



Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from sauerkraut

Miray Gizem Bingöl BAŞDOĞAN¹, İlkin Yücel ŞENGÜN^{*1}
ORCID: 0000-0002-3309-3843; 0000-0001-6940-2129

¹ Ege University, Engineering Faculty, Food Engineering Department, 35100 İzmir, Turkey

Abstract

The present study investigated the probiotic properties of lactic acid bacteria (LAB) isolated from traditionally produced sauerkraut. For this reason, total of thirty-nine isolates were obtained from sauerkraut produced at homes by traditional methods around İzmir city. Development of different pH, temperature and salt values, tolerance to bile salt, resistance to 0.4% (v/v) phenol, development in the presence of pepsin and pancreatin, antimicrobial activity, resistance to antibiotics, hemolytic activity and β -Galactosidase activity analyzes were applied to the isolates for determining probiotic properties. Within the scope of the study, except for four isolates (HL7, HL13, HL22 and HL31), which were found to be resistant to all antibiotics, all other isolates could be considered as probiotics. However, among these isolates, the probiotic potential of GL1, GL3, GL13, HL8, HL9, HL10, HL11, HL12, HL14, HL18, HL25, HL26, HL28, HL29, HL33 was found higher than other isolates when investigated in terms of growth at low pH and high NaCl concentration, growth in the presence of bile salt, phenol, pepsin and pancreatin, broad antimicrobial spectrum, high antimicrobial effect, sensitivity to antibiotics and β -galactosidase activity. The results showed that sauerkraut is an important probiotic source.

Keywords: sauerkraut, pickle, probiotics, lactic acid bacteria, fermented vegetables

----- * -----

Susuz lahana turşusundan izole edilen laktik asit bakterilerinin probiyotik potansiyeli

Özet

Bu çalışmada, geleneksel olarak üretilen susuz lahana turşusundan izole edilen laktik asit bakterilerinin (LAB) probiyotik özellikleri incelenmiştir. Bu amaçla, İzmir ili çevresinde geleneksel yöntemlerle üretilen susuz lahana turşusu örneklerinden toplam 39 adet LAB izole edilmiştir. İzolatlara probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla farklı pH, sıcaklık ve tuz değerlerinde gelişim, safra tuzuna tolerans, %0.4 (v/v) fenole dayanıklılık, pepsin ve pankreatin varlığında gelişim, antimikrobiyal aktivite, antibiyotiklere karşı direnç, hemolitik aktivite ve β -Galaktosidaz aktivitesi analizleri uygulanmıştır. Çalışma kapsamında, tüm antibiyotiklere karşı direnç gösterdiği tespit edilen 4 adet izolat dışında (HL7, HL13, HL22 ve HL31), diğer tüm izolatların probiyotik olarak değerlendirilebileceği, ancak bu izolatlar içerisinde GL1, GL3, GL13, HL8, HL9, HL10, HL11, HL12, HL14, HL18, HL25, HL26, HL28, HL29, HL33 kodlu izolatların probiyotik potansiyellerinin, diğer izolatlardan düşük pH ve yüksek NaCl konsantrasyonunda gelişim, safra tuzu, fenol, pepsin ve pankreatin varlığında gelişim, geniş antimikrobiyal spektrum, yüksek antimikrobiyal etki, antibiyotiklere karşı duyarlılık ve β -galaktosidaz aktivitesi açısından değerlendirildiğinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, susuz lahana turşusunun önemli bir probiyotik kaynağı olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: sauerkraut, turşu, probiyotik, laktik asit bakterisi, fermente sebze

1. Giriş

Probiyotikler “yeterli miktarda alındığı zaman kişinin sağlığı üzerinde olumlu etki gösteren canlı mikroorganizmalar” olarak tanımlanmaktadır [1]. Çoğunlukla laktik asit bakterilerinden (LAB) oluşan bu grupta diğer

* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +902323113028; Fax.: +902323114831; E-mail: ilkinyucel@yahoo.com

bazı bakteri ve mayalar da bulunabilmektedir. Probiyotiklere atfedilen birçok sağlık etkisi bulunmakta olup bunların çoğu doğrudan veya dolaylı olarak bağışıklık sisteminin aracılık ettiği gastrointestinal sistem ile ilişkilidir. Probiyotiklerin antikarsinojenik, antioksidatif, antienflamatuvar, antimikrobiyal, antiobezite ve antidiyabetik etkilerinin yanı sıra konağın metabolizma, solunum sistemi ve beyin fonksiyonları üzerine de olumlu etkiler gösterdiği bildirilmektedir [2, 3].

Probiyotik olarak kullanılacak bir mikroorganizmanın taşınması gereken bazı özellikler bulunmaktadır. Örneğin hücrelerin bağırsağa kadar canlı olarak ulaşabilmeleri için sindirim sisteminde bulunan stres faktörlerine karşı direnç göstermesi şarttır. Bu nedenle hücrenin lizozim, pepsin ve pankreatin başta olmak üzere, enzimlere dayanıklı olması ve midenin gastrik ortamından (pH 1.5-3.0) büyük ölçüde etkilenmemesi gerekmektedir. Probiyotik mikroorganizmaların en önemli seçim kriterlerinden biri olan enzimlere karşı dayanıklılık özelliği sayesinde hücreler mide asitliğinde canlı kalarak bağırsağa kadar ulaşabilmektedir [4]. Bununla birlikte probiyotiklerin en önemli özelliklerden bir diğeri de güvenlik kriterlerini karşılayabilmeleridir. Bu kapsamda probiyotik olarak kullanılacak mikroorganizmaların antibiyotik direnç geni bulundurmamaları ve hemolitik aktivite göstermemeleri gerekmektedir [5].

Turşu, tüm Dünya’da çeşitli formülasyonlarla üretilen ve tüketimi çok yaygın fermente bir üründür. Turşunun doğal florasını ağırlıklı olarak LAB’leri oluşturmaktadır. Ülkemizde geleneksel yöntemlerle farklı hammaddelerden üretilen turşuların doğal florasında yer alan probiyotik özellikteki mikroorganizmaların izolasyon ve tanımlanmasına yönelik bazı çalışmalar bulunmaktadır [6-10]. Farklı turşu çeşitleri içerisinde üretim açısından farklılık gösteren susuz lahana turşusunun (Alman tipi lahana turşusu, saurkraut) oldukça faydalı olduğu, fermentasyonda rol alan LAB’nin, ürettikleri biyoaktif peptit ve poliaminler sayesinde bağışıklık sistemi, kardiyovasküler sistem ve metabolizma sağlığı üzerine olumlu etkiler gösterdiği, fenolik bileşikler biyolojik olarak aktif metabolitlere dönüştürebildiği, toksin ve antibesinleri azalttığı, bununla birlikte fermantasyon ortamında kanser hastalarında DNA hasarını ve hücre mutasyon oranını azalttığı bilinen glukozinolatların, askorbigen ve askorbik asit gibi bileşiklerin yüksek oranda bulunduğu bildirilmektedir [11-13]. Yapılan bazı çalışmalar, susuz lahana turşusunun probiyotikler açısından zengin bir kaynak olduğunu belirtmektedir [14-16]. Ancak bu çalışmalarda saurkraut kaynaklı izolatlara uygulanan testlerin, probiyotik özelliklerin belirlenmesi anlamında yetersiz kaldığı görülmektedir.

