

Farklı Gıdalardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Endüstriyel ve Probiyotik Özellikleri

Özlem Ertekin¹, Ahmet Hilmi Çon² ✉¹Tunceli Üniversitesi, Tunceli Meslek Yüksekokulu, Tunceli²Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Samsun

Geliş Tarihi (Received): 31.10.2014, Kabul Tarihi (Accepted): 22.11.2014

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): ahmeth.con@omu.edu.tr (A.H. Çon)

☎ 0 362 312 19 19 / 1522 📠 0 362 457 60 35

ÖZET

Laktik asit bakterileri, fermente et, süt, sebze, meyve ve tahıl ürünleri endüstrisinde starter ve probiyotik özellikleriyle büyük önem taşımaktadır. Tüketicilerin doğal ve sağlıklı ürünlere gösterdikleri talep artışı dolayısıyla probiyotik laktik asit bakteri suşlarıyla üretilen fonksiyonel gıdaların satışında son yıllarda dikkate değer bir gelişme olmuştur. Bu durum dikkate alınarak farklı gıdalardan izole edilmiş ve muhtemel probiyotik olabilecek 26 izolat, 6 tip izolatı ile karşılaştırmalı olarak endüstriyel ve probiyotik özellikleri açısından test edilmiştir. İzolatların asit üretim yetenekleri % laktik asit cinsinden %1.07-2.47 (ortalama %1.81); pH cinsinden de 3.30-4.41 pH (ortalama 3.85 pH) arasında saptanmıştır. Hidrofobisite değerleri %0-50.82 arasında değişmiştir. *L.plantarum* ve *P.pentosaceus* izolatları yüksek tuz ve safra tuzuna dayanıklılık, 3.5 ve 9.6 pH'da gelişebilme açısından diğerlerinden daha toleranslı bulunmuşlardır. Gastrik suya, alkole, ağır metaller, antibiyotiklere ve H₂O₂'ye dayanıklılık, antimikrobiyal aktivite, β-galaktosidaz aktivitesi ve proteolitik aktivite gösterme açısından starter kültür için aranan değerlere izolatların tamamının yeterli düzeyde sahip bulunduğu ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Gıda, Laktik asit bakterisi, Starter kültür, Probiyotik

Industrial and Probiotic Characteristics of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Foods

ABSTRACT

Lactic acid bacteria are important in fermented meat, dairy, vegetable, fruit and cereal industry for their starter and probiotic properties. The market ratio of functional foods produced with probiotic strains of lactic acid bacteria have been considerably developed in recent years due to demand towards on natural and healthy products of consumers. Accordingly, 26 isolates previously isolated from different foods and having probiotics characteristics were examined for their industrial and probiotic properties together with 6 standard type cultures comparatively. Acid production abilities of relevant isolates were found between 1.07-2.47% and averagely 1.81%, where the pH values were found between 3.30-4.41 and averagely 3.85. The hydrophobicity values were in between 0 and 50.82%. *L. plantarum* and *P. pentosaceus* isolates were found more tolerant due to their resistance to high salt and bile and for growing in 3.5 and 9.6 pH. All of the isolates showed sufficient resistance to gastric water, alcohol, heavy metals, antibiotics and H₂O₂ as well as had antimicrobial activity, β-galactosidase activity and proteolytic activity for to be assigned a starter culture.

Key Words: Food, Lactic acid bacteria, Starter culture, Probiotic

GİRİŞ

Doğada yaygın olarak bulunan, sütte fermentasyona ve koagülasyona yol açan bakteriler ilk kez 19. yy sonlarında laktik asit bakterileri olarak isimlendirilmiş ve daha sonraki yıllarda Lactobacillaceae familyası içerisinde sınıflandırılmışlardır [1, 2]. Daha önceleri geleneksel asidik gıda fermentasyonlarının önemli kısmında baskın florayı oluşturan laktik asit bakterileri, bu tip ürünlerin hızla endüstriyel üretime kayması sonucu starter olarak büyük önem taşıyor hale gelmiştir. Önceleri peynir ve diğer fermente süt ürünlerinde önem atfedilen laktik asit bakterileri, zamanla tahıl, sebze, meyve, et vb. maddelerden hazırlanan gıdaların fermente edilmesinde de bilinçli olarak kullanılmaya başlanmıştır [3].

Laktik asit bakterileri lezzeti geliştirme ve ürünlerin muhafaza süresi ve kalitesini artırmada önemli olduğu gibi, gıda katkılarının, nutrasetiklerin ve endüstriyel kimyasalların üretimlerinde de önem taşımaktadır. Ayrıca laktik asit bakterilerinin özel suşları probiyotik gıda katkıları olarak da kullanılmaktadır. Laktik asit bakterilerinin probiyotik suşlarının kullanımı ile üretilen, sağlığı koruyucu özellikler gösteren gıda ürünlerinin marketlerde fonksiyonel gıdalar olarak satışa sunulması son yıllarda dikkate değer bir gelişme göstermiştir. Halen, belirtilen endüstriyel ve tıbbi uygulamaları nedeniyle laktik asit bakterilerine karşı endüstriyel ilgi artış eğilimindedir [4].

