

## MİKROORGANİZMALARA ETKİ EDEN BAŞLICA STRES FAKTÖRLERİ

Şehriban Uğuz\*, Seval Andıç

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Van

Geliş tarihi / *Received*: 11.04.2016

Düzeltilerek Geliş tarihi / *Received in revised form*: 03.05.2016

Kabul tarihi / *Accepted*: 07.05.2016

### Özet

Mikroorganizmalar buldukları çevresel koşullar içerisinde ısı, oksijen, asit, safra tuzu ve ozmotik stres gibi çeşitli stres faktörlerine maruz kalmaktadır. Mikroorganizmalar, stres ile karşılaştıklarında canlı kalabilir ve/veya gelişmek için çeşitli fizyolojik adaptasyonlar geçirerek ortam koşullarına adapte olabilirler. Stres yanıt sistemi, mikroorganizmanın çeşidine, uygulanan stresin şiddetine ve mikroorganizmanın bu strese adapte edilip edilmediğine göre değişmektedir. Mikroorganizmaların olumsuz koşullara adaptasyonu, saprofitlerin ve gıda kaynaklı patojenlerin inaktivasyonunda bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır. Gıda güvenliği ve ürünlerin raf ömrü süresi düşünülünce patojenlerin bu özelliklerinin göz ardı edilmemesi gerekmektedir. Probiyotik mikroorganizmalarda olduğu gibi yüksek canlılık oranının istendiği ve patojen mikroorganizmaların ortamdaki elimine edilmesinin söz konusu olduğu durumlarda adaptasyon veya tolerans geliştirme üzerinde önemle durulması gereken bir konudur. Bu derleme çalışmasında; ısı, ışık, ozmotik stres ve oksidatif stres gibi başlıca stres faktörlerinin mikroorganizmalar üzerine etkisi, mikroorganizmaların bu stres koşullarındaki adaptasyon durumları ve adaptasyon geliştirme mekanizmaları incelenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Stres, adaptasyon, ısı şok proteini (HSP), soğuk şok proteini (CSP), asit tolerans yanıtı (ATR), reaktif oksijen türleri (ROS).

## FUNDAMENTAL STRESS FACTORS AFFECTING THE MICROORGANISMS

### Abstract

Microorganisms are exposed to various stress factors such as heat, oxygen, acid, bile salts and osmotic stress in the environment. Microorganisms may survive and/or get adapted to the environmental conditions by the physiological adaptations when they come across to such stress factors. Stress response system varies according to the type of microorganisms, stress intensity applied to microorganisms and whether they can be adapted to this stress. The adaptation of microorganism to the negative conditions poses a problem for inactivation of saprophytes and foodborne pathogens. Considering food safety and shelf life of products, it is required not to ignore these characteristics of pathogens. As in probiotic microorganisms, when high vitality ratio is required and when it comes to eliminating pathogen microorganisms from the environment, focus should be on adaptation or tolerance development. In this review, the main stress factors such as heat, acid, osmotic and oxidative stresses on microorganisms, adaptation conditions of microorganisms under these stress conditions and mechanisms of adaptation are discussed in the light of the relevant literature.

**Keywords:** Stress, adaptation, heat shock protein (HSP), cold shock protein (CSP), acid tolerance response (ATR), reactive oxygen species (ROS).

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ sehribanuguz@hotmail.com,

☎ (+90) 432 225 1701,

☎ (+90) 432 225 1730

## GİRİŞ

Gelişmeleri için gerekli olan optimum çevre koşullarındaki herhangi bir ekstrem değişiklik mikroorganizmalar üzerinde stres yaratmakta ve mikroorganizmalar doğal gelişme ortamlarında bu tür stres yaratan koşullara maruz kalabilmektedirler (1-3). Stres genel olarak, biyolojik bir sistemin normal fonksiyonunu bozan ya da sistemin uygunluğunu azaltan bir durum olarak tanımlanır. Stres faktörleri, iç (genetik stres ve yaşlanma) ve dış (çevresel) kaynaklı olmak üzere ikiye ayrılır (4). Mikroorganizmaların stres ile karşılaşmalarında canlı kalabilmeleri ve/veya gelişim gösterebilmeleri, fizyolojik adaptasyon ve aklimasyon (alıştırma) mekanizmalarına sahip olmaları ile mümkündür (2). Stres şiddetinin büyüklüğü; organizmanın ölüm ve çoğalma oranlarındaki artış ve azalışlar ile lag süresi uzunluğunu belirlemektedir (3). Subletal stres seviyelerinden zayıf stres (*mild*), mikroorganizmanın yaşama yeteneğini kaybettirmez fakat çoğalma hızını azaltır veya durdurur. Orta düzeyde stres (*ılımlı-moderate*), sadece mikrobiyel gelişimi durdurmak ile kalmayıp bazı hücrelerin yaşama yeteneğinin kaybolmasına neden olur. Aşırı stres (*extreme-severe*) ise hücreler için genellikle letal etki göstererek popülasyonun büyük bir çoğunluğunda ölüme neden olur (1, 5, 6). Mikroorganizmaların çoğu, çevresel parametrelerdeki küçük değişimleri tolere edebilmekte ve bu değişimlere dakikalar, saatler veya günler içinde adapte olabilmektedirler (7). Mikroorganizmaların giderek farklılaşan çevre koşullarına uyum sağlayabilmek için gösterdikleri yeteneğe adaptasyon adı verilir. Adaptasyon bir defada olmamakla birlikte küçük küçük değişikliklerin zaman içinde meydana gelmesi ile oluşur. Stres etkenleri sonucunda mikroorganizmalar yaşamlarını yitirebildikleri gibi adaptasyon mekanizmalarını aktif hale getirerek canlı kalabilir ve/veya başarılı bir şekilde çoğalabilirler. Mikroorganizmalar, karşılaşmaları stresin/streslerin şiddetine göre farklı yanıtlar verirler (1, 2, 6). Bu yanıt sistemi, mikroorganizmaların aynı (spesifik adaptif yanıt) ya da farklı (çoklu adaptif yanıt-çapraz koruma) tipteki streslere karşı tolerans yanıtını artırır. Bu durum, adaptif yanıt ya da tolerans olarak tanımlanır (8-10). Adaptif yanıtın ana mekanizması; algı mekanizmaları, düzenleyici proteinlerin işleyişi (örneğin; RpoS) gibi hücre koruma sistemlerinin karakterizasyonu, homeostatik uyarılması ve sistemin onarılması, şok proteinlerinin sentezi ve hücre zarının modifikasyonudur. Bakteriyel stres tolerans yanıtı, hem hücredeki yapısal hem de hücredeki fizyolojik değişiklikleri kapsamakta ve aynı zamanda genetik düzenleyici mekanizma gibi de görev yapmaktadır (10-12). Stres yanıt sistemleri patojenik organizmaların virülansında önemli bir rol oynayabilmektedir (13, 14). Kendilerini çevreleyen stres faktörlerine karşı olan direnç ve yanıtlar, bakteriyel patojenlerin değişen ortamlarda hayatta kalması veya gelişmesi için önemlidir. Bu amaçla, hücreler kendilerini stres faktörlerine karşı korumak ya da hasarlarını