Bu çalışmada; susuz lahana turşusundan izole edilen LAB’nin probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda örneklerden izole edilen LAB izolatlarının probiyotik özellikleri farklı testlerle (farklı pH değerlerinde gelişme, farklı sıcaklıklarda gelişme, farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme, safra tuzlarına tolerans, fenole dayanıklılık, pepsin ve pankreatin varlığında gelişme, antimikrobiyal aktivite, antibiyotiklere karşı direnç, hemolitik aktivite, enzim aktivitesinin belirlenmesi) belirlenmiştir.

2. Materyal ve yöntem

Geleneksel yöntemlerle İzmir ili çevresinde evlerde üretilen ve fermantasyon aşamasını tamamlayan susuz lahana turşusu örnekleri laboratuvara getirildikten sonra en hızlı şekilde analize alınmıştır.

2.1. Laktik asit bakterilerinin izolasyonu

LAB sayımı amacıyla, 25 g örnek 225 mL %0.1’lik peptonlu suya (PW, pH 6.3±0.2, Oxoid Ltd. Basignstoke, Hampshire, England, L37) aktarılmış ve stomacher’da (Stomacher Lab-Blender 400, Seward Medical, London, UK) homojenize edildikten sonra desimal dilüsyonlar hazırlanmıştır. Uygun dilüsyonlardan Man-Rogosa and Sharp Agar’a (MRS, pH 6.2±0.2, Oxoid-CM361) dökme plak yöntemine göre çift tabaka paralel ekimler yapılmış, petripler 30°C’de 3-5 gün inkübe edilmiştir [17]. Petriplerde gelişen koloniler, saflık kontrolü amacıyla önce MRS Broth tüplerine (30°C’de 48 saat), ardından yatık MRS Agar besiyerine ekim yapılarak 30°C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Gram boyama talimatları doğrultusunda hazırlanan ve boyanan preparatlar mikroskop altında incelenmiştir [18]. Gram pozitif ve katalaz negatif özellik gösteren izolatlar potansiyel LAB olarak kabul edilmiş ve bu izolatlar %30 gliserol, %70 besiyeri içeren eppendorf tüplerine 1/1 oranında ilave edilerek -18°C’de muhafaza edilmiştir.

2.2. Laktik asit bakterisi izolatlarının probiyotik özelliklerinin belirlenmesi

2.2.1. Farklı pH değerlerinde gelişimin belirlenmesi

Taze kültürlerden pH değeri 2, 3 ve 4’e ayarlanan MRS Broth besiyerlerine öze ile ekim yapılmış ve tüpler 30°C’de 7 gün inkübe edilmiştir. Tüplerde bulanıklık oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir [19, 20].

2.2.2. Farklı sıcaklıklarda gelişimin belirlenmesi

İzolatlar MRS Broth besiyerlerine öze ile inoküle edilmiş ve ekim yapılan tüpler 10, 25 ve 45°C olmak üzere üç farklı sıcaklıkta inkübe edilmiştir. Gelişme varlığı bulanıklık oluşumu ile değerlendirilmiştir [21].

2.2.3. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimin belirlenmesi

Geliştirilen taze kültürlerden %1.5 ve %10 NaCl içeren MRS besiyerine ekim yapılmış ve tüplerdeki bulanıklık pozitif olarak değerlendirilmiştir [22].

2.2.4. Safra tuzlarına toleransın belirlenmesi

Taze kültürler, %0.3 ve %1'lik konsantrasyonda iki ayrı safra tuzu (Oxgall) içeren MRS sıvı besiyerlerine inoküle edilmiş ve ekim yapılan tüpler 30°C'de 4 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun başında ve 4 saatlik inkübasyon sonunda safra tuzu içeren besiyerlerinin uygun dilüsyonlarından yayma plak yöntemine göre ekim yapılmış ve petripler 30°C'de 48 saat inkübe edildikten sonra canlı hücre sayısı belirlenmiştir.

Canlı hücre sayısı= $N_i/N_x \times 100$ formülüyle hesaplanmıştır.

(N_i = log kob/mL 4 saatlik inkübasyon sonrası, N_x = log kob/mL başlangıç) [23].

2.2.5. %0.4 (v/v) fenol'e dayanıklılık

Geliştirilmiş taze kültürler, %0.4 fenol içeren MRS sıvı besiyerine inoküle edildikten hemen sonra ve 24 saat'lik inkübasyon sonrasında, MRS Agar petriplerine yayma plak yöntemine göre ekilmiş ve petripler 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra canlı hücre sayımları yapılmıştır [9].

2.2.6. Pepsin ve pankreatin varlığında gelişimin belirlenmesi

Pepsin varlığında gelişimin belirlenmesi amacıyla geliştirilmiş taze kültürler, içerisinde %1 oranında FTS (%0.85 NaCl, 3 mg/mL pepsin, pH 2.5) çözeltisi bulunan ortama inoküle edilmiş ve tüpler 30°C'de 4 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon öncesi ve sonrası yayma plak yöntemine göre petrilere ekim yapılmış ve 30°C'de 48 saat inkübasyon sonrası yapılan sayımlarla kültürlerin canlılık düzeyleri belirlenmiştir [8, 23].

İzolatların pankreatin varlığında canlılıklarını belirlemek üzere %1 oranında FTS (%0.85 NaCl, %0.3 safra tuzu, 1 mg/mL pankreatin, pH 8) çözeltisi içeren ortama taze kültür inokulasyonu yapılmış ve tüpler 30°C'de 6 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon öncesi ve sonrası yayma plak yöntemine göre petrilere ekim yapılmış ve 30°C'de 48 saat inkübasyon sonrası yapılan sayımlarla kültürlerin canlılık düzeyleri belirlenmiştir [8, 23].

2.2.7. Antimikrobiyal aktivite

İzolatların antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi amacıyla disk difüzyon yönteminden yararlanılmıştır [24]. Çalışmada test kültürü olarak *Listeria monocytogenes* ATCC 13932, *Staphylococcus aureus* 6538P, *Escherichia coli* ATCC 43888, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43895, *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311 ve *Bacillus cereus* No 8 kullanılmıştır. Gliserol stok olarak muhafaza edilen test kültürlerinin aktivasyonu amacıyla kültürler öncelikle Tryptic Soy Broth (TSB, pH 7.3±0.2, Oxoid) besiyerine transfer edilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bu işlem iki kez tekrarlandıktan sonra elde edilen taze kültürler Plate Count Agar (PCA, pH 7.0±0.2, Oxoid) besiyerine yayılmıştır. Diskler taze LAB izolatları ile muamele edilerek test kültürlerinin yayıldığı petriye yerleştirilmiştir. 30°C'de 48 saat inkübe edilen petriplerde zon oluşumu kayıt altına alınmıştır.