Günümüzde gıda katkı maddeleri kullanımına karşı bir tüketici reaksiyonu gelişmiş ve bu uygulamalar doğal olmayan ve güvenilir olmayan uygulamalar olarak görülmeye başlanmıştır. Marketlerde taze, güvenilir, lezzetli, şeker, yağ, tuz içeriği düşük ve kolay hazırlanan ürünler tercih edilmeye başlanmıştır. Ancak, sadece ham materyal ile istenilen niteliklerde üretim yapmak her zaman mümkün olmamaktadır. İşte bu noktada gıda fermentasyonu ve starter kültürlerin kullanımı alternatif uygulamalardan birisi olarak ortaya çıkmaktadır. Seçilmiş starter kültürlerle, fermentasyon prosesinde kontrol ve son üründe standardizasyon sağlanmaktadır. Starter suşlar, fizyolojik ve metabolik özellikleri doğrulanmış doğal habitatlardan veya başarılı fermente ürünlerden izole edilmiş mikroorganizmalardan oluşmaktadır. Ancak, halen özellikle geleneksel gıdalar için endüstriyel starter kültürlerin çeşitliliği, gerekli karakteristikler açısından eksiktir ve arzulanan ticari yetenekleri de sınırlıdır [5].

Tüm bunlar yeni probiyotik starter suşların taranması ve tanımlanması çalışmalarını güncel tutmaktadır. Bu çalışmada da araştırmacıların daha önce içerisinde yer aldığı çalışmalarda Türkiye kaynaklı farklı materyallerden elde edilmiş izolatların birçok endüstriyel ve probiyotik nitelikleri belirlenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Çalışmada materyal olarak peynir, sucuk, ekşi hamur ve turşudan izole edilmiş ve tanımlanmış muhtemel

probiyotik olabilecek toplam 26 laktik asit bakteri izolatu ile her bir tür için uluslararası kültür koleksiyonlarından temin edilmiş 6 adet tip izolatu kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite spektrumunun belirlenmesinde gıda maddelerinde önem taşıyan *Listeria monocytogenes* Li1 ve *Enterococcus faecium* indikatör olarak kullanılmıştır. Laktik asit bakterilerinin çoğaltılması ve korunmasında M17 ve MRS broth ve agar; indikatör izolatların çoğaltılması ve korunmasında da Nutrient broth ve agar kullanılmıştır [6].

Metot

Antimikrobiyal aktivite spektrumu indikatör mikroorganizma olarak *L.monocytogenes* Li1 ve *E.faecium* kullanılarak Schillinger ve Lücke [7]; Gram boyama 18-24 saatlik genç kültürler kullanılarak Şimşek [8] ile Kostinek ve ark. [9] tarafından verilen yöntemlere göre yapılmıştır. İzolatların katalaz testi Kim ve ark. [10]; glukozdan gaz üretimi Çon [6] ile Şimşek ve ark. [11]; arginin hidrolizi Sánchez ve ark. [12] ile Şimşek ve ark. [11]; farklı pH değerinde gelişme G-allegria ve ark. [13]; farklı tuz konsantrasyonunda gelişme Kask ve ark. [14] ile Randazzo ve ark. [15]; farklı sıcaklıkta gelişme Şimşek ve ark. [11] ile Kostinek ve ark. [9]; alkole dayanıklılık G-Allegria ve ark. [13]; β-Galaktosidaz Hébert ve ark. [16] ile Anonim [17]; safra tuzuna dayanıklılık Cebeci ve Gürakan [18] ile Papamanoli ve ark. [19]'e göre yapılmıştır. Proteolitik aktivite Yüksekdağ ve ark. [20] ile Şimşek ve ark. [11]; toplam asit üretme yeteneği pH cinsinden Buriti ve ark. [21] ile Elez-Martínez ve ark. [22], % laktik asit cinsinden Evren [23]; hidrofobisite Vindorela ile Reinheimer [24]; gastrik suya dayanıklılık Gardiner ve ark. [25] ile Vindorela ve Reinheimer [24]'e göre gerçekleştirilmiştir. Plazmid DNA izolasyonunda Anderson ve McKay [26] ile Hébert ve ark. [16]; antibiyotiklere duyarlılık testinde Charteris ve ark. [27] ile Cebeci ve Gürakan [18]; ağır metallerle dayanıklılık testlerinde de Hassen ve ark. [28] ile Gülcan [29] tarafından verilen yöntemler kullanılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

İzolatların Temel Özellikleri ve İzolasyon Kaynakları

Çalışmada çeşitli fermente gıdalardan izole edilmiş ve tanımlanmış 26 adet izolat ile temel özellikleri birlikte test edilmiş 6 adet standart suşun analiz sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

İzolatların tümünde belirlenen Gram boyama, katalaz, glukozdan gaz üretimi ve morfolojik görünüm test sonuçları ilgili türler için literatür bilgilerinde verilen özellikler ile uyum içerisindedir. Arginin hidrolizi *P.pentosaceus* DSM20336, *L.pentosus* O8a, *L.brevis* O11 ve *L.paracasei* ssp. *paracasei* O54 izolatında pozitif diğer izolatlarda negatiftir. Literatürde de arginin hidrolizinin 7 adet *P.pentosaceus* izolatının tamamında, *L.plantarum* izolatlarının 3/13 adedinde, *L.brevis* izolatlarının %53.8'inde pozitif olduğu [30]; *Pediococcus* ssp. E5'de pozitif, *L.plantarum* 431, C5, 113 izolatlarında negatif olduğu [8]; çalışmalarında denedikleri *L.plantarum*'ların [19, 31] ve

Lactobacillus'ların [16] tamamının negatif olduğunu belirten sonuçlar bildirilmiştir. Yine arginin hidrolizinin *L.pentosus* izolatlarında negatif olduğu [31]; *L.curvatus*

izolatlarının ise %67'sinde pozitif olduğu [19] belirtilmiştir. Çalışma sonuçları bu literatür sonuçları ile uyum göstermektedir.

