
<i>E. faecium</i> Z6a	-	3,00
<i>E. faecium</i> Z8a	-	4,57
<i>E. faecium</i> Z8b	-	4,79

**EK 7 - Tablo 4.7.** Bakterilerin Dekarboksilaz Aktivitelerinin Ölçümleri

<b>Tanı sonucu</b>	<b>Histidin</b>	<b>Lisin</b>	<b>Tirozin</b>
<i>L. acidipiscis</i> Z1B	-	-	-
<i>L. acidipiscis</i> Z1C	-	-	-
<i>L. acidipiscis</i> Z1D	-	-	-
<i>L. acidipiscis</i> Z2A	-	-	-
<i>L. acidipiscis</i> Z2B	-	-	-
<i>L. acidipiscis</i> Z2C	-	-	-
<i>L. acidipiscis</i> Z6A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z9A	-	-	+
<i>L. plantarum</i> Z13A	-	-	Hafif
<i>L. plantarum</i> Z17A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z20A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z23A	-	-	-
<i>L. acidipiscis</i> Z27A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z30A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z30B	-	-	-
<i>L. acidipiscis</i> Z30C	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z31A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z31B	-	-	+
<i>L. plantarum</i> Z32A	-	-	+

**EK 7 - Tablo 4.7.** Bakterilerin Dekarboksilaz Aktivitelerinin Ölçümleri (devam)

<b>Örnek kodu</b>	<b>Histidin</b>	<b>Lisin</b>	<b>Tirozin</b>
<i>L. plantarum</i> Z33A	-	-	-
Z36A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z39A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z41A	-	-	-
<i>L. alimentarius</i> Z42A	-	-	+
<i>L. acidipiscis</i> Z43A	-	-	-
Z44A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z44B	-	-	+
<i>L. acidipiscis</i> Z46A	-	-	+
<i>L. acidipiscis</i> Z47A	-	-	+
<i>L. plantarum</i> Z48A	-	-	+
<i>L. acidipiscis</i> Z49A	-	-	+
<i>L. plantarum</i> Z53A	-	-	+
<i>L. plantarum</i> Z55A	-	-	+
<i>L. plantarum</i> Z56A	-	-	+
<i>L. plantarum</i> Z59A	-	-	+
<i>L. plantarum</i> Z64A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z64B	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z66A	-	-	-
<i>L. acidipiscis</i> Z70A	-	-	-

**EK 7 - Tablo 4.7.** Bakterilerin Dekarboksilaz Aktivitelerinin Ölçümleri (devam)

<b>Tanı sonucu</b>	<b>Histidin</b>	<b>Lisin</b>	<b>Tirozin</b>
<i>L. acidipiscis</i> Z72A	-	-	-
<i>L. acidipiscis</i> Z73A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z74A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z75A	-	-	-
Z77A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z78A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z78B	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z80A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z80B	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z80C	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z81A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z81B	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z83A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z83B	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z85A	-	-	-
<i>L. acidipiscis</i> Z85B	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z98A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z98B	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z99A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z100A	-	-	-

**EK 7 - Tablo 4.7.** Bakterilerin Dekarboksilaz Aktivitelerinin Ölçümleri (devam)

<b>Tanı sonucu</b>	<b>Histidin</b>	<b>Lisin</b>	<b>Tirozin</b>
<i>L. plantarum</i> Z103A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z107A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z107B	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z107C	-	-	-
Z110A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z111A	-	-	-
<i>L. acidipiscis</i> Z112A	-	-	-
<i>L. alimentarius</i> Z112B	-	-	-
<i>L. namurensis</i> Z112C	-	-	-
<i>L. acidipiscis</i> Z112D	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z114A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z114B	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z115A	-	-	-
<i>L. acidipiscis</i> Z118A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z120A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z121A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z126A	-	-	-
<i>L. acidipiscis</i> Z128A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z134A	-	-	-
<i>L. plantarum</i> Z134B	-	-	-

**EK 7 - Tablo 4.7.** Bakterilerin Dekarboksilaz Aktivitelerinin Ölçümleri (devam)

<b>Tanı sonucu</b>	<b>Histidin</b>	<b>Lisin</b>	<b>Tirozin</b>
<i>L. plantarum</i> Z135A	-	-	-
<i>E. faecium</i> Z137A	-	-	-
<i>E. faecium</i> Z3a	-	-	-
<i>L. farciminis</i> Z4a	-	-	-
<i>E. faecium</i> Z4b	-	-	-
<i>E. faecium</i> Z4c	-	-	-
<i>E. faecium</i> Z6a	-	-	-
<i>E. faecium</i> Z8a	-	-	-
<i>E. faecium</i> Z8b	-	-	-

## EK 8- Çözeltilerin Hazırlanışı

### Kloroform - izoamil alkol

Kloroform	48 ml
İzoamil alkol	2 ml

Çözeltiler 24:1 oranında çeker ocak ortamında belirtilen oranlarda karıştırılarak hazırlanmıştır.