2.2.8. Antibiyotiklere karşı direncin belirlenmesi

İzolatların antibiyotiklere karşı direncini belirlemek üzere disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. İzolatların kloramfenikol (KL, 30µg, Oxoid), ampicilin (A, 10µg, Oxoid), eritromisin (E, 15µg, Oxoid), gentamisin (G, 10µg, Oxoid) ve kanamisin (K, 30µg, Oxoid) antibiyotiklerine karşı direnci test edilmiştir. Geliştirilen taze kültürler MRS Agar besiyerlerine yayılmış ve ardından antibiyotik diskleri besiyeri üzerine yerleştirilmiştir. 30°C'de 48 saat inkübasyon sonrası petriplerde oluşan zonların çapları ölçülmüştür [25]. Sonuçlar NCCLS (the National Committee for Clinical Laboratory Standards) M2-A9 kriterlerine göre değerlendirilmiştir.

2.2.9. Hemolitik aktivite

Bakteri izolatlarının hemolitik aktivitesini belirlemek üzere kültürler MRS Broth tüplerinde geliştirilmiş ve Columbia agar+5% sheep blood (Biomérieux) besiyerine çizme plak yöntemine göre ekim yapılmış, ardından petripler 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda koloni etrafında herhangi bir zon oluşturmayanlar non-hemolitik (Gama hemolitik) olarak değerlendirilirken, şeffaf zon ve yeşilimsi bölge oluşturanlar sırasıyla Beta ve Alfa hemolitik olarak değerlendirilmiştir [10].

2.2.10. β -Galaktosidaz aktivitesi

Laktozlu MRS Broth besiyerinde geliştirilen kültürden bir öze dolusu alınmış ve 0.25 mL fizyolojik suda süspanse edilmiştir. Süspanسیونun üzerine 0.25 mL o-nitrofenil-d-galaktopronosid (ONPG) peptonlu besiyeri ilave edilerek optimum sıcaklıkta (30°C'de) 3-4 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda tüplerde sarı rengin meydana gelmesi pozitif, renk değişikliğinin olmaması ise negatif olarak değerlendirilmiştir [21].

3. Bulgular

3.1. Laktik asit bakterilerinin izolasyonu

MRS Agar'da yapılan ekim sonucunda petride gelişen koloni sayısının ($8.25 \times 10^5 \pm 0.43$ kob/g ve $8.14 \times 10^5 \pm 0.35$ kob/g) karakökü kadar koloni tanımlama amacıyla seçilmiştir. Seçilen koloniler ilk aşamada saflık kontrolünün yapılması amacıyla tek koloni düşürme tekniği kullanılarak çizme plak yöntemine göre MRS agar üzerine çizilmiştir. Burada tek düşen kolonilere Gram boyama ve katalaz testi uygulanmış, Gram pozitif ve katalaz negatif olan izolatlar potansiyel LAB izolatı olarak stoğa alınmıştır. G ve H kodlu örneklerden sırasıyla 9 ve 30 izolat olmak üzere alınan toplam 39 izolat, potansiyel LAB'si olarak değerlendirilmiştir.

3.2. İzolatların probiyotik özelliklerinin belirlenmesi

Çalışma kapsamında elde edilen toplam 39 izolatın probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla izolatlar farklı pH, sıcaklık ve tuz değerlerinde gelişim, safra tuzuna tolerans, antimikrobiyal aktivite, %0.4 (v/v) fenol'e dayanıklılık, pepsin ve pankreatin varlığında gelişim, antibiyotiklere karşı direnç, hemolitik aktivite ve β -Galaktosidaz aktivitesi testleri uygulanmıştır.

3.2.1. Farklı pH değerlerinde gelişim

Ortamın pH değeri mikroorganizma gelişimini önemli derecede etkileyen faktörlerdendir. Probiyotikler, özellikle mide asitliği gibi düşük pH değerlerinde canlılığını sürdürebilen mikroorganizmalardır. Bu nedenle çalışma kapsamında izolatların farklı pH değerlerinde gelişimi test edilmiştir. İzolatlar pH değeri 2, 3 ve 4 olarak ayarlanan MRS sıvı besiyerlerine ekilmiş ve inokülasyon sonunda tüplerde bulanıklık oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir (Tablo 1). 96 saatlik inkübasyon sonunda toplam 39 izolattan 10 adedi pH 3 değerinde, 30 adedi pH 4 değerinde gelişim göstermiştir. Benzer şekilde G-Allegria ve arkadaşları [20] tarafından yürütülen çalışmada, turşudan izole edilen *L. plantarum*'un pH 3.2, 3.3 ve 3.6'de gelişme gösterdiği, Boricha ve arkadaşları [26] tarafından yapılan çalışmada ise turşudan izole edilen *Lactobacillus* suşlarının pH 3 değerinde 6.2-7.7 log kob/mL seviyesinde gelişim gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada, Hindistan'ın geleneksel turşusundan 15 adet LAB izole edilmiş ve izolatların pH 3.5, 6.5 ve 8.5 değerlerinde gelişimi test edilmiştir. Çalışma sonucunda tüm izolatların pH 6.5 ve 8.5 değerlerinde gelişim gösterdiği, bununla birlikte sadece 7 izolatın pH 3.5'de gelişebildiği belirlenmiştir [10].

3.2.2. Farklı sıcaklıklarda gelişim

LAB'lerinin farklı sıcaklıklarda gelişebilme özellikleri, fermentasyon ve depolama koşullarında canlılıklarını etkileyen bir faktör olarak değerlendirilmektedir. 10, 25 ve 45°C olmak üzere üç farklı sıcaklıkta gelişim özellikleri incelenen izolatlardan sadece 4 adedi 10°C'de gelişim gösterirken, çoğunluğu 25°C'de canlılığını sürdürmüş, bununla birlikte hiçbir izolat 45°C'de gelişim göstermemiştir (Tablo 1). Şimşek [27] tarafından yapılan çalışmada, turşudan izole edilen 3 adet *L. plantarum* izolatının da 15°C'de gelişebildiği, sadece 1 adedinin ise 45°C'de gelişim gösterebildiği belirlenmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada, Hindistan'a özgü geleneksel turşudan izole edilen 15 adet LAB 15°C, 30°C ve 45°C'de canlılığı test edilmiş, tüm izolatların 15°C ve 30°C'de gelişim gösterdiği, ancak sadece 7 izolatın 45°C'de canlılığını sürdürdüğü tespit edilmiştir [10].

3.2.3. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim

Tuz toleransı, LAB tarafından fermentasyonunun hızla başlamasına ve böylece asit üretimine olanak sağlamakta, ayrıca tuza tolerans göstermeyen rekabetçi flora üzerinde de baskılayıcı etki göstermektedir. *Leuconostoc* cinsi, yüksek tuz konsantrasyonunu iyi tolere edebildiğinden çoğunlukla laktik asit fermentasyonunun başlatıcısı olarak kabul edilmektedir [8].