Tablo 1. İzolatlarının temel özellikleri ve izolasyon kaynakları

İzolatlar	İzolatların Temel Özellikleri						İzolasyon Kaynağı
	Gram Boyama**	Katalaz***	Glukozdan Gaz Üretimi***	Arginin Hidroliz***	Plazmid Sayısı	Morfoloji	
<i>Pediococcus pentosaceus</i> O24	+	-	-	-	2	Kok	Sucuk
<i>Pediococcus pentosaceus</i> O25	+	-	-	-	4	Kok	Sucuk
<i>Pediococcus pentosaceus</i> O27	+	-	-	-	8	Kok	Sucuk
<i>Pediococcus pentosaceus</i> O29	+	-	-	-	4	Kok	Sucuk
<i>Pediococcus pentosaceus</i> O31	+	-	-	-	1	Kok	Sucuk
<i>Pediococcus pentosaceus</i> O57	+	-	-	-	3	Kok	Sucuk
<i>Pediococcus pentosaceus</i> DSM20336	+	-	-	+	3	Kok	DSMZ*
<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> O3	+	-	-	+	1	Kok	Peynir
<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> DSM20481	+	-	-	-	2	Kok	DSMZ*
<i>Lactobacillus plantarum</i> O12	+	-	-	-	2	Basil	Karışık turşu
<i>Lactobacillus plantarum</i> O13	+	-	-	-	4	Basil	Karışık turşu
<i>Lactobacillus plantarum</i> O14	+	-	-	-	4	Basil	Ekşi hamur
<i>Lactobacillus plantarum</i> O19	+	-	-	-	3	Basil	Hıyar turşusu
<i>Lactobacillus plantarum</i> O20	+	-	-	-	2	Basil	Peynir
<i>Lactobacillus plantarum</i> O21	+	-	-	-	6	Basil	Peynir
<i>Lactobacillus plantarum</i> O23	+	-	-	-	3	Basil	Turşu
<i>Lactobacillus plantarum</i> O26	+	-	-	-	4	Basil	Sucuk
<i>Lactobacillus plantarum</i> O30	+	-	-	-	-	Basil	Sucuk
<i>Lactobacillus plantarum</i> O33	+	-	-	-	4	Basil	Peynir
<i>Lactobacillus plantarum</i> O41	+	-	-	-	5	Basil	Peynir
<i>Lactobacillus plantarum</i> O58	+	-	-	-	-	Basil	Peynir
<i>Lactobacillus plantarum</i> O22b	+	-	-	-	1	Basil	Peynir
<i>Lactobacillus plantarum</i> O44b	+	-	-	-	6	Basil	Ekşi hamur
<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM20174	+	-	-	-	3	Basil	DSMZ*
<i>Lactobacillus brevis</i> O11	+	-	+	+	1	Basil	Ekşi hamur
<i>Lactobacillus brevis</i> DSM20054	+	-	+	-	2	Basil	DSMZ*
<i>Lactobacillus curvatus</i> O32	+	-	-	-	1	Basil	Peynir
<i>Lactobacillus curvatus</i> DSM20019	+	-	-	-	1	Basil	DSMZ*
<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> O54	+	-	-	+	1	Basil	Peynir
<i>Lactobacillus paracasei</i> DSM5622	+	-	-	-	2	Basil	DSMZ*
<i>Lactobacillus helveticus</i> O16	+	-	-	-	4	Basil	Ekşi hamur
<i>Lactobacillus pentosus</i> O8a	+	-	-	+	1	Basil	Ekşi hamur

*: DSMZ (Leibniz-Institute DSMZ –German Collection of Microorganisms and Cell Cultures), **: +, Gram Pozitif; -, Gram Negatif, ***: +, Gelişme var; -, Gelişme yok

Sitoplazmada bulunan, ekzopolisakkarit, bakteriyosin ve asit üretiminden, antibiyotiklere, ağır metal iyonlarına ve fajlara dirençlilikten, proteolitik aktivite ve sitrat metabolizmasından sorumlu genleri taşıyan plazmidleri [32, 33, 34], laktokokların 2-14 arasında, laktobasillerin 0-6 arasında, pediokokların da 3-6 arasında içerdikleri bildirilmektedir [32, 33, 35]. Sonuçlar genel anlamda bu bilgi ile uyumludur. Şimşek [8] tarafından *Pediococcus* sp. E5, *L.brevis* ssp. *lindneri* 2103 ve *L.plantarum* için elde edilen değerler (*L.plantarum* O30 ve O58 hariç) çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

L.helveticus O16'da belirlenen 4 adet plazmidin aksine Reinheimer ve ark. [36] ise *L.helveticus*'da plazmid saptayamamıştır.

İzolatların Endüstriyel Özellikleri

Gıda endüstrisinde laktik starter kültür ve/veya probiyotik kültür seçiminde ekolojik, fizyolojik ve metabolik özelliklerin büyük önem taşıması nedeniyle izolatların endüstriyel olarak önem taşıyan özellikleri belirlenmiş ve alt başlıklar halinde tartışılmıştır.