onarmak için çeşitli gelişmiş yapılara (ağlar) sahiptirler (10, 12, 14, 15). Bazı mikroorganizmaların ise çeşitli streslere direnç göstererek canlılıklarını koruması istenmektedir. Probiyotik bakteriler endüstriyel uygulamalar sırasında ve tüketim sonrası sindirim sisteminde çeşitli stresler (düşük ve yüksek sıcaklık, asit, safra tuzu stresi gibi) ile karşılaşmakta ve canlılıklarını yitirebilmektedir. Çeşitli streslere adapte edilen suşların kullanımı ile bu sorunun önüne geçilebileceği düşünülmektedir (16).

Mikroorganizmaların stres yanıt sistemleri çeşitli stresler tarafından aktive edilerek birçok strese karşı koruma sağlamaktadır. Bu makalede, mikroorganizmalara etki eden başlıca stres faktörlerinden ısı stresi, asit stresi, ozmotik stres ve oksidatif strese değinilmiştir.

### ISI STRESİ

Mikroorganizmalar, geniş bir sıcaklık aralığında gelişme gösterebilirler de optimum gelişme sıcaklıkları nispeten daha dar bir aralıktadır (17, 18). Mikroorganizmalar değişimlere yanıt vermek ve uyum sağlamak için sahip oldukları hücresel mekanizmalar ile stres faktörlerine hızlı fizyolojik adaptasyonlar göstererek ılımlı (orta) sıcaklık değişimlerini tolere edebilirler (19). Isı stresi, ısı şok proteinlerinin (heat shock proteins-HSPs) sentezlenmesine neden olan yüksek sıcaklık stresi ve soğuk şok proteinlerinin (cold shock proteins-CSPs) sentezlenmesine neden olan düşük sıcaklık stresi (soğuk stresi) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (20).

### Yüksek Sıcaklık Stresi ve Isı Şok Proteinleri (HSPs)

Stres faktörlerine maruz kalan birçok biyolojik yapı strese karşı belirli yanıtlar ve bazı maddeler oluşturur. Bu maddelerin başında ise stres proteinleri olarak da adlandırılan ısı şok proteinleri (Hsps) gelir (21, 22). Isı şok proteinleri, hem prokaryotik hem de ökaryotik hücrelerde mevcuttur (23). Hsp'lerin boyutları 27 ile 110 kDa arasında değişir. Hsp'ler boyut ve işlevlerine bağlı olarak 5 grup altında incelenir. Bunlar; Hsp 100, Hsp 90, Hsp 70, Hsp 60 ve küçük (26-28 kDa) ısı şok proteinleridir (21, 24). Bunların yüksek ölçüde korunmuş bir yapıda olması, hücresel süreçlerde birincil derecede önemli bir rol oynadığını gösterir (23). Isı şok proteinlerinin çoğu, hem iç hem de dış çevre koşulları ile başa çıkabilmek için organizmalara yardımcı olan moleküler şaperonlar gibi işlev görmektedir (4). Hücrede sentezlenen proteinlerin doğru bir şekilde katlanmasına yardımcı olan maddelere "moleküler şaperonlar" adı verilir. Şaperonlar, tüm canlı organizmalarda bulunan ve protein sentezi esnasında ya da sentezden hemen sonra proteinlerin işlevsel 3 boyutlu yapılarını almalarını sağlayan yapılardır. Bir hücre içindeki protein katlanma dinamiğini etkileyen stres koşulları, proteinlerin katlanmasındaki bileşenlerin ekspresyonunda değişikliklere neden olabilir (25, 26). Hsp'lerin çoğu ısı nedeniyle stres altında bulunan hücrelerin hayatta kalmasından, zarar

görmüş proteinlerin kümeleşmeden kalmasından ve tekrar fonksiyonel yapılarına dönmesinden, kümeleşmiş proteinlerin açılmasından ve zarar görmüş proteinlerin onarılarak tekrar katlanmasından, fonksiyonel olmayan ama zararlı olabilecek peptitlerin ortadan kaldırılmasından ve proteinlerin membran boyunca translokasyonundan (yer değiştirmesinden) sorumludur (4, 18, 21, 24). Chiang ve Chou (27), 47°C'de letal strese maruz bırakılan *Vibrio parahaemolyticus*'un farklı gelişim fazlarındaki duyarlılığını ve ısı şok yanıtının kültür üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Yapılan çalışmada log fazın ortasındaki *V. parahaemolyticus* hücreleri çevre stresine karşı en duyarlı hücreler olmuştur. Durağan fazdaki letal strese duyarlılık ise en az olmuştur. Hücrelere ısı şoku adaptasyonu uygulandıktan sonra hücrelere letal stres uygulanmış ve *V. parahaemolyticus*'un direncinde bir artma görülmüştür. *V. parahaemolyticus*'un adapte edilen hücreleri ile kontrol hücreleri arasındaki direnç farklılığının büyüme fazına bağlı olarak değiştiği bulunmuştur. Tüm hücreler karşılaştırıldığında ise durağan fazdaki adapte edilmiş hücrelerin ısı şokuna duyarlılığı en az olmuştur (27). Fonksiyonel *Lactobacillus plantarum* suşlarının gıdalardaki stres koşullarına karşı dayanıklılığının araştırıldığı başka bir çalışmada, fonksiyonel özellikleri olan üç *L. plantarum* suşunun (Lp 790, Lp 813 ve Lp 998) ısı stresi, ozmotik ve oksidatif stres faktörlerine karşı hayatta kalmaları incelenmiştir. Üç suşa 55°C'de 15 dk süre ile ısı stresi uygulanmıştır. Isı stresi sonrasında Lp 790 suşunun canlılığındaki azalma 5 logaritmik birim (log) olurken diğer iki suş için azalma 3 log olmuştur. Bu sonuca göre Lp 790 suşu sıcaklık faktörüne en duyarlı suştur. Diğer iki suş ise üç stres faktörüne karşı genel olarak aynı davranışı göstermiş ve sıcaklık stresi sonrasındaki canlılıklarında çok az bir azalma olmuştur. Farklı stres faktörleri, suşların canlılığını ve/veya performansını önemli ölçüde etkileyebileceğinden bu sonuçlar muhtemel "probiyotik" kültürlerin seçiminde hücrelerin teknolojik dirençlerinin de dikkate alınması gerektiğini göstermektedir (28). Yang ve arkadaşları *Cronobacter sakazakii* ile yaptıkları çalışmada Baranyi ve Roberts modelini kullanarak lag fazı süresi, iki katına çıkma süresi ve maksimum spesifik gelişme hızlarını belirlemiştir. Isı ve asit stresine adapte edilen hücrelerin lag fazı süresi ve maksimum spesifik gelişme hızı strese maruz kalmayan hücrelere göre fazla olmuştur. Hücrelerin iki katına çıkma süresi ise strese maruz kalmayan hücrelerine göre daha az olmuştur (29).