Çalışma kapsamında elde edilen izolatların farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimi %1.5 ve %10 NaCl içeren besiyerlerinde incelenmiştir. Analiz sonuçları, 96 saatlik inkübasyon sonucunda tüm izolatların %1.5 NaCl içeren besiyerinde canlılığını sürdürdüğünü, %10 NaCl içeren besiyerinde ise 16 adet izolatın canlılığını sürdürebildiğini ortaya koymuştur (Tablo 1). Özellikle turşu tipi fermente ürünlerin eldesinde yüksek oranda tuz kullanılıyor olması, bu tip fermentasyonlarda rol alacak kültürlerin tuza dayanımını gerektirmektedir. Bu açıdan değerlendirildiğinde, incelenen izolatların %39'unun %10NaCl'e tolerans göstermesi önemli bir avantaj olarak değerlendirilmiştir. Monika ve arkadaşları [10] tarafından yapılan bir çalışmada ise turşudan izole edilen 15 adet LAB'nin %1.5, %2.5, %5, %6.5, %8.5 ve %10 NaCl varlığında gelişimi test edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, tüm izolatların çeşitli derecelerde %1.5 ve %2.5 NaCl içeren besiyerlerinde gelişim gösterdiğini, %5 NaCl içeren besiyerinde 10 izolatın, %6.5 NaCl içeren besiyerinde 9 izolatın ve %8.5 NaCl içeren besiyerinde 3 izolatın gelişim gösterdiğini, ancak %10 NaCl içeren besiyerinde hiçbir izolatın gelişemediğini ortaya koymuştur.

Tablo 1. İzolatların farklı ortam koşullarında gelişimi

İzolat kodu	pH						Sıcaklık (°C)						Tuz (%)			
	48 saat			96 saat			48 saat			96 saat			48 saat		96 saat	
	2	3	4	2	3	4	10	25	45	10	25	45	1.5	10	1.5	10
GL1	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+
GL3	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-
GL4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
GL6	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-
GL7	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-
GL9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
GL11	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-
GL12	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-
GL13	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-
HL1	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-
HL2	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+
HL3	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-
HL4	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-
HL6	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-
HL7	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+
HL8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
HL9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
HL10	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
HL11	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
HL12	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
HL13	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
HL14	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
HL15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
HL16	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
HL17	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
HL18	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
HL21	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-
HL22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
HL23	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+
HL24	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-
HL25	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+
HL26	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+
HL27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
HL28	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+
HL29	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+
HL30	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-
HL31	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+
HL32	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+
HL33	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-

3.2.4. Safra tuzlarına tolerans

Safra asidi, safra kesesinde oniki parmak bağırsağından konjuge formda salgılanan canlıdaki kolesterolden üretilmektedir. LAB, safra asitleri toksisitesine karşı koruma sağlayan çeşitli derecelerde safra tuzu hidroliz (BSH) aktivitesine sahiptirler. Konjuge formdaki safra asitleri hücreye girmekte, protonlanmakta ve dekonjuge forma dönüşmektedir. Bu işlem, BSH pozitif aktiviteye sahip organizmalarda daha aktif olarak gerçekleşmektedir [26].

Bu çalışma kapsamında elde edilen izolatların safra tuzlarına toleransının belirlenmesinde %0.3 ve %1 oranlarında safra tuzu varlığı esas alınmıştır. Analiz sonuçları, mevcut izolatların tamamının her iki konsantrasyona da tolerans gösterdiğini, bununla birlikte %0.3 safra tuzu içeren besiyerinde gelişimin daha hızlı olduğunu ortaya koymuştur (Tablo 2). Ragul ve arkadaşları [28] yaptığı çalışmada, salamura turşudan izole ettikleri LAB'nin %0.5 ve %1'lik safra tuzu varlığındaki gelişimini izlemişlerdir. Tüm izolatların canlı kalma oranı % 0.5 safra tuzunda daha yüksek olmuştur. %1 safra tuzu içeren besiyerinde, %0.5 safra tuzu içeren besiyerine kıyasla yaklaşık 1 log kob/mL daha az canlılık saptanmıştır. Rao ve arkadaşlarının [29] Çinde yaptığı çalışmada ise geleneksel olarak üretilen turşuda iki farklı LAB izole edilmiş ve izolatların %0.1, % 0.3 ve %_0.5 safra tuzu varlığında gelişimleri incelenmiştir. Gastrointestinal koşullar olarak bilinen %0.1 ve %0.3 safra tuzu varlığında izolatların canlılığını sürdürdüğü, ancak, *L. plantarum* AT4'ün %0.5 safra tuzunda canlılığını sürdürürken *L. plantarum* AT282'in %0.5 safra tuzu varlığında gelişimini sürdürse de sayısının azaldığı tespit edilmiştir.

Tablo 2. İzolatların zorlu ortam koşullarında canlılıkları

İzolat kodu	Safra Tuzu (%)		Fenol (%) 0.4%	Pepsin (%)	Pankreatin (%)
	0.3%	1.0%			
GL1	>100	>100	-	99	-
GL3	>100	93	-	>100	>100
GL4	-	-	-	>100	-
GL6	>100	88	-	95	79
GL7	>100	95	-	>100	-
GL9	-	-	-	>100	-
GL11	>100	99	-	-	-
GL12	>100	>100	89	-	-
GL13	>100	99	92	-	-
HL1	>100	-	-	-	>100
HL2	>100	>100	-	84	-
HL3	>100	94	-	94	-
HL4	-	-	81	93	98
HL6	-	-	-	-	-
HL7	>100	>100	75	95	97
HL8	-	-	83	>100	-
HL9	>100	>100	88	89	96
HL10	>100	>100	-	>100	-
HL11	>100	>100	98	>100	-
HL12	>100	-	91	>100	>100
HL13	>100	>100	93	98	>100
HL14	>100	>100	-	62	77
HL15	-	-	-	>100	>100
HL16	-	-	-	-	93
HL17	>100	>100	-	>100	>100
HL18	>100	>100	83	>100	>100
HL21	>100	94	-	>100	89
HL22	-	-	-	-	99
HL23	>100	99	-	-	-
HL24	>100	96	-	>100	96
HL25	>100	98	-	-	>100
HL26	>100	>100	-	>100	90
HL27	-	-	>100	99	-
HL28	>100	99	-	>100	-
HL29	-	-	-	80	>100
HL30	>100	>100	-	81	-
HL31	>100	98	-	89	>100
HL32	>100	99	-	-	94
HL33	>100	>100	-	87	85

3.2.5. % 0.4 (v/v) fenol'e dayanıklılık

Fenoller, beslenme yoluyla alınan veya vücut tarafından üretilen proteinlerden kaynaklanan amino asitlerin, sindirim sisteminde bazı bakteriler tarafından deaminasyonu sonucu oluşabilmektedir. Oluşan bu fenolik bileşenlerin özellikle *Lactobacillus* türleri üzerine inhibe edici etkisi olabileceği belirtilmektedir [30].

Çalışma kapsamında elde edilen izolatların fenole dayanıklılıklarını belirlemek üzere kültürler, içerisinde %0.4 (v/v) oranında fenol bulunan besiyerine inoküle edilmiş, başlangıçta (0. saat) ve 4 saat bekletme sonrasında MRS Agar besiyerine yayma plak yöntemine göre ekim yapılmış ve sonuçlar log kob/mL olarak verilmiştir (Tablo 2). Analiz sonuçları, toplam 11 izolatın 4. saat sonunda canlılığını sürdürdüğünü ortaya koymuştur. Zielińska ve arkadaşları [9] tarafından yapılan çalışmada, lahana ve salatalık turşusundan elde edilen izolatların fenole dayanıklılıkları incelenmiş, %0.4 fenol varlığında *L. johnsonii* K4, *L. casei* O16, *L. casei* O18, *L. rhamnosus* K3 ve *L. plantarum* K1 izolatlarının, diğer izolatlara oranla daha iyi gelişim gösterdiği belirlenmiştir. Boricha ve arkadaşları [26] tarafından yapılan çalışmada, turşu orijinli izolatların fenol dayanıklılık testi uygulanmış, çalışma kapsamında elde edilen *Lactobacillus* izolatlarının %0.6 fenol içeren besiyerinde 6.2-7.7 log kob/mL seviyesinde gelişim gösterdiği tespit edilmiştir.