Antimikrobiyal Aktivite Spektrumu

Gıda endüstrisinde starter ve/veya probiyotik kültür olarak kullanılan laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal aktiviteye sahip olmalarına büyük önem verilmesi

nedeniyle *E.faecium* ve *L.monocytogenes* Li1 indikatör mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri agar spot testi ile belirlenmiştir. Test sonuçları Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. İzolatlarının antimikrobiyel aktiviteleri ile farklı sıcaklık, pH ve NaCl ortamında gelişimi

İzolat No	Antimikrobiyal Aktivite*		Sıcaklık** (°C)			pH**			NaCl Oranı** (%)		
	<i>E. faecium</i>	<i>L.monocytogenes</i> Li1	10	15	45	3.0	3.5	9.6	6.5	8.0	9.0
<i>P.pentosaceus</i> O24	++	+++	-	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>P.pentosaceus</i> O25	+++	+++	-	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>P.pentosaceus</i> O27	++	+++	-	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>P.pentosaceus</i> O29	++	++	-	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>P.pentosaceus</i> O31	+++	+++	-	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>P.pentosaceus</i> O57	++	+++	+	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>P.pentosaceus</i> DSM20336	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-
<i>L.lactis ssp.lactis</i> O3	++	+++	-	+	+	-	-	+	+	-	-
<i>L.lactis</i> DSM20481	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>L.plantarum</i> O12	+++	+++	-	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>L.plantarum</i> O13	+++	+++	-	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>L.plantarum</i> O14	++	+++	-	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>L.plantarum</i> O19	-	+++	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>L.plantarum</i> O20	-	++	+	+	-	-	+	+	+	-	-
<i>L.plantarum</i> O21	-	++	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>L.plantarum</i> O23	-	++	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>L.plantarum</i> O26	+++	+++	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>L.plantarum</i> O30	++	+++	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>L.plantarum</i> O33	+++	++	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>L.plantarum</i> O41	++	+++	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>L.plantarum</i> O58	++	+++	+	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>L.plantarum</i> DSM20174	-	+++	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>L.plantarum</i> O22b	-	+++	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>L.plantarum</i> O44b	++	+++	+	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>L.brevis</i> O11	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>L.brevis</i> DSM20054	-	++	+	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>L.curvatus</i> O32	+++	+++	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>L.curvatus</i> DSM20019	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
<i>L.paracasei ssp. paracasei</i> O54	++	+++	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>L.paracasei</i> DSM5622	-	++	+	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>L.helveticus</i> O16	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+
<i>L. pentosus</i> O8a	+	++	+	+	-	-	+	+	+	+	+

*: -:<0.5mm (etkisiz); +:0.5-1.0mm (zayıf etkili); ++: 1.1-3.0mm (orta etkili); +++:>3.0mm (yüksek etkili)

** : +: Gelişme var; - Gelişme yok, Not: %3, %4 ve %5 NaCl konsantrasyonlarında tüm izolatlar gelişmiştir.

Çalışmada test edilen *P.pentosaceus* izolatlarının tamamı ile *L.plantarum* izolatlarının çoğunluğu ve *L.curvatus* O32 izolatı *E.faecium* ve *L.monocytogenes* Li1'e karşı önemli düzeyde antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. İndikatörlere karşı gösterdikleri bu antimikrobiyal aktivite nedeni ile starter kültür ve probiyotik özellik açısından önem taşımaktadırlar. *L.plantarum* izolatlarının *L.monocytogenes*'e karşı inhibitör etki gösterdiği birçok çalışmada [19, 37-39] belirlenmiştir. Yine, çalışma sonuçlarına benzer şekilde, *L.monocytogenes*'e antimikrobiyal etkili *P.pentosaceus*,

L.pentosus, *L.brevis*, *L.curvatus* izolatlarının [37] ve *L.curvatus* izolatının [19] elde edildiği de bildirilmektedir.

Farklı Sıcaklıklarda Gelişme

Laktik asit bakterilerinin gelişme sıcaklıklarının belirlenmesi tanımlama yanında fermente gıdaların üretim ve depolama şartlarının belirlenmesinde de önem taşımaktadır. Çalışmada test edilen tüm izolatlar 15°C'de gelişirken, 45°C'de *P.pentosaceus* izolatlarının tamamı ile *L.plantarum* O58 gelişmiştir. 10°C'de de

laktobasillerin çok büyük kısmı ile pediokoklardan yalnızca 2 adedi gelişmiştir (Tablo 2). Benzer sonuçlar, Tamang ve ark. [30], Şimşek [8], Papamanoli ve ark. [19], García Fontán ve ark. [40] tarafından da belirlenmiştir. Sadece *P.pentosaceus*'un 45°C'de gelişme göstermesi ilgili literatür ile farklılık göstermektedir. Tüm izolatların 15°C'de gelişebilmeleri asidik fermente gıdalarda starter olarak kullanım için yeterli potansiyele sahip olduğu şeklinde ifade edilebilmektedir.

Farklı pH Değerlerinde Gelişme

Gıdalarda bulunan mikroorganizmaların düşük pH değerlerinde gelişme durumu starter kültür ve/veya probiyotik kültür seçiminde üzerinde durulan önemli bir karakterdir. Çalışmada 3.5 pH ve 9.6 pH'da *L.helveticus* O16 hariç diğer tüm izolatların gelişme göstermesi asidik fermente gıda üretiminde starter kültür olarak kullanım açısından yeterli bir sonuçtur. 3.0 pH'da ise az sayıda laktobasil gelişme gösterebilmiştir. G-Allegria ve ark. [13], McDonald ve ark. [41], Papamanoli ve ark. [19] tarafından verilen literatür verileri çalışma sonuçlarını desteklemektedir.

Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme

Asidik fermente gıdaların büyük kısmının üretiminde %1-10 NaCl arasında değişen konsantrasyonlarda tuz kullanılması nedeni ile starter ve/veya probiyotik kültür mikroorganizmalarının seçiminde tuza dayanıklılık önem taşımaktadır. Çalışmada tüm izolatların %3.0, 4.0, 5.0 ve 6.5 NaCl içeren ortamda gelişebildikleri; %8.0 NaCl oranında sadece *L.plantarum* O20; %9.0 NaCl oranında ise *L.plantarum* O20 ve *L.curvatus* 3 gelişmemiştir. Bu sonuçlar tuza dayanıklılık açısından tüm izolatların starter kültür olarak kullanım için yeterli dayanıklılığa olduğunu ortaya koymuştur. Elde edilen sonuçlar literatür verileriyle [19; 31; 14] benzeşmektedir. Badis ve ark. [42] tarafından *L.plantarum* izolatlarının %6.5 NaCl konsantrasyonunda gelişme göstermediği bilgisi ise hem diğer literatür bilgileri hem de çalışma sonuçları ile farklılık göstermektedir.

Proteolitik Aktivite

Proteolitik aktivite, süt starter kültürleri için önemli bir özelliktir [31]. Proteolitik aktivitesi 50 µg/ml tirozin'in üzerinde olan suşlar, oluşturdukları yüksek miktardaki protein kalıntıları ve aminoasitler nedeniyle acı bir tadın gelişmesine yol açtığından, fermente süt endüstrisinde tercih edilmemektedir [43]. Genel olarak laktik asit bakterilerinin proteolitik aktivitesi zayıf olarak kabul edilmektedir [35]. İzolatların Tablo 3'de sunulan proteolitik aktivite sonuçları Yüksekdağ ve ark. [20], Şimşek ve ark. [11] ve Şimşek [8] tarafından verilen değerler ile uyumludur. Yine, Sánchez ve ark. [12] tarafından bildirilen *L.paracasei* subsp. *paracasei* izolatlarının *L.brevis*'ten; *L.brevis*'in de *L.plantarum* ve *L.mesenteroides*'ten daha yüksek proteolitik aktiviteye sahip olduğu bilgisi ile de paraleldir.

Sonuçlar süt starter kültür özelliği dikkate alınarak değerlendirildiğinde *P.pentosaceus* izolatlarının tamamı ile *L.helveticus* izolatının starter kültürlerde aranılan değerlere uyumlu, *L.plantarum* izolatlarının ise 4'ünün ise yüksek aktiviteli olduğu söylenebilmektedir.

Hidrofobisite

Probiyotik özelliklerin belirlenmesi için en önde gelen özelliklerden bir diğeri hidrofobisite değeridir. Savage tarafından yapılan çalışmada, insan, dana, sığan ve domuz sindirim sisteminden elde edilen laktik asit bakterilerinin hidrofobisite değerleri ortalama olarak; insan kaynaklı *L. acidophilus* izolatı için %35, dana kaynaklı *L.reuteri* için %44 fare kaynaklı *L. fermentum* için %57.6, sığan kaynaklı *L. murinis* için %81 ve domuz kaynaklı *L. acidophilus* ve *L. fermentum* için ise %17 olarak saptanmıştır [31]. Vindorela ve Reinheimer [24] tarafından yapılan çalışmada izole edilen probiyotik izolatların hidrofobisite değerleri de %38.1 ve %68.7 arasında tespit edilmiştir. Çalışma sonuçları literatür verilerindeki bazı probiyotik özellik gösteren izolatlarla göre düşük olmakla birlikte, özellikle *L.plantarum* O21 (%50.82) ve O22b (%45.56) izolatlarının probiyotik olarak üzerinde önemle durulması gerektiği söylenebilir. Bu iki izolatı takiben *L.lactis* ssp. *lactis* O3, *L.plantarum* O26, *L.plantarum* O23, *L.curvatus* 3, *P.pentosaceus* O57 suşları gelmektedir. Bu izolatların % hidrofobisite değerleri intestinal epitel hücrelere tutunabileceğini göstermektedir.

β-Galaktosidaz Aktivitesi

İzolatlardan *L.brevis* hariç diğer tüm türler içerisinde ağırlıklı olarak β-Galaktosidaz aktivitesi gösteren izolatlar bulunmaktadır. Bu sonuçlar izolatların probiyotik starter kültür için seçim değerini artırmaktadır. Elde edilen sonuçlar Randazzo ve ark. [15], Papamanoli ve ark. [19], Karasu [31], Hébert ve ark. [16] ve Papamanoli ve ark. [19] tarafından çeşitli tür laktik bakterilerde elde edilen değerler ile uyum göstermektedir.

pH ve Toplam Asit Üretim Yetenekleri

Asidik fermente gıdaların üretiminde izolatların starter niteliğini belirleyen en önemli özelliklerden biri olan asit üretim yeteneği, pH ve % asitlik değerleri olarak belirlenmiştir. Buna göre tüm izolatların 7. gün pH değerleri 3.30-4.41 pH arasında (ort. 3.85 pH); % asitlik değerleri de %1.07-2.47 arasında (ort. %1.81) bulunmuştur. Çalışmada test edilen izolatlar Tolonen ve ark. [44], Yaman ve ark. [45], Şimşek ve ark. [11] ve Yoon ve ark. [46] tarafından bulunan asit üretim yeteneklerine göre daha yüksek asit üretim değerlerine sahiptirler. *L. plantarum* ve *P.pentosaceus*'ların ulaştıkları son pH değerleri ve % asit üretim miktarları ile üretim hızları starter kültür olarak kullanım açısından yeterli değerlendirilmiştir.