### **Düşük Sıcaklık (Soğuk) Stresi ve Soğuk Şok Proteinleri (CSPS)**

Son zamanlarda yapılan araştırmalar, çeşitli soğuk habitatlardan elde edilen yeni bakteri ve fungus cins ve türlerinin psikrofilik özellik gösterebileceğini ortaya koymuştur. Psikrofiller düşük sıcaklık ortamlarında başarıyla gelişebilmek için bir dizi karmaşık yapısal ve işlevsel adaptasyonlar

geçirmektedir (30). Bu adaptasyon sistemi; soğuk stresine maruz kalınması sonucunda oluşan çeşitli negatif etkilerin üstesinden gelinmesini sağlamaktadır (31). Düşük sıcaklıklar tarafından uyarılan stres yanıt sistemi bir grup geni uyarmakta ve hem ökaryotik hem de prokaryotik mikroorganizmalar için ortak olan soğuk şoku yanıtına neden olmaktadır (32-34). Soğuk yanıtı sistemi, soğuk şok proteinleri (Csp's) olarak adlandırılan proteinlerin geçici olarak uyarılması ile oluşmaktadır. Bu sistem araştırılırken mezofilik bir bakteri olan *Escherichia coli* yoğun bir şekilde incelenmiştir. Önemli bir soğuk şoku proteini olan CspA, ilk olarak *E. coli*'den elde edilmiş ve o zamandan beri homologları psikrotrofik, psikrofilik, mezofilik ve termofilik suşlarında dahil olduğu çeşitli Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerde tespit edilmiştir (35, 36). Hücreler düşük sıcaklığa maruz kaldığında yapılarında membran esnekliğinin kaybı, nükleik asitlerdeki ikincil yapıların stabilizasyonu, DNA'nın negatif süper sarmalındaki artış, ribozom işlevinin inhibasyonu, bazı proteinlerin açılması veya yanlış katlanması gibi çeşitli değişiklikler meydana gelmektedir (19, 31). Yapılan bir çalışmada mezofilik bir Gram pozitif bakteri olan *Enterococcus faecalis* JH2-2 üzerine soğuk şoku uygulanmış ve soğuk şok proteinleri incelenmiştir. *E. faecalis*'in 37°C'den 8°C'ye transferi, 11 adet Csp's'nin ekspresyonuna neden olmuştur (20). Başka bir çalışmada ise farklı soğutma sıcaklıkları ve sürelerinin *Lactobacillus acidophilus* RD758'in -20°C'de dondurulması ve donmuş olarak depolanmasındaki direncine olan etkisi CCRD (Merkezi Tümleşik Tasarım - Central Composite Rotatable Design) yöntemiyle incelenmiştir. Soğuk adaptasyonu, hücreler son sıcaklık olan 15°C'ye soğutulmadan önce ılımlı bir sıcaklık olan 26°C'de görülmüştür. Deneysel dizayn, optimal soğutma koşulunu 28°C olarak belirlemiştir. Aynı yöntem ile hücre zarındaki yağ asiti kompozisyonu incelenmiş doymamış yağ/doymuş yağ oranının ve C19:0 yağ asidi konsantrasyonunun arttığı ortaya konulmuştur. Bununla birlikte optimal soğutma koşullarında adaptif yanıt olarak 4 adet proteinin sentezlendiği bildirilmiştir (37). Tripathy ve ark., 2014 yılında yaptıkları bir araştırmada çeşitli çevresel streslere karşı canlı kalma ve adaptasyon mekanizmaları tam olarak anlaşılmayan *Brevibacillus borstel*'in soğuk şoku yanıtına adaptasyonunu genom düzeyinde incelemişlerdir. Organizmanın düşük sıcaklığa karşı olan moleküler yanıtını tanımlayabilmek için yüksek çıktılı dizileme (high-throughput sequencing/HTS) teknolojisi ile *B. borstel*'in 20°C'deki gen ekspresyonu profili ortaya konulmuştur. Maksimum uzunluğu 9919 baz çifti olan toplam 4579 transkript belirlenmiştir. Gen ekspresyonu profilinin çıkarılması, soğuk şoku sırasında önemli ölçüde artarak ya da azalarak hücreyi regüle eden 712 genin tespit edilmesini sağlamıştır (38). Başka bir çalışmada ise termofilik bir bakteri olan *Thermus aquaticus*'dan elde edilen soğuk şok proteinlerinin (Ta-Csp) yapısı

ve dayanıklılığı Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR) kullanılarak incelenmiştir. Ta-Csp'nin mezofilik ve psikrofiliklerden elde edilen Csp'ler ile karşılaştırıldığında Ta-Csp'nin daha dayanıklı olduğu bulunmuştur (39). Derman ve arkadaşları ise patojen bir bakteri olan *Clostridium botulinum* ATCC 3502 ile yaptıkları araştırmada doğal suş ile bu suşun 3 mutantının (Csp eklenmiş) NaCl, pH ve etanol stresi ve *C. botulinum* ATCC 3502 hareketliliği üzerine olan etkisini incelemişlerdir. İnceleme sonucunda 3 soğuk şok mutantından ikisinin NaCl, pH ve etanol stres yanıtları ve *C. botulinum* ATCC 3502 hareketliliği için önemli olduğu ortaya çıkmıştır (34).