3.2.6. Pepsin ve pankreatin varlığında gelişim

Probiyotik olarak kullanılacak bir mikroorganizmanın sindirim sisteminden geçişi sırasında canlı kalabilmesi gerekmektedir. Pepsin ve pankreatin sindirim sisteminin önemli enzimleridir. Sindirim sisteminin ağız, mide, ince bağırsak bölümlerinde probiyotik mikroorganizmaların canlılığını incelemek üzere geliştirilen *in vitro* sindirim modellerinde pepsin ve pankreatin varlığında gelişim önemli katkı sağlamaktadır.

Tablo 3. İzolatların antimikrobiyal aktiviteleri

İzolat kodu	Antimikrobiyal Aktivite (mm)					
	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. Typhimurium</i>	<i>B. cereus</i>
GL1	-	8	13	-	8	-
GL3	-	-	8	-	-	-
GL4	-	8	10	-	-	-
GL6	-	-	8	-	-	8
GL7	-	-	-	-	-	-
GL9	-	-	-	-	-	-
GL11	-	7	-	-	-	-
GL12	-	7	-	-	-	-
GL13	-	8	10	8	-	-
HL1	-	-	-	8	-	-
HL2	-	-	-	-	-	-
HL3	-	-	-	7	-	-
HL4	-	8	10	8	-	-
HL6	-	-	7	-	-	-
HL7	-	-	7	-	-	-
HL8	-	9	10	8	8	-
HL9	-	9	10	8	8	-
HL10	-	8	10	8	-	-
HL11	-	9	8	7	-	-
HL12	-	8	10	-	-	-
HL13	-	-	-	-	-	-
HL14	-	-	-	-	-	-
HL15	-	-	-	-	-	-
HL16	-	-	-	-	-	-
HL17	-	-	-	-	-	-
HL18	-	8	-	-	-	-
HL21	-	8	7	-	-	-
HL22	-	-	9	-	-	-
HL23	-	-	8	-	-	-
HL24	-	-	-	-	-	-
HL25	-	-	15	-	-	-
HL26	-	-	8	-	-	-
HL27	-	9	8	-	-	-
HL28	-	-	-	-	-	-
HL29	-	-	8	7	-	-
HL30	-	-	-	7	-	-
HL31	-	-	-	-	-	-
HL32	-	-	-	-	-	-
HL33	-	-	-	-	-	-

Disk çapı 6 mm.

Bu çalışmada farklı turşu örneklerinden elde edilen izolatların pepsin ve pankreatin varlığında gelişimini belirlemek üzere, pepsin ve pankreatin içeren besiyerlerine ekim yapılmış, pepsin için 4 saat, pankreatin için 6 saat bekletme sonunda sayım almak üzere MRS Agar petrilere ekimler gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları, 4 saat sonunda 30 izolatın pepsin varlığında gelişimini sürdürdüğünü ortaya koymuştur (Tablo 2). Başlangıç sayısı 6.30 log kob/mL olan HL28 izolatının sayısı 4 saatlik pepsin varlığında 7.22 log kob/mL seviyesine ulaşmış ve %14.6'lık artış ile en fazla gelişim gösteren izolat olmuştur. Bununla birlikte pepsin varlığında gelişim gösterse de sayısında en fazla azalma gözlenen izolatın HL29 (%19.8 azalma) olduğu tespit edilmiştir.

İzolatların 23'ünün pankreatin varlığında 6 saat sonunda canlılığını sürdürdüğü belirlenmiştir (Tablo 2). GL3 ve HL12 izolatları pankreatin varlığında en fazla gelişen izolatlar olarak belirlenmiştir. Tokatlı [8] tarafından yapılan

çalışmada, çeşitli turşulardan izole edilen LAB'nin pepsin varlığında canlılıkları incelenmiş, toplam 21 izolattan 17'sinin 4 saatlik inkübasyon sonucunda sayılarının 6 logaritmik birimin üzerinde olduğu, 4 suşun ise canlılıklarını tamamen kaybettiği belirlenmiştir. Bununla birlikte sadece 12 izolatın pankreatin varlığında gelişim gösterdiği, ancak bu izolatların sayılarında önemli ölçüde düşüş meydana geldiği tespit edilmiştir.

3.2.7. Antimikrobiyal aktivite

Farklı turşu örneklerinden elde edilen izolatların antimikrobiyal aktivitesini belirlemek üzere disk difüzyon yönteminden yararlanılmıştır. Toplam 39 izolatın 26'sı değişen zon çaplarında antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Tablo 3). Zon çapları *S. aureus* 6538P için 7 ile 9 mm, *E. coli* O157: H7 ATCC 43895 için 7 ile 8 mm, *E. coli* ATCC 43888 için 7 ile 15 mm, *S. Typhimurium* ATCC 13311 için 7 ile 8 mm arasında değişim göstermiştir. *B. cereus* üzerine sadece bir izolat (GL6) antimikrobiyal etki göstermiştir. Bununla birlikte incelenen izolatlar arasında *L. monocytogenes* üzerinde antimikrobiyal aktivite gösteren bir izolata rastlanmamıştır. İncelenen izolatlar içerisinde geniş antimikrobiyal spektrumuna sahip izolatların GL1, GL13, HL4, HL8, HL9, HL10 ve HL11 olduğu, en yüksek antimikrobiyal etkinin ise *E. coli*'ye karşı GL1 (13mm) ve HL25 (15 mm) ile sağlandığı tespit edilmiştir. Ayrıca toplam 13 izolatın test kültürlerinden hiçbiri üzene antimikrobiyal etki göstermediği belirlenmiştir (Tablo 3). Cizekiene ve arkadaşları [31] tarafından yapılan çalışmada da benzer şekilde fermente gıdalardan izole edilip antimikrobiyal özellikleri incelenen LAB izolatlarının *L. monocytogenes* üzerinde antimikrobiyal etki göstermediği belirlenmiştir. Sharaf ve arkadaşlarının [32] yaptığı çalışmada ise anne sütü, farklı hayvanların sütü (eşek, inek, deve) ve turşudan toplamda 71 LAB izole edilmiş, bu izolatlardan 40'min *S. aureus*, *E. coli* ve *Candida albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

3.2.8. Antibiyotiklere karşı direnç

Fermente ve probiyotik gıdaların üretiminde kullanılan LAB'nin genellikle güvenli mikroorganizmalar oldukları düşünülse de antibiyotik direnç geni bulundurmaları durumunda, bu genleri patojenlere veya florada bulunan diğer bakterilere aktarma ihtimalleri önemli bir tehdittir.