Tablo 3. İzolatlarının proteolitik, %Hidrofobisite, β -Galaktosidaz aktiviteleri ve toplam asit üretme yetenekleri

İzolatlar	Proteolitik Aktivite (mg/ml tirozin)	Hidrofobisite (%)	β -Galaktosidaz*	Toplam Asit Üretme Yeteneği							
				1.gün		2.gün		3.gün		7.gün	
				pH	% Asit	pH	% Asit	pH	% Asit	pH	% Asit
<i>P.pentosaceus</i> O24	0.0321	2.64	+	4.36	0.98	4.16	1.30	3.98	1.36	3.93	1.71
<i>P.pentosaceus</i> O25	0.0489	0.31	+	4.37	1.09	4.27	1.23	4.07	1.27	3.99	1.60
<i>P.pentosaceus</i> O27	0.0319	0.00	+	4.32	1.12	4.22	1.25	4.02	1.23	3.95	1.69
<i>P.pentosaceus</i> O29	0.0018	0.34	+	4.41	1.06	4.24	1.28	4.04	1.24	3.95	1.80
<i>P.pentosaceus</i> O31	0.0227	4.62	+	4.35	1.14	3.91	1.27	4.03	1.17	3.98	1.67
<i>P.pentosaceus</i> O57	0.0289	13.93	+	4.41	1.09	3.92	1.27	4.11	1.31	4.01	1.58
<i>P.pentosaceus</i> DSM20336	0.0134	5.51	-	3.82	1.65	3.76	1.65	3.61	1.89	3.71	2.47
<i>L.lactis</i> ssp. <i>lactis</i> O3	0.0159	19.95	+	4.49	0.83	4.39	0.95	4.23	0.97	3.30	1.21
<i>L.lactis</i> DSM20481	0.0279	1.71	+	4.39	1.01	4.10	1.19	4.10	1.19	4.17	1.37
<i>L.plantarum</i> O12	0.0649	3.08	+	3.92	1.71	3.56	1.43	3.72	1.75	3.78	1.96
<i>L.plantarum</i> O13	0.0585	5.28	+	3.45	1.72	3.52	1.89	3.66	1.82	3.81	1.95
<i>L.plantarum</i> O14	0.0386	7.17	+	3.55	1.57	3.53	1.96	3.67	1.98	3.80	1.98
<i>L.plantarum</i> O19	0.0032	1.34	-	4.00	1.24	3.86	1.74	3.72	1.73	3.82	1.83
<i>L.plantarum</i> O20	0.0127	5.55	-	3.94	1.57	3.85	1.82	3.74	1.72	3.86	1.84
<i>L.plantarum</i> O21	0.0219	50.82	-	3.80	1.50	3.78	1.79	3.71	1.75	3.82	1.86
<i>L.plantarum</i> O23	0.0220	16.29	+	4.02	1.39	3.83	1.80	3.71	1.73	3.81	1.89
<i>L.plantarum</i> O26	0.0609	16.68	+	3.88	1.69	3.75	1.82	3.67	1.74	3.77	1.97
<i>L.plantarum</i> O30	0.0068	0.67	+	3.87	1.80	3.74	2.06	3.64	1.96	3.70	2.12
<i>L.plantarum</i> O33	0.0611	0.90	+	3.85	1.81	3.50	1.93	3.63	1.86	3.78	2.03
<i>L.plantarum</i> O41	0.0064	2.68	+	3.81	1.90	3.45	2.04	3.60	1.92	3.75	2.11
<i>L.plantarum</i> O58	0.0128	2.72	+	3.89	1.80	3.53	2.02	3.64	1.97	3.79	2.04
<i>L.plantarum</i> DSM20174	0.0335	0.75	+	3.71	1.42	3.76	1.83	3.73	1.67	3.76	1.96
<i>L.plantarum</i> O22b	0.0420	45.56	+	3.72	2.04	3.72	1.72	3.81	1.71	3.86	1.79
<i>L.plantarum</i> O44b	0.0383	4.60	+	3.76	1.74	3.64	1.44	3.76	1.90	3.88	1.95
<i>L.brevis</i> O11	0.0762	11.07	-	4.94	0.65	4.45	0.96	4.25	1.04	4.41	1.07
<i>L.brevis</i> DSM20054	0.0449	8.89	-	4.65	1.30	4.21	1.24	4.34	1.02	4.27	1.40
<i>L.curvatus</i> O32	0.0426	1.90	+	3.87	1.80	3.38	2.09	3.70	1.98	3.69	2.12
<i>L.curvatus</i> DSM20019	0.0068	15.23	-	3.91	1.93	3.91	1.52	3.97	1.37	3.95	1.73
<i>L.paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> O54	0.0485	8.83	+	3.94	1.69	3.45	2.07	3.60	2.07	3.74	2.11
<i>L.paracasei</i> DSM5622	0.0410	2.50	-	3.81	1.30	3.67	2.03	3.63	1.67	3.68	2.05
<i>L.helveticus</i> O16	0.0432	4.31	+	3.94	1.01	3.45	1.46	3.60	1.30	3.74	1.44
<i>L.pentosus</i> O8a	0.0092	1.98	+	3.60	1.85	3.85	1.85	3.70	1.81	3.87	1.93