### ASİT STRESİ

Her mikroorganizma gelişebilmesi için uygun bir pH aralığına ve iyi tanımlanmış optimum bir pH'ya sahiptir. Optimum gelişme pH'sı, sadece hücre dışındaki çevrenin pH değerini ifade eden bir kavramdır. Hücre içi pH değeri, asidik ve bazik koşullara dayanamayan makromoleküllerin hasar görmesini engellemek için nötrale yakın bir değerde kalmaktadır (33). Bakterilerin buldukları ortamın pH'sında meydana gelen değişiklikleri algılayarak belirli bir süre içinde ortama uyum sağlama yeteneğine, pH homeostasis mekanizması adı verilmektedir. Bu mekanizma, dış ortam pH'sında meydana gelen değişikliklere karşı sitoplazma pH'sının nötr değerlere yakın kalmasını sağlamaktadır. Ortam pH'sındaki 2-3 birimlik bir değişim sitoplazma pH'sında 0.1 birimden daha az bir değişikliğe neden olur (7, 40). Hücre içi pH dengesini bozan streslerin başında asit stresi gelmektedir. Asidik çevrelere karşı indüklenebilir tolerans, prokaryotik ve ökaryotik mikroorganizmaların çoğu için önemli bir hayatta kalma stratejisi olarak kabul edilmektedir. Bu olguyu anlamak için yapılan son çalışmalar; düzenleyici genlerin tanımlanmasını, asit tolerans yanıtını (ATR) ve toleransla ilgili genleri içermektedir (41). ATR, orta şiddette düşük pH'ya maruz kalmış olan bakterilerin çoğunda gözlemlenen ve oldukça düşük pH'larda hücrenin hayatta kalmasını sağlayan proteinlerin sentezinin tetiklendiği bir olgudur. ATR, log fazı ve durgunluk fazı hücrelerinde farklılık göstermektedir. Bu yanıt ayrıca farklı bakteri türleri arasında da önemli ölçüde farklılık göstermektedir (6). Bu nedenle mikroorganizmalardaki adaptif değişikliklerin belirlenmesi için asit direnci mekanizmasının iyi anlaşılması önemlidir (42).

Bakteriler pek çok yolla asit stresine yanıt vermektedir. Bunlar; membran bileşimindeki değişimler, proton akışındaki artış, aminoasit katabolizmasındaki artış ve DNA'yı onaran enzimlerin uyarılmasıdır (6, 43). Asit şoku veya adaptasyon proteinlerinin uyarılması için verilen sinyal, hücre içinde veya hücre dışında değişen pH'dan kaynaklanmaktadır. Dış ya da periplazmadaki pH değişimi, membrana bağlı olan proteinler tarafından algılanabilmektedir (41). Hücre içindeki pH değişimi ise gen ekspresyonunu doğrudan etkileyebilmekte veya gen ekspresyonu için gerekli

olan hücresel bir bileşeni değiştirebilmektedir (6). Son yıllarda en dikkat çeken konu patojen mikroorganizmaların sıcaklık, pH ve su aktivitesinin esas aralığında bir sınırın olmadığı keşfidir. Bazı patojen bakteriler orta düzeydeki asitli ortamlara belirli bir süre maruz kaldıklarında asit şok proteinleri sentezleyerek yüksek asitli ortamlardaki canlılıklarını sürdürebilirler (7, 40). Bu da bakterilerde asit direncine neden olmaktadır. *E. coli*, *Salmonella enterica* ve *Shigella flexneri* gibi suşlar düşük pH'ya karşı oldukça dirençlidirler ve memelilerin midesindeki asidik koşullarda (~pH=2.0) diğer patojenlere kıyasla daha uzun süre ile canlı kalabilmektedir. Bu mikroorganizmalar durağan bir fazda, pH=2.5 gibi bir değerde birkaç saat boyunca canlı kalabilirler (42). Gıda kaynaklı bakteriyel patojenler, gıda maddelerinde ya da gastrointestinal sistem ve konak hücrelerinde organik ve inorganik asitler ile karşılaşmaktadırlar (6). Organik asitler, bazı gıdaların yapısında doğal olarak bulunabileceği gibi bazılarında ise mikrobiyel fermantasyonun bir sonucu olarak da bulunabilmektedir. Gıdaların hazırlanması sırasında kullanılan organik asitler mikroorganizmaların hücre içi pH'sını, hidrojen iyonlarının hücre sitoplazmasına akışıyla, azalmaya zorlar. Bu nedenle metabolizmaya ilgili çeşitli fonksiyonlar durur ve mikrobiyel gelişim kontrol altına alınmış olur (7). Sagong ve ark., çalışmalarında laktik asit, malik asit, sitrik asit ve ultrasoundun patojen bakteriler üzerine etkilerini incelemiş ve en etkin inhibasyonun %2 organik asit + ultrasound kombinasyonunda olduğunu bildirmişlerdir (44). Lee ve ark., ise hıyar turşusuna benzer bir ortam yaratmak için %50 ve %94 konsantrasyonda hıyar püresi hazırlamış ve bu ürüne *E. coli* O157:H7 inoküle etmişlerdir. Çalışmalarında asetik asidin ve asetik asidin tuz ile birlikte kullanımının bu patojenin canlılığına olan etkisini, depolama süresince incelemişlerdir. Artan asetik asit miktarı *E. coli* O157:H7'nin canlılığında azalmaya neden olurken asidin %3 NaCl ile birlikte kullanımında ise asetik asidin tek başına gösterdiği etkiden daha az etki gösterdiği görülmüştür. Bu durumun nedenini ise asit ve tuzun birlikte kullanımının antagonistik etki göstermesi ile açıklamışlardır (45). Mikroorganizmaların olumsuz koşullara adaptasyonu, saprofitlerin ve gıda kaynaklı patojenlerin inaktivasyonunda bir sorun olarak ortaya çıkarken, gıda içerisinde uzun süre canlı kalmaları ve/veya sindirim sistemini canlı olarak geçmeleri istenilen probiyotiklerde ise bir avantaj haline gelebilmektedir. Saarela ve ark., 3'er adet *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* suşu kullanarak durgun faz hücrelerine subletal düzeyde stres uygulamış ve bu suşların letal stres sırasındaki canlılıklarını incelemişlerdir. Subletal stres sonucu suşlarda asit direnci gelişmiş ve tüm suşların canlılığında sadece 0.5 log azalma olmuştur. Letal strese karşı ise suşların verdiği tepkiler farklı olmuştur (46). *Lactobacillus*'lardaki çevresel stres yanıtları ağırlıklı olarak proteomik yaklaşımlar şeklinde ortaya

konulmuştur. Adaptasyonun proteomik düzeydeki etkisini incelemek için yeni bir probiyotik bakteri olan *L. casei* Zhang pH 2.5 ve pH 6.4'te 30 dk süre ile asit stresine maruz bırakılmıştır. Bu bakterinin hücrelerinden sitozolik proteinler (sitoplazma içindeki) ekstrakte edilmiş ve akabinde proteinlerin 2 boyutlu jel elektroforezi yapılarak iki adet protein haritası oluşturulmuştur. Kontrol grubunun protein haritası ile adapte edilmiş hücrelerin protein haritası karşılaştırıldığında 33 protein beneğinin ekspresyonu değiştiği görülmüştür. pH 2.5'deki ekspresyonda 22 proteinin ekspresyonunun 1.5 kat arttığı gözlenmiştir (47).