Çalışmada elde edilen izolatların ampisilin (A), eritromisin (E), kanamisin (K), kloramfenikol (KL) ve gentamisin (G) antibiyotiklerine karşı direnci disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir (Tablo 4). Mevcut izolatların %17.9'unun eritromisine, %17.9'unun kloramfenikole, %48.7'sinin ampisiline, %84.6'sının gentamisine ve tamamının kanamisine karşı direnç gösterdiği tespit edilmiştir. 4 adet izolatın (HL7, HL13, HL22 ve HL31) test edilen tüm antibiyotiklere karşı direnç gösterdiği ve bu nedenle probiyotik olarak değerlendirilemeyeceği belirlenmiştir. Bunun dışında incelenen izolatlardan 2'sinin (GL13 ve HL29) ampisilin, eritromisin, kloramfenikol ve gentamisine karşı, 16'sının ise ampisilin, eritromisin ve kloramfenikole karşı duyarlılık gösterdiği saptanmıştır (Tablo 4).

Farklı probiyotik ürünlerden elde edilen izolatların antibiyotik dirençlerinin incelendiği bir çalışmada [33] benzer şekilde izolatlarda yüksek kanamisin direnci saptanmıştır. Touret ve arkadaşları [16] tarafından yapılan çalışmada da benzer şekilde sauerkraut orijinli *Lactobacillus* türlerinin aminoglikosit grubunda yer alan gentamisin, kanamisin ve streptomisine karşı direnç gösterdiği, bununla birlikte *Lactobacillus* türlerinin aminoglikositlere karşı doğal dirençli olduğu ve aminoglikosit direncinin transmisyonunun ihmal edilebilir olduğu bildirilmektedir. Bu durumda çalışma kapsamında incelenen izolatlardan çoğunun kanamisin (%100) ve gentamisine (%84.6) karşı dirençli bulunması, bu izolatların probiyotik olarak değerlendirilmelerine engel teşkil etmemektedir.

3.2.9. Hemolitik Aktivite

Bir probiyotik suşun güvenlik ön şartı olarak hemolitik aktiviteye sahip olmaması gerekmektedir. Bu nedenle çalışma kapsamında mevcut izolatların hemolitik aktiviteleri incelenmiş ve hiçbir izolatın hemolitik aktivite göstermediği (γ hemolitik) tespit edilmiştir. Monika ve arkadaşlarının [10] yaptığı çalışmada Hindistan'da üretilen geleneksel turşudan 15 adet LAB izole edilmiş ve izolatların hemolitik aktiviteleri incelenmiştir. Bizim sonuçlarımıza benzer şekilde, LAB izolatlarının hiçbiri Columbia koyun kanlı agar üzerinde α ve β hemolitik aktivite göstermemiştir. Maragkoudakis ve arkadaşlarının [34] süttten izole ettiği *L. paracasei* subsp *paracasei*, *Lactobacillus* spp. ve *L. casei* türleri için de benzer gözlemler yapılmış ve tüm izolatların γ hemolitik aktivite gösterdiği bildirilmiştir.

3.2.10. β -Galaktosidaz Aktivitesi

Laktöz intoleransı, temel olarak laktozu glikoz ve galaktoza hidrolize eden β -galaktosidaz enziminin eksikliğinden kaynaklanmaktadır [35]. Bununla birlikte probiyotik suşların, laktozu metabolize ederek özellikle laktoz intoleransı olan konakçılar için büyük fayda sağladıkları bilinmektedir. Bu nedenle β -galaktosidaz üreticisi probiyotik suşlar ile fermente edilmiş gıda ürünleri laktoz intoleransı tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır. Çalışma kapsamında analize alınan izolatlardan 4 saatlik inkübasyon sonucunda sadece 1 izolat (HL14) β -galaktosidaz aktivitesi göstermiştir. Boricha ve arkadaşlarının [26] yaptığı çalışmada, turşudan izole edilen tüm izolatlar arasında *L. pentosus* CHIG suşunun yüksek β -galaktosidaz aktivitesi gösterdiği, ancak, *L. rhamnosus* V2M ve GG suşlarının, MRS ortamında ana karbon kaynağı olarak laktozu kullanmasından dolayı, çok düşük β -galaktosidaz aktivitesi gösterdiği bildirilmiştir. Monika ve arkadaşlarının [10] yaptığı çalışmada, Hindistan'ın geleneksel turşusundan elde edilen 15 LAB

izolatından 12'sinin çeşitli derecelerde (0.01–0.07 U/mg) β -galaktosidaz aktivitesi gösterdiği, tüm izolatlar arasında en yüksek β -galaktosidaz aktivitesi gösteren izolatın ise *P. pentosaceus* PKL-17 (0.07 U/mg) olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4. İzolatların antibiyotiklere karşı direnci (mm)

İzolat Kodu	Antibiyotik					
	A	E	K	KL	G	
GL1	S	S	R	R	I	
GL3	S	S	R	S	R	
GL4	S	S	R	S	R	
GL6	S	S	R	R	R	
GL7	S	S	R	S	R	
GL9	S	S	R	S	R	
GL11	R	S	R	S	R	
GL12	R	S	R	S	S	
GL13	S	S	R	S	S	
HL1	R	I	R	S	S	
HL2	R	S	R	S	R	
HL3	R	S	R	S	R	
HL4	R	S	R	S	R	
HL6	R	I	R	S	R	
HL7	R	R	R	R	R	
HL8	S	I	R	S	R	
HL9	S	I	R	S	R	
HL10	S	I	R	S	R	
HL11	R	I	R	R	R	
HL12	R	R	R	S	R	
HL13	R	R	R	R	R	
HL14	S	I	R	S	R	
HL15	S	S	R	S	R	
HL16	R	S	R	S	R	
HL17	R	I	R	I	R	
HL18	S	I	R	S	R	
HL21	S	S	R	S	R	
HL22	R	R	R	R	R	
HL23	S	R	R	S	R	
HL24	R	R	R	S	R	
HL25	R	I	R	S	R	
HL26	S	I	R	S	R	
HL27	R	I	R	S	R	
HL28	S	S	R	S	R	
HL29	S	S	R	S	S	
HL30	S	I	R	S	R	
HL31	R	R	R	R	R	
HL32	R	S	R	S	S	
HL33	S	I	R	S	R	

A: Ampisilin, E: Eritromisin, K: Kanamisin, KL: Kloramfenikol, G: Gentamisin, R: Dirençli, I: Orta seviyede duyarlı, S: Duyarlı. Disk çapı 6 mm

4. Sonuçlar ve tartışma

Çalışma kapsamında susuz lahana turşusundan izole edilen toplam 39 adet LAB izolatının probiyotik potansiyelini belirlemek üzere farklı pH değerlerinde gelişme, farklı sıcaklıklarda gelişme, farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme, safra tuzlarına tolerans, fenole dayanıklılık, pepsin ve pankreatin varlığında gelişme, antimikrobiyal aktivite, antibiyotiklere karşı direnç, hemolitik aktivite ve β -Galaktosidaz aktivitesinin belirlenmesine yönelik analizler uygulanmıştır.

İzolatların zorlu ortam koşullarında gelişimi değerlendirildiğinde, incelenen izolatlardan 16 adinin %10 NaCl varlığında gelişim gösterdiği, bu izolatlar içerinden 10 adinin pH 3 değerinde (GL1, HL2, HL7, HL10, HL11, HL12, HL13, HL14, HL16, HL29), diğer 6 izolatın ise (HL23, HL25, HL26, HL28, HL31, HL32) pH 4 değerinde gelişebildiği tespit edilmiştir.