*: +:var; -: yok

Hidrojen Peroksite Duyarlılık

Hidrojen peroksite dayanıklılık probiyotik mikroorganizmalar için üzerinde durulan bir diğer özelliktir. Shimamura ve ark. [47] *B.longum*'un 10000 ppm'de yaklaşık %1 canlı kalma oranıyla bu bileşiğe karşı hassas, *B.infantis*'in ise aynı konsantrasyonda yaklaşık %99 canlı kalma oranıyla en dayanıklı suş olduğunu tespit etmişlerdir [31]. Bu çalışma sonuçlarına göre (Tablo 4) *L.plantarum* ve *P.pentosaceus* izolatlarının tamamı 10000 ppm H₂O₂'ye, *B.longum*'a göre daha dayanıklıdır. Bu sonuç izolatların H₂O₂'ye dayanıklılık açısından yeterli düzeyde olduğunu göstermektedir.

Gastrik Suyu ve Safra Tuzuna Dayanıklılık

Probiyotiklerin kalın bağırsağa canlı geçebilmeleri için önem taşıyan gastrik suya ve safra tuzuna dayanıklılık sonuçları Tablo 4'te verilmektedir. Probiyotik suşların seçiminde %0.3 safra tuzuna dayanıklılık ayırt edici bir

özellik olarak vurgulanmaktadır [38]. Gastrik suda en yüksek canlı kalma oranlarının, Vindorela ve Reinheimer [24] 3.0 pH'da *L.acidophilus*'ta olduğunu (0.9-3.3 log cfu/g) ve 2.0 pH'da izolatların çoğunda (*L.casei*, *L.rhamnosus*, *L.lactis*, *L.delbrueckii subsp. bulgaricus*) düşüşün >6 olduğunu tespit etmişlerdir. Klingberg ve ark. [38] tarafından 2.5 pH'da *L.plantarum* ve *L.pentosus*'un 1-4 saat arası canlı kalabildiği belirtilmiştir. 2.0 pH açısından 4 izolat, 3.0 pH açısından 8 izolat Vindorela ve Reinheimer [24] çalışması ile uyum göstermektedir.

İzolatların tümü safra tuzuna dayanıklılık gösterme açısından probiyotik starter kültür için aranan değerlere sahip oldukları; *L.plantarum* ve *P.pentosaceus*'ların ise daha dayanıklı oldukları belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar Santos ve ark. [39] ve Papamanoli ve ark. [19] tarafından bildirilenlerden çok yüksektir.

Alkole Dayanıklılık

L.plantarum O12 dışındaki tüm izolatlar %10 alkolde gelişme göstermiştir. G-Allegria ve ark. [13] tarafından da bu çalışma sonuçlarına benzer şekilde *L.plantarum* izolatlarının %7, %12 ve %13 alkolde gelişme gösterdiği tespit edilmiştir. Test edilen %10 alkol oranına dayanıklılık probiyotik özellik açısından yeterli bir düzeydir. Bu nedenle *L.plantarum* O12 dışındaki tüm izolatların probiyotik kültür için gerekli alkole dayanıklılık değerine sahip olduğu söylenebilir.

Antibiyotiklere Dayanıklılık

Laktik starter ve/veya probiyotik bakterilerin antibiyotiklere duyarlılığı büyük önem taşımaktadır. Ayrıca antibiyotiğe dayanıklılık genlerinin plazmidler aracılığıyla aktarılabileceğinin bildirilmiş olması [18] dirençli suşları da önemli kılmaktadır. Bu nedenlerle çalışmada izolatların 11 antibiyotiğe karşı duyarlılıkları belirlenmiş ve Charteris ve ark. [27] tarafından belirtilen hassasiyet değerlerine göre Tablo 5'te özetlenmiştir.