### OZMOTİK STRES

Ozmotik basıncın artırılması, gıda ürünlerinin korunması için kullanılan en yaygın yöntemler arasında yer almaktadır. Yapılan uygulama ile mikroorganizma tarafından kullanılabilir olan su miktarı azaltılmaktadır. Mikroorganizmalar minimum su aktivitesi ( $a_w$ ) limitlerinin altında gelişim gösteremedikleri için özellikle bakteriyel gelişim açısından su aktivitesi çok önemlidir. Bu sınırlı  $a_w$  değeri; çözünen madde olarak kullanılan tuzlara (NaCl, KCl, vb), şekerlere (glikoz, sakkaroz, vb) ya da gliserole bağlıdır. Örneğin *Pseudomonas fragi* için NaCl kullanımında minimum gelişme  $a_w$ 'si 0.957 iken gliserol kullanımında bu değer 0.94'tür. Su aktivitesi 0.80'nin altına düştüğünde bakteriler gelişim gösteremezken bu değer altındaki  $a_w$ 'lerde (0.60) funguslar gelişebilmektedir (3, 48).

Bakteriler, gıdaların içerisinde yüksek şeker ve tuz (NaCl) gibi veya kurutulmuş ürünlerde olduğu gibi çeşitli ozmotik streslere maruz kalırlar. Bu durumlarda özellikle turgor basıncı ve dehidrasyon bakteriler için çok önemlidir. Bir hiperozmotik şoktan sonra oluşan geçici turgor basıncına karşı verilen yanıtlar ozmoregülasyon olarak adlandırılmaktadır. Hiperozmotik şartlar altındaki bakterilerde en iyi karakterize edilen metabolizma, hücre içi ozmolit (çözünen madde/uyumlu madde) olarak adlandırılan maddelerin birikimidir. Bir organizma düşük su aktivitesine sahip bir ortamda bulunuyorsa, çevresinden su sağlayabilmesi için tek yol, hücre içi ozmolit konsantrasyonunu artırmaktır. Hücre içi ozmolit konsantrasyonu ya inorganik iyonların ( $K^+$  gibi) çevreden hücre içine pompalanması ya da organik çözünen sentezi veya bu maddelerin konsantrasyonunu artırarak artırılmaktadır. Bu mekanizmalardan birini ya da diğerini kullanan pek çok organizma vardır. Uyumlu maddelerin birikimi doğrudan doğruya mikroorganizma tarafından sentez yoluyla sağlanabileceği gibi, bazı durumlarda hücre dışından hücre içine transfer şeklinde de gerçekleşebilir. Bu maddeler, çoğunlukla nötr fakat polar yapıda, çözünürlüğü yüksek olan ve yüksek konsantrasyonlarda bile normal hücre fonksiyonlarını etkilemeden ozmotik basıncın etkisini gideren bileşiklerdir. Glisin betain, prolin, ektoin, karnitin, kolin ve trehaloz yaygın uyumlu çözünen maddelerdir. Bu bileşiklerin birikimi, gen transkripsiyonu düzeyinde veya doğrudan

enzim aktivitesinin değiştirilmesi ile ayarlanmaktadır (6, 49). Ekstrem halofilik *Archaea* ve çok az sayıdaki ekstrem halofilik *Bacteria*'daki uyumlu çözünen madde  $K^+$  (KCl)'dur (33). Ozmotik stres altındaki hücrelerde uyumlu çözünen maddelerin birikiminin yanı sıra membran lipid kompozisyonunda (fosfolipit ve yağ asitleri değişikliklerini de kapsayan) değişimlerin de meydana geldiği gözlenmiştir (3, 48).

Gıda kaynaklı patojenlerin ve bozulmaya neden olan bakterilerin gelişiminin inhibisyonunun etkili bir şekilde olması için uzun süreden beri gıdalara gıda antimikrobiyelleri eklenmektedir. Bu amaçla çeşitli sodyum veya potasyum tuzları mikrobiyel gelişimi kontrol altına almak, çeşitli gıdaların (et, tavuk ve balık gibi) raf ömrünü uzatmak ve aynı zamanda duyuusal özelliklere katkıda bulunabilmek amacıyla kullanılmaktadır (50). Şekerlerin hiperozmotik çözümleri, meyvelerin dehidrasyonu ve yeniden biçimlendirilmesi için kullanılmaktadır (51). Fakat dikkat edilmesi gereken mikroorganizmaların sürekli olarak değişen ortamları algılayıp, bu ortamlara adapte olabilmek yeteneklerinin olduğudur. Bu durum onların canlı kalmaları ve gelişimi açısından çok önemlidir. Bununla beraber *Listeria monocytogenes* gibi patojenlerin yüksek tuz konsantrasyonlarına uyum sağlayarak hayatta kalabildiği ve gıdalardaki patojenlerin kontrol edilmesini zorlaştırdığı unutulmamalıdır (52). Glass ve ark., asit ve NaCl'nin *E. coli* O157:H7'nin canlı kalma oranı üzerinde etkisini araştırdıkları çalışmalarında *E. coli* O157:H7'nin %6.5 gibi yüksek NaCl konsantrasyonunda gelişebildiğini göstermişler ve %6.5 NaCl varlığında lag fazın normalden daha uzun olması nedeniyle bu patojenin tuz tolerans özelliğinin olabileceğini belirtmişlerdir (53). Faleiro ve ark., farklı kaynaklardan izole edilen *L. monocytogenes* suşlarını, %3.5 NaCl içeren besiyerinde 2 saat boyunca inkübe etmiş ve suşların tuza tolerans kazanmasını sağlamışlardır. Tolerans kazanan suşların, %20 NaCl içeren ortamdaki yaşama düzeyleri belirlenmiştir. Tuz toleransı, suşlar arasında farklılık göstermiş olup, 9 suştan 7'sinde tuz direncinde artış sağlanırken 2'sinde direnç sağlanamamıştır (54). Lee ve Kang, 2008 yılında *E. coli* O157:H7 üzerine ısı, asetik asit ve tuzun kombine etkisini inceledikleri çalışmalarında, bu üç faktörün tüm kombinasyonlarının etkileri ile faktörlerin tek başlarına kullanımlarının etkilerini karşılaştırmışlardır. Tuz ısı ile kombine edildiğinde *E. coli* O157:H7 miktarındaki azalmada önemli bir fark görülmemiş fakat asit, ısı ile kombine edildiğinde *E. coli* O157:H7'nin azalışı sadece asit etkisine göre daha fazla olmuştur. Tuz asit ile kombine edildiğinde ise tuz asit uygulamasına karşı koruyucu etki göstermiş yani sadece asit uygulamasına göre *E. coli* O157:H7'nin azalmasında daha az bir etki göstermiştir (55). Öztürk ise, *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes*'in asit ve tuz adaptasyonlarını sağlayarak, asit ve tuza olan dirençlerini ayrıca asit ve tuz adaptasyonunun *E. coli* O157:H7 ve