Safra tuzu, fenol, pepsin ve pankreatin varlığında izolatların gelişim özellikleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde, toplam 5 adet izolatın (HL7, HL9, HL12, HL13, HL18), tüm koşullarda yüksek seviyede gelişim gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca toplamda 11 izolatın (GL12, GL13, HL4, HL7, HL8, HL9, HL11, HL12, HL13, HL18, HL17) fenol (%0.4) varlığında gelişim gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak GL3, GL6, HL14, HL24, HL26, HL31 ve HL33 kodlu

izolatların, fenole karşı direnç gösterememesine karşın, safra tuzu, pepsin ve pankreatin varlığında gelişim gösterdikleri tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen izolatlar antimikrobiyal etki açısından değerlendirildiğinde, GL1, GL13, HL4, HL8, HL9, HL10 ve HL11 kodlu izolatların geniş antimikrobiyal spektrumuna sahip oldukları, en yüksek antimikrobiyal etkinin *E. coli*'ye karşı GL1 (13mm) ve HL25 (15 mm) ile sağlandığı tespit edilmiştir. Toplam 13 izolatın (GL7, GL9, HL2, HL13, HL14, HL15, HL16, HL17, HL24, HL28, HL31, HL32, HL33) ise test kültürlerinden hiçbiri üzene antimikrobiyal etki göstermediği belirlenmiştir.

Güvenlik açısından yapılan değerlendirmeler kapsamında izolatlar hemolitik aktivite ve antibiyotiklere direnç açısından incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, izolatların hemolitik aktiviteye sahip olmadığını göstermiştir. Bununla birlikte incelenen izolatlardan 2'sinin (GL13 ve HL29) ampisilin, eritromisin, kloramfenikol ve gentamisine karşı, 16'sının ise (GL3, GL4, GL7, GL9, GL13, HL8, HL9, HL10, HL14, HL15, HL18, HL21, HL26, HL28, HL29, HL33) ampisilin, eritromisin ve kloramfenikole karşı duyarlılık gösterdiği saptanmıştır.

Çalışma kapsamında analize alınan izolatlardan sadece birinin (HL14) β -galaktosidaz aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde; test edilen tüm antibiyotiklere karşı direnç gösterdiği tespit edilen 4 adet izolat dışında (HL7, HL13, HL22 ve HL31), diğer tüm izolatların probiyotik olarak değerlendirilebileceği, bu izolatlar içerisinde GL1 (zorlu ortam koşullarında gelişim (pH 3 ve %10 NaCl varlığında), geniş antimikrobiyal spektrum, *E. coli*'ye karşı yüksek antimikrobiyal etki), GL3 (safra tuzu, pepsin ve pankreatin varlığında gelişim, 3 antibiyotiğe karşı duyarlılık), GL13 (fenol varlığında gelişim, geniş antimikrobiyal spektrumu, 4 antibiyotiğe karşı duyarlılık), HL8 (fenol varlığında gelişim, geniş antimikrobiyal spektrum, 3 antibiyotiğe karşı duyarlılık), HL9 (safra tuzu, fenol, pepsin ve pankreatin varlığında gelişim, geniş antimikrobiyal spektrum, 3 antibiyotiğe karşı duyarlılık), HL10 (geniş antimikrobiyal spektrum, 3 antibiyotiğe karşı duyarlılık), HL11 (zorlu ortam koşullarında gelişim (pH 3 ve %10 NaCl varlığında), fenol varlığında gelişim, geniş antimikrobiyal spektrum), HL12 (zorlu ortam koşullarında gelişim (pH 3 ve %10 NaCl varlığında), safra tuzu, fenol, pepsin ve pankreatin varlığında gelişim), HL14 (zorlu ortam koşullarında gelişim (pH 3 ve %10 NaCl varlığında), safra tuzu, pepsin ve pankreatin varlığında gelişim, β -galaktosidaz aktivitesi), HL18 (safra tuzu, fenol, pepsin ve pankreatin varlığında gelişim, 3 antibiyotiğe karşı duyarlılık), HL25 (*E. coli*'ye karşı yüksek antimikrobiyal etki, 3 antibiyotiğe karşı duyarlılık), HL26 (zorlu ortam koşullarında gelişim (pH 4 ve %10 NaCl varlığında), 3 antibiyotiğe karşı duyarlılık), HL28 (zorlu ortam koşullarında gelişim (pH 4 ve %10 NaCl varlığında), 3 antibiyotiğe karşı duyarlılık), HL29 (zorlu ortam koşullarında gelişim, 4 antibiyotiğe karşı duyarlılık), HL33 (safra tuzu, pepsin ve pankreatin varlığında gelişim, 3 antibiyotiğe karşı duyarlılık) kodlu izolatların probiyotik potansiyellerinin, diğer izolatlarla kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, teknolojik ve biyogüvenlik özelliklerinin yanı sıra gösterdiği antimikrobiyal özellikler sayesinde probiyotik potansiyeli yüksek olan toplam 15 izolat tespit edilmiştir. İleriki çalışmalar kapsamında, probiyotik özellikleri belirlenen bu izolatların moleküler olarak tanımlanması planlanmaktadır. Ayrıca mevcut izolatların detaylı probiyotik özelliklerini ortaya koymak adına ileri *in vitro* ve *in vivo* analizlerin de yapılması gerekmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma, Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından desteklenmiştir (Proje Kodu: FYL-2018-20141).

Kaynaklar

- [1] FAO/WHO. (2001). Evaluation of health and nutritional properties of powder milk and live lactic acid bacteria, Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Expert Consultation Report. www.fao.org/documents/pub_dett.asp?lang=en&pub_id=61756 (Erişim tarihi 2 Mart 2019).
- [2] Kandyliş, P., Pissaridi, K., Bekatorou, A., Kanellaki, M., & Koutinas, A. A. (2016). Dairy and non-dairy probiotic beverages. *Curr. Opin. Food Sci.*, 7, 58-63. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.11.012>
- [3] Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott S.L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., ... & Reid, G. (2017). Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 4(8), 491-502. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>
- [4] Şengün, İ. Y. (2011). Lactic acid bacteria used in the production of fermented foods. *Biological Diversity and Conservation*, 4(1), 42-53.
- [5] Başdoğan, M. G. (2020). *Geleneksel olarak üretilen turşulardan izole edilen laktik asit bakterilerinin probiyotik potansiyelinin belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye). Alman yer Ulusal Tez Merkezi.