### 3M Sodyum Asetat

CH <sub>3</sub> COONa.3H <sub>2</sub> O ( Sodyum asetat trihidrat)	408,3 gr
dH <sub>2</sub> O	700 ml

Sodyum asetat trihidrat belirtilen miktarda tartılıp, 700 ml dH<sub>2</sub>O ile karıştırılıp, çözündürülür. Karışımın pH'si glasiyal asetik asit ile 5,2 olarak ayarlanır. Son hacim 1000 ml dH<sub>2</sub>O ile tamamlanıp, otoklavlanır.

### %70 Etanol

Etanol	70 ml
dH <sub>2</sub> O	30 ml

Belirtilen miktardaki etanol 30 ml dH<sub>2</sub>O ile 100 ml'ye tamamlanır.

### 0,5 M EDTA

Disodyum EDTA.2H <sub>2</sub> O	186,1 gr
dH <sub>2</sub> O	700 ml

Belirtilen miktarda disodyum EDTA.2H<sub>2</sub>O tartılarak, 700 ml dH<sub>2</sub>O ile çözündürülür, karıştırılmakta olan çözelti NaOH ilavesi ile pH:8,0'a ayarlanıp, son hacim dH<sub>2</sub>O ile 1000 ml'ye tamamlanır. Çözelti otoklavlanır.

### 1M Tris-Cl

Tris Base	121,1 gr
dH <sub>2</sub> O	700 ml

Belirtilen miktarda tris-base tartılıp, 700 ml dH<sub>2</sub>O ile çözündürülüp, konsantre HCl ile pH ayarlaması yapılır ve son hacim dH<sub>2</sub>O ile 1000 ml'ye tamamlanarak 1M Tris-Cl hazırlanır.

### **1x TE Buffer (pH: 8)**

0,5M EDTA (pH: 8,0)	0,2 ml
1M Tris-Cl	1 ml
dH <sub>2</sub> O	1000 ml

0,5 M EDTA ve 1M Tris-Cl çözeltilerinden belirtilen miktarlarda alınarak karıştırılıp, dH<sub>2</sub>O ile son hacim 1000 ml'ye tamamlanır.

### **50X TAE Stok Solüsyon**

Tris Base	242 gr
Glasiyal asetik asit	57,1 mL
0.5 M EDTA	100 mL
dH <sub>2</sub> O	1000 ml

Belirtilen miktarda tartılan tris base 600 ml dH<sub>2</sub>O ile çözündürülüp, daha sonra belirtilen miktarlarda alınan EDTA ve glasiyal asetik asit çözeltilere eklenir. Son hacim dH<sub>2</sub>O ile 1000 ml'ye tamamlanır.

### **1X TAE**

50X TAE stok solüsyon	40 ml
dH <sub>2</sub> O	2000 ml

Belirtilen miktarda alınan 50X TAE stok solüsyonu balon jöjeye konulup, hacim dH<sub>2</sub>O ile 2000 ml'ye tamamlanır.

### **%2 TAE-Agaroz**

Agaroz	7,5 gr
1X TAE	150 ml

Belirtilen miktarda tartılan agaroz üzerine 150 ml dH<sub>2</sub>O eklenip, mikrodalga fırında çözündürülüp, plaka üzerine döküldükten sonra yatay elektroforez tankına yerleştirilir.



### **0,1M Asetat Buffer (pH:6)**

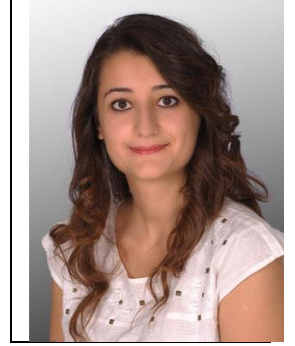
1M'lık asetat buffer çözeltilisinden 10 ml alınıp, dH<sub>2</sub>O ile 100 ml'ye tamamlanır, HCl veya NaOH ile pH:6'ya ayarlanır.



## ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Seda TAHTACI

Doğum Yeri ve Yılı : Isparta, 1990



### Eğitim Durumu

		<u>Yıl</u>
Lise	: Isparta Anadolu Lisesi	2008
Lisans	: Anadolu Üniversitesi Biyoloji Bölümü	2013

### Yayınları (SCI ve diğer makaleler)

- 1- Kıvanc, A.K., Tahtacı, S., Kıvanc, M., Inhibitory activity of lactic acid bacteria against *Streptococcus mutans* and its biofilm. V International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology - BioMicroWorld2013, Madrid (Spain), 2-4 October 2013. (Poster)
- 2- A.Kayahan Kıvanc, S. Tahtacı, M. Kıvanc, Inhibitory activity of lactic acid bacteria against *Streptococcus mutans* and its biofilm (Part 5). Industrial medical and environmental applications of microorganisms, sayfa 535-540. (2014).
- 3- Tahtacı, S., Başığit Kılıç, G., Halofilik Laktik Asit Bakterilerinin Gıda Sanayisinde Kullanım Alanları. İç Anadolu Bölgesi 2. Tarım ve Gıda Kongresi, Nevşehir, 28-30 Nisan 2015. (Sözlü Sunum)
- 4- Tahtacı, S., Başığit Kılıç, G., 2015. Halofilik Laktik Asit Bakterileri ve Gıda Sanayisinde Kullanım Alanları, *Gıda*, 40, (6), 349-356. doi: 10.15237/gida.GD15018 (2015).