*L. monocytogenes*'in Türk sucuklarında yaşama düzeyleri üzerindeki etkilerini de incelemişlerdir. Tuz adaptasyon denemelerinde, %3.5 NaCl'e 1 saat süreyle tuza adapte edilen kültürler %8 NaCl içeren çözeltide 4°C ve 25°C'da 25 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Bu denemeler sonunda *L. monocytogenes*'in tuza direnç kazanmadığı görülmüş, *E. coli* O157:H7'nin ise 25°C'da muhafaza edilen kültürde tuz direnci artmış, 4°C'da muhafaza edilen kültürde ise direnç artışı olmamıştır. Asit adaptasyonu, *E. coli* O157:H7'nin Türk sucuğunda yaşama düzeyinde artışa neden olurken, *L. monocytogenes*'in yaşama düzeyi üzerinde önemli bir fark oluşturmamıştır. Ayrıca tuz adaptasyonu *E. coli* O157:H7'nin Türk sucuğunda yaşama düzeyini arttırmamıştır (8).

### OKSİDATİF STRES

Oksidatif stres, oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulması ile oluşan ve hücrede hasarlara neden olan bir stres çeşididir (56, 57). Oksidatif stres özellikle fakültatif ve anaerobik mikroorganizmaları etkiler. Fakültatif organizmalar oksijenli ve oksijensiz koşullar altında gelişebilirken anaeroblar oksijen varlığında gelişmemektedir. Solunum ile enerji üretiminde oksijen önemli avantajlar sağlarken bu sırada oluşabilecek reaktif oksijen türleri (ROS) ise organizmanın yaşamını tehdit eder (58). Bu maddeler hücreler üzerinde toksik etki göstererek hücredeki lipid, protein ve DNA gibi makromolekülleri etkiler (59).

Çoğunluğunu serbest radikallerin oluşturduğu reaktif oksijen türleri normal oksijen molekülüyle karşılaştırıldığında, kimyasal reaktiviteleri daha yüksek olan oksijen formlarıdır (60). Serbest radikaller, bir veya birden fazla tek elektron (eşleşmemiş elektron çifti) içeren yüksek reaktiviteli moleküller veya gruplar olarak tanımlanmaktadır (59). Serbest radikaller normal metabolizma ürünleri ile hücre içinde (in vivo) oluşturulmakta ve reaktif oksijen türleri (ROS) ile reaktif nitrojen türleri (RNS) olmak üzere iki gruba ayrılır. ROS olarak isimlendirilen bu moleküller; süperoksit anyon radikali (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), hidroksil radikalleri (HO<sup>-</sup>), hipoklorik asit (HOCl), singlet oksijen (O<sub>2</sub>), ozon (O<sub>3</sub>), alkil radikali (R), peroksil radikali (POO<sup>-</sup>), organik peroksit radikali (RCOO<sup>-</sup>), perhidroksil radikali (HO<sub>2</sub><sup>-</sup>), alkoksil radikali (RO<sup>-</sup>), RNS olarak adlandırılan molekülleri ise nitrik oksit (NO<sup>-</sup>), peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>)'tir (57, 61).

Hücreler subletal seviyedeki oksidanlara maruz kaldıklarında, adaptif yanıt sistemlerinin devreye girdiği belirlenmiştir (62). Oluşan serbest radikal ürünleri ve peroksitler gibi moleküllerin neden olabileceği oksidatif hasara karşı hücreler antioksidan savunma sistemleri tarafından korunur. Bu sistemler ikiye ayrılır;

-Enzimatik antioksidanlar (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (Cat), selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR) gibi)

-Enzimatik olmayan antioksidanlar (vitamin C, vitamin E, vitamin A, flavonoidler, melatonin, ürik asit, albümin, haptoglobulin, sistein, seruloplazmin, transferrin ve laktoferrin, ferritin, selenyum, oksipurinol, ubikinon, bilirubin, glutatyon, mannitol, lipoik asit, hemopeksin gibi)'dir.

Genel olarak enzimatik antioksidanlar hücre içinde enzimatik olmayan antioksidanlar ise hücre dışında daha fazla etkilidir (63). Bu onarım sistemleri oksidatif hasar görmüş makromolekülleri ortadan kaldırmakta ve/veya onarmaktadır. DNA onarımı için genellikle DNA nükleazlar ve glikosilazlar gerekir (62). Cruz ve ark., probiyotik yoğurtların işlenmesi sırasında oksidatif stresi azaltmak için artan konsantrasyondaki glikoz oksidazın etkisini incelemişlerdir. Glikoz oksidazın yüksek konsantrasyonda eklenmesi uzun süreli depolamada (30 gün) yoğurtlardaki çözünmüş oksijen seviyesinde az miktarda bir artışa neden olurken bu artış probiyotik yoğurtta bulunan *Bifidobacterium longum* ve *Lactobacillus acidophilus* sayılarında küçük bir düşüşe sebep olmuştur (64).