- [6] Wang, C. Y., Lin, P. R., Ng, C. C., & Shyu, Y. T. (2010). Probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from the feces of breast-fed infants and Taiwanese pickled cabbage. *Anaerobe*, 16(6), 578–585. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2010.10.003>
- [7] Bhanwar, S., Singh, A., & Ganguli, A. (2014). Probiotic characterization of potential hydrolases producing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* isolated from pickled yam. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 65(1), 53–61. <https://doi.org/10.3109/09637486.2013.832175>
- [8] Tokatlı, M., Gülgör, G., Bağder Elmacı, S., Arslankoz İşleyen, N., & Özçelik, F. (2015). *In vitro* properties of potential probiotic indigenous lactic acid bacteria originating from traditional pickles. *BioMed Res. Int.*, 315819. <https://doi.org/10.1155/2015/315819>
- [9] Zielińska, D., Rzepkowska, A., Radawska, A., & Zieliński, K. (2015). *In vitro* screening of selected probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from traditional fermented cabbage and cucumber. *Current Microbiol.*, 70(2), 183–194. <https://doi.org/10.1007/s00284-014-0699-0>
- [10] Monika, S., Kumar, V., Kumari, A., Angmo, K., & Bhalla, T. C. (2017). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from traditional pickles of Himachal Pradesh, India. *J. Food Sci. Technol.*, 54(7), 1945–1952. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2629-1>
- [11] Špička, J., Kalač, P., Bover-Cid, S., & Křížek, M. (2002). Application of lactic acid bacteria starter cultures for decreasing the biogenic amine levels in sauerkraut. *Eur. Food Res. Technol.*, 215(6), 509–514. <https://doi.org/10.1007/s00217-002-0590-2>
- [12] Mattila, P., & Hellström, J. (2007). Phenolic acids in potatoes, vegetables and some of their products. *J. Food Compost. Anal.*, 20(3-4), 152–160. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.05.007>
- [13] Maden, B. (2020). *Alman tipi lahana turşusu fermantasyonu sırasında bazı insektisitlerin değişiminin incelenmesi*. (Yüksek Lisans tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye). Alman yer <https://acikerisim.uludag.edu.tr/handle/11452/15279>.
- [14] Beganović, J., Kos, B., Pavunc, A. L., Uroić, K., Jokić, M., & Šušković, J. (2014). Traditionally produced sauerkraut as source of autochthonous functional starter cultures. *Microbiol. Res.*, 169(7-8), 623–632. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.015>
- [15] Orgeron II, R. P., Corbin, A., & Scott, B. (2016). Sauerkraut: A Probiotic Superfood. *Funct. Foods Health Dis.*, 6(8), 536–543. <https://doi.org/10.31989/ffhd.v6i8.262>
- [16] Touret, T., Oliveira, M., & Semedo-Lemsaddek, T. (2018.) Putative probiotic lactic acid bacteria isolated from sauerkraut fermentations. *PLoS one*, 13(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203501>
- [17] Bulut, Ç. (2003). *Isolation and molecular characterization of lactic acid bacteria from cheese*. (Master dissertations, University of İzmir Institute of Technology). Alman yer <https://gcris.iyte.edu.tr/handle/11147/3114>
- [18] Rohde, R. (1976). Laboratory methods in food and dairy microbiology. In W.F Harrigan & M.E. McCance (Eds.), *Journal of basic microbiology* (Revised ed., pp 19-20). London: Academic Press.
- [19] Papamanoli, E., Tzanestakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E., & Kotzekidou, P. (2003). Characterisation of lactic acid bacteria isolated from a greek dry- sausages in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Sci.*, 65, 859–867. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00292-9](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00292-9)
- [20] G-Allegria, E., Lopez, I., Ruiz, I. J., Saenz, J., Fernandez, E., Zarazaga, M., & Ruiz-Larrea, F. (2004). High tolerance of wild *Lactobacillus plantarum* and *Oenococcus oeni* strains to lyophilisation and stress environmental conditions of acid pH and ethanol. *FEMS Microbiol. Lett.*, 230, 53–61. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00854-1](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00854-1)
- [21] Hébert, E. M., Raya, R. R., Tailliez, P., & De Giori, G. S. (2000). Characterization of natural Isolates of *Lactobacillus* strains to be used as starter cultures in dairy fermentation. *Int. J. Food Microbiol.*, 59, 19–27. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00282-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00282-8)
- [22] Adnan, A. F. M., & Tan, I. K. (2007). Isolation of lactic acid bacteria from Malaysian foods and assessment of the isolates for industrial potential. *Bioresour. Technol.*, 98, 1380–1385. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.05.034>
- [23] Musikasang, H., Tani, A., H-kittikun, A., & Maneerat, S. (2009). Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from chicken gastrointestinal digestive tract. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 25, 1337–1345. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0020-8>
- [24] Wootton, M. (2013). BSAC methods for antimicrobial susceptibility testing. *The British Society for Antimicrobial Chemotherapy*, 44, 1–87.

- [25] Tambekar, D. H., & Bhutada, S.A. (2010). An evaluation of probiotic potential of lactobacillus sp. from milk of domestic animals and commercial available probiotic preparations in prevention of enteric bacterial infections. *Recent Res. Sci. Technol.*, 2, 82-88.
- [26] Boricha, A. A., Shekh, S. L., Pithva, S. P., Ambalam, P. S., & Vyas, B. R. M. (2019). In vitro evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus* species of food and human origin. *LWT-Food Sci. Technol.*, 106, 201-208. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.021>
- [27] Şimşek, Ö. (2003). *Uşak ve yöresi ekşi hamurlarından izole edilen antimikrobiyal aktiviteye sahip laktik asit bakterilerinin tanımlanması ve bazı metabolik özelliklerinin belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Denizli, Türkiye). Alınan yer <http://acikerisim.pau.edu.tr/handle>
- [28] Ragul, K., Syiem, I., Sundar, K., & Shetty, P. H. (2017). Characterization of probiotic potential of *Bacillus* species isolated from a traditional brine pickle. *J. Food Sci. Technol.*, 54(13), 4483. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2928-6>
- [29] Rao, Y., Tao, Y., Li, Y., She, X., Yang, J., Qian Y., ... & Xia, H. (2019). Characterization of a probiotic starter culture with anti-Candida activity for Chinese pickle fermentation. *Food Funct.*, 10, 6936. <https://doi.org/10.1039/C9FO01191A>
- [30] Xanthopoulos, V., Litopoulou-Tzanetaki, E., & Tzanetaki, N. (2000). Characterization of *Lactobacillus* isolates from infant faeces as dietary adjuncts. *Food Microbiol.*, 17, 205-215. <https://doi.org/10.1006/fmic.1999.0300>
- [31] Cizeikiene, D., Juodeikiene, G., Paskevicius, A., & Bartkiene, E. (2013). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against pathogenic and spoilage microorganism isolated from food and their control in wheat bread, *Food Control*, 31(2), 539–545. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.12.004>
- [32] Sharaf, E. F. & Al Harbi, R. M. (2011). Isolation, identification and antimicrobial activity of some local isolates of lactic acid bacteria. *Res. J. Microbiol.*, 6(12), 826-838.
- [33] Ashraf, R., & Shah, N. P. (2011). Antibiotic resistance of probiotic organisms and safety of probiotic dairy products. *Int. Food Res. J.*, 18(3), 837-853.
- [34] Maragkoudakis, P. A., Zoumpoulou, G., Miaris, C., Kalantzopoulos. G., Pot, B., & Tsakalidou, E. (2006). Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *Int. Dairy J.*, 16, 189–199. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.02.009>
- [35] Harrington, L. K., & Mayberry, J. F. (2008). A re- appraisal of lactose intolerance. *Int. J. Clin. Pract.*, 62(10), 1541-1546. <https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2008.01834.x>