### KAYNAKLAR

1. Dikici A. 2009. Çevresel Stres Faktörlerine Karşı Bakteriyel Adaptasyonlar ve Mekanizmaları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4 (3): 59-68.
2. Schimel J, Balsler TC, Wallenstein M. 2007. Microbial stress-response physiology and its implications for ecosystem function. *Ecological Society of America Annual Meeting Abstracts*, 88 (6): 1386-1394.
3. Russell NJ, Evans RI, Steeg PF, Hellemons J, Verheul A, Abee T. 1995. Membranes as a target for stress adaptation. *International Journal of Food Microbiology*, 28: 255-261.
4. Sorensen JG, Kristensen TN, Loeschke V. 2003. The evolutionary and ecological role of heat shock proteins. *Ecology Letters*, 6: 1025-1037.
5. Aksöz N. 1985. Halofilik Bakteriler. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 19: 161-167.
6. Yousef AE, Courtney PD. 2003. Basics of stress adaptation and implications in new generation foods. *Microbial Stress Adaptation and Food Safety*. (Editor: AE Yousef and VK Juneja). CRC Pres, New York. Syf:1-25.
7. Hill C, O'Driscoll B, Booth I. 1995. Acid adaptation and food poisoning microorganisms. *International Journal of Food Microbiology*, 25: 245-254.
8. Öztürk FY. 2010. Asit ve Tuza Adapte Edilmiş *Escherichia coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes*'in Türk Sucuklarında Yaşama Düzeylerinin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara, Türkiye, 132 s.
9. Velliou EG, Derlinden EV, Cappuyns AM, Goossens J, Geeraerd AH, Devlieghere F, Van Impe JF. 2011. Heat adaptation of *Escherichia coli* K12: effect of acid and glucose. *Procedia Food Science*, 1: 987-993.



10. Isohanni P, Huehn S, Aho T, Alter T, Lyhs U. 2013. Heat stress adaptation induces cross-protection against lethal acid stress conditions in *Arcobacter butzleri* but not in *Campylobacter jejuni*. *Food Microbiology*, 34: 431-435.
11. Oger PM, Cario A. 2013. Adaptation of the membrane in Archaea. *Biophysical Chemistry*, 183: 42-56.
12. Ordóñez AA, Broussolle V, Colin P, Nguyen-The C, Prieto M. 2015. The adaptive response of bacterial food-borne pathogens in the environment, host and food: Implications for food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 213: 99-109.
13. Chowdhury R, Sahu GK, Das J. 1996. Stress response in pathogenic bacteria. *Journal Biosciences*, 21 (2): 149-160.
14. Requana JM (ed). 2012. *Stress Response in Microbiology*. Caister Academic Press, Madrid, Spain, 436 p.
15. Dahlsten E, Lindström M, Korkeala H. 2015. Mechanisms of food processing and storage-related stress tolerance in *Clostridium botulinum*. *Research in Microbiology*, 166: 344-352.
16. Ergin F, Çomak Göçer EM, Aşçı Arslan A, Küçükçetin A. 2012. Probiyotik Bakterilerin Düşük Sıcaklık Stresine Adaptasyonu. *Akademik Gıda*, 10: 65-69.
17. Moat AG, Foster JW, Spector MP. 2002. Microbial Stress Responses. In: *Microbial Physiology*, Fourth Edition, John Wiley & Sons, Inc., USA, s 582- 611.
18. Verghese J, Abrams J, Wang Y, Morano KA. 2012. Biology of the Heat Shock Response and Protein Chaperones: Budding Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a Model System. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76 (2): 115-158.
19. Phadtare S, Inouye M. 2008. Cold-Shock Proteins. *Psychrophiles: from Biodiversity to Biotechnology*, Margesin R (chief ed), Springer, Heidelberg, Germany, p. 191-205.
20. Panoff JM, Corroler D, Thammavongs B, Boutibonnes O. 1997. Differentiation between Cold Shock Proteins and Cold Acclimation Proteins in a Mesophilic Gram-Positive Bacterium *Enterococcus faecalis* JH2-2. *Journal of Bacteriology*, 179 (13): 4451-4454.
21. Aşkar TK, Ergün N, Turunç V. 2007. Isı Şok Proteinler ve Fizyolojik Roller. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 13 (1): 109-114.
22. Guzzo J. 2012. Biotechnical applications of small heat shock proteins from bacteria. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 44: 1698-1705.
23. Kiang JG, Tsokos GC. 1998. Heat Shock Protein 70 kDa: Molecular Biology, Biochemistry and Physiology. *Pharmacology & Therapeutics*, 80 (2): 183-201.
24. Moseley PL. 1997. Heat shock proteins and heat adaptation of the whole organism whole organism. *Journal of Applied Physiology*. 83 (5): 1413-1417.
25. Voisine C, Pedersen JS, Morimoto RI. 2010. Chaperone networks: Tipping the balance in protein folding diseases. *Neurobiology of Disease*, 40 (1): 12-20.
26. Adıyaman S. E. 2014. Saanen keçilerinde HSP 60 ve HSP 70 genlerinin kantitatif analizi. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, Türkiye, 75 s.
27. Chiang ML, Chou CC. 2009. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* under environmental stresses as influenced by growth phase and pre-adaptation treatment. *Food Microbiology*, 26: 391-395.
28. Ferrando V, Quiberoni A, Reinhemer J, Suarez V. 2015. Resistance of functional *Lactobacillus plantarum* strains against food. *Food Microbiology*, 43: 63-71.
29. Yang HY, Kim SK, Choi SY, You DH, Lee SC, Bang WS, Yuk HG. 2015. Effect of acid, desiccation and heat stresses on the viability of *Cronobacter sakazakii* during rehydration of powdered infant formula and in simulated gastric fluid. *Food Control*, 50: 336-341.
30. Margesin R, Miteva V. 2011. Diversity and ecology of psychrophilic microorganisms. *Research in Microbiology*, 162: 346-361.
31. Mega R, Manzoku M, Shinkai A, Nakagawa N, Kuramitsu S, Masui R. 2010. Very rapid induction of a cold shock protein by temperature downshift in *Thermus thermophilus*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 399: 336-340.
32. Berger F, Morellet N, Menu F, Potier P. 1996. Cold Shock and Cold Acclimation Proteins in the Psychrotrophic Bacterium *Arthrobacter globiformis* S155. *Journal of Bacteriology*, 178 (11): p, 2999-3007.
33. Madigan MT, Martinko JM, Clark DP. 2010. *Brock Biology of Microorganisms*. Tenth Edition, Pearson Education International, USA.
34. Derman Y, Söderholm H, Lindström M, Korkeala H. 2015. Role of csp genes in NaCl, pH, and ethanol stress response and motility in *Clostridium botulinum* ATCC 3502 *Food Microbiology*, 46: 463-470.
35. Phadtare S, Alsina J, Inouye M. 1999. Cold-shock response and cold-shock proteins. *Current Opinion in Microbiology*, 2: 175-180.
36. Ivancic T, Jamnik P, Stopar D. 2013. Cold shock CspA and CspB protein production during periodic temperature cycling in *Escherichia coli*. *BMC Research Notes*, 6: 248.
37. Wang Y, Delettre J, Guillot A, Corrieu G, Béal C. 2005. Influence of cooling temperature and duration on cold adaptation of *Lactobacillus acidophilus* RD758. *Cryobiology*, 50: 294-307.
38. Tripaty S, Sen R, Padhi SK, Sahu DK, Nandi S, Mohanty S, Maiti NK. 2014. Survey of the transcriptome of *Brevibacillus borstelensis* exposed to low temperature shock. *Gene*, 550:207-213.

39. Jin B, Jeong KW, Kim Y. 2014. Structure and flexibility of the thermophilic cold-shock protein of *Thermus aquaticus*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 451: 402-407.
40. Tosun H. 2003. Bazı Patojen Bakterilerin Aside Tolerans Kazanmasının Tanımlanma ve Gıda Sanayindeki Önemi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, İzmir, Türkiye, 179 s.
41. Foster JW. 1999. When protons attack: microbial strategies of acid adaptation. *Current Opinion in Microbiology*, 2: 170- 174.
42. Liu Y, Tang H, Lin Z, Ping Xu. 2015. Mechanisms of acid tolerance in bacteria and prospects in biotechnology and bioremediation. *Biotechnology Advances*, 33: 1484-1492.
43. Yang Y, Kadim MI, Khoo WJ, Zheng Q, Setyawati MI, Shin YJ, Lee SC, Yuk HG. 2014. Membrane lipid composition and stress/virulence related gene expression of *Salmonella Enteritidis* cells adapted to lactic acid and trisodium phosphate and their resistance to lethal heat and acid stress. *International Journal of Food Microbiology*, 191: 24-31.
44. Sagong HG, Lee SY, Chang PS, Heu S, Ryu S, Choi YJ, Kang DH. 2011. Combined effect of ultrasound and organic acids to reduce *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* on organic fresh lettuce. *International Journal of Food Microbiology*, 145: 287-292.
45. Lee SY, Rhee MS, Dougherty RH, Kang DH. 2009. Antagonistic effect of acetic acid and salt for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 in cucumber puree. *Journal of Applied Microbiology*, 108: 1361-1368.
46. Saarela M, Rantala M, Hallamaa K, Nohynek L, Virkajärvi I, Mättö J. 2004. Stationary-phase acid and heat treatment for improvement of the viability of probiotic lactobacilli and bifidobacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 96: 1205-1214.
47. Wu R, Zhang W, Sun T, Wu J, Yue X, Meng H, Zhang H. 2011. Proteomic analysis of responses of a new probiotic bacterium *Lactobacillus casei* Zhang to low acid stress. *International Journal of Food Microbiology*, 147: 181-187.
48. Beales N. 2004. Adaptation of Microorganisms to Cold temperatures, Weak Acid Preservatives, Low pH, and Osmotic Stress. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Vol.3.
49. Gülbezer S, Ökmen G. 2012. Ozmotik Koruyucular ve Mikroorganizmalar. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5 (1): 41-52.
50. Yuan W, Ágoston R, Lee D, Lee SC, Yuk HG. 2012. Influence of lactate and acetate salt adaptation on *Salmonella Typhimurium* acid and heat resistance. *Food Microbiology*, 30: 448-452.
51. Burgess CM, Gianotti A, Gruzdev N, Holah J, Knöchel S, Lehner A, Margas E, Esser SS, Sela S, Tresse O. 2016. The response of foodborne pathogens to osmotic and desiccation stresses in the food chain. *International Journal of Food Microbiology*, 221: 37-53.
52. Gandhi M, Chikindas ML. 2007. *Listeria*: A foodborne pathogen that knows how to survive. *International Journal of Food Microbiology*, 113: 1-15.
53. Glass KA, Loeffelholz JM, Ford JP, Doyle MP. 1992. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 as affected by pH or sodium chloride and in fermented, dry sausage. *Applied and Environmental Microbiology*, 58: 2513-2516.
54. Faleiro ML, Andrew PW, Power D. 2003. Stress response of *Listeria monocytogenes* isolated from cheese and other foods. *International Journal of Food Microbiology*, 84: 207-216.
55. Lee SY, Kang DH. 2008. Combined effects of heat, acetic acid, and salt for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 in laboratory media. *Food Control*, 20: 1006-1012.
56. Yerer MB, Aydoğan S. 2000. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 9 (1): 49-53.
57. Tabakoğlu E, Durgut R. 2013. Veteriner Hekimlikte Oksidatif Stres ve Bazı Önemli Hastalıklarda Oksidatif Stresin Etkileri. *Adana Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi*, 3 (1): 69-75.
58. Fu H, Yuan J, Gao H. 2015. Microbial oxidative stress response: Novel insights from environmental facultative anaerobic bacteria. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 584: 28-35.
59. Akpoyraz M, Durak İ. 1995. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 48: 258-262.
60. Koca N, Karadeniz F. 2003. Serbest Radikal Oluşum Mekanizmaları ve Vücuttaki Antioksidan Savunma Sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, s 32-37.
61. Freeman BA, Crapo JD. 1982. Biology of Disease. *Laboratory Investigation*, 47 (5): 412-426.
62. Crawford DR, Davies KJA. 1994. Adaptive Response and Oxidative Stress. *Environmental Health Perspectives*, 102 (10): 25-28.
63. Gümüştaş MK, Atukeren P. 2008. Oksidatif ve Nitrozatif Stresin Psikiyatrik Bozukluklarla İlişkisi. *Türkiye'de Sık Karşılaşılan Psikiyatrik Hastalıklar*, Uğur M, Balcıoğlu İ, Kocabaşoğlu N.(ed), Sempozyum Dizisi, İstanbul, Türkiye, 62: 329-340.
64. Cruz AG, Castro WF, Faria JAF, Lollo PCB, Amaya-Farfán J, Freitas MQ, Rodrigues D, Oliveira CAF, Godoy HT. 2012. Probiotic yogurts manufactured with increased glucose oxidase levels: Postacidification, proteolytic patterns, survival of probiotic microorganisms, production of organic acid and aroma compounds. *Journal of Dairy Science*, 95: 2261-2269.