Tablo 4. İzolatlarının H₂O₂, gastrik su, Ox-bile ve alkol dayanıklılıkları

İzolatlar	% Gelişme Oranı			Canlı Sayısı Log. Düşüş		Gelişme varlığı						
	H ₂ O ₂ (ppm)			Gastrik Su		Ox-bile (katı) (%)			Ox-bile (sıvı) (%)		Alkol (%)	
	2000	10000	20000	2.0 pH	3.0 pH	3.0	5.0	9.0	9.0	10	12	15
<i>P.pentosaceus</i> O24	56	50	46	5.83	TE	+	+	+	+	+	+	-
<i>P.pentosaceus</i> O25	72	67	39	3.80	3.42	+	+	+	+	+	+	-
<i>P.pentosaceus</i> O27	95	82	78	>9.62	>10.62	+	+	+	+	+	+	-
<i>P.pentosaceus</i> O29	16	11	9	5.95	3.65	+	+	+	+	+	+	-
<i>P.pentosaceus</i> O31	5	4	4	>9.48	>10.56	+	+	+	+	+	+	-
<i>P.pentosaceus</i> O57	19	12	9	5.94	2.94	+	+	+	+	+	+	-
<i>P.pentosaceus</i> DSM20336	43	38	34	1.52	0.62	+	+	+	+	+	+	-
<i>L.lactis</i> ssp. <i>lactis</i> O3	0	0	0	5.70	0.89	+	+	+	+	+	+	-
<i>L.lactis</i> DSM20481	98	76	52	>6.31	1.08	+	-	-	+	+	+	-
<i>L.plantarum</i> O12	25	18	3	5.60	0.80	+	+	+	+	-	-	-
<i>L.plantarum</i> O13	43	15	0	4.42	1.96	+	+	+	+	+	+	-
<i>L.plantarum</i> O14	72	3	0	4.37	0.67	+	+	+	+	+	+	-
<i>L.plantarum</i> O19	55	30	18	5.90	1.97	+	+	+	+	+	+	-
<i>L.plantarum</i> O20	51	45	32	>9.90	2.22	+	+	+	+	+	+	-
<i>L.plantarum</i> O21	79	61	61	5.90	1.39	+	+	+	+	+	+	-
<i>L.plantarum</i> O23	21	12	4	5.10	3.10	+	+	+	+	+	+	+
<i>L.plantarum</i> O26	54	35	4	5.60	3.54	+	+	+	+	+	+	-
<i>L.plantarum</i> O30	67	61	50	6.15	2.28	+	+	+	+	+	+	-
<i>L.plantarum</i> O33	54	32	1	5.44	2.24	+	+	+	+	+	+	-
<i>L.plantarum</i> O41	36	22	3	5.73	1.16	+	+	+	+	+	+	-
<i>L.plantarum</i> O58	38	6	1	2.01	2.24	+	+	+	+	+	+	-
<i>L.plantarum</i> DSM20174	85	78	70	>7.17	2.31	+	+	+	+	+	+	-
<i>L.plantarum</i> O22b	81	67	58	4.54	0.80	+	+	+	+	+	+	-
<i>L.plantarum</i> O44b	45	43	38	1.07	0.33	+	+	+	+	+	+	-
<i>L.brevis</i> O11	0	0	0	5.22	1.97	+	+	+	+	+	+	+
<i>L.brevis</i> DSM20054	41	34	0	>6.53	0.64	+	+	+	+	+	+	+
<i>L.curvatus</i> O32	54	32	28	5.62	2.01	+	-	-	+	+	+	+
<i>L.curvatus</i> DSM20019	1	0	0	>3.60	1.24	-	-	-	+	+	-	-
<i>L.paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> O54	26	10	4	5.53	0.45	+	-	-	+	+	+	+
<i>L.paracasei</i> DSM5622	59	45	29	>7.06	2.99	-	-	-	-	+	+	-
<i>L.helveticus</i> O16	66	63	37	>9.59	3.48	+	+	+	+	+	+	-
<i>L.pentosus</i> O8a	0	0	0	3.98	0.17	+	+	+	+	+	+	+

TE: Tespit edilemedi.

Tüm türlere ait izolatların önemli bir kısmı polymixin B, bacitracin, kanamycin, streptomycin, gentamicin ve vancomycine dirençlidir. Chloramphenicol tüm izolatların, erythromycin ise 3 izolat hariç diğerlerinin hassas olduğu antibiyotiklerdir. Bu iki antibiyotiği hassasiyet açısından ampicillin, tetracycline ve penicillin izlemektedir. *L.curvatus* O32 izolatı ile *L.brevis* DSM20054 standart suşu sadece Chloramphenicol'e hassasiyet göstererek en dayanıklı 2 tür olmuştur.

Çalışma sonuçlarına göre aynı antibiyotiğe karşı aynı tür laktik asit bakteri suşlarının bir kısmının dayanıklı bir kısmının hassas olarak belirlenmesi literatürde yer alan çalışma sonuçlarında da [18, 27, 31, 48-50] rapor edilmiştir. Aynı tür içinde görülen bu farklılık antibiyotik dayanıklılık genlerinin büyük oranda plazmid ile kodlanması ve tür özelliği olmaması şeklinde açıklanabilmektedir.

Tablo 5. İzolatlarının antibiyotik duyarlılık testi sonuçları

İzolatlar	Antibiyotikler* ve İnhibisyon Değeri**										
	PB	AM	B	K	S	TE	E	C	CN	VA	P
<i>P.pentosaceus</i> O24	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R
<i>P.pentosaceus</i> O25	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	MS
<i>P.pentosaceus</i> O27	R	S	R	R	R	MS	S	S	R	R	MS
<i>P.pentosaceus</i> O29	R	S	R	R	R	MS	S	S	R	R	MS
<i>P.pentosaceus</i> O31	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R
<i>P.pentosaceus</i> O57	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R
<i>P.pentosaceus</i> DSM20336	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R
<i>L.lactis</i> ssp. <i>lactis</i> O3	MS	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R
<i>L.lactis</i> DSM20481	R	MS	R	R	R	MS	MS	S	R	R	MS
<i>L.plantarum</i> O12	R	S	R	R	R	MS	S	S	R	R	MS
<i>L.plantarum</i> O13	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R
<i>L.plantarum</i> O14	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R
<i>L.plantarum</i> O19	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R
<i>L.plantarum</i> O20	R	S	R	R	R	MS	S	S	R	R	MS
<i>L.plantarum</i> O21	R	S	R	R	R	MS	S	S	R	R	R
<i>L.plantarum</i> O23	R	S	R	R	R	MS	S	S	R	R	MS
<i>L.plantarum</i> O26	R	S	R	R	R	MS	S	S	R	R	MS
<i>L.plantarum</i> O30	R	S	R	R	R	MS	S	S	R	R	MS
<i>L.plantarum</i> O33	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	MS
<i>L.plantarum</i> O41	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R
<i>L.plantarum</i> O58	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R
<i>L.plantarum</i> DSM20174	R	S	R	R	R	MS	MS	S	R	R	MS
<i>L.plantarum</i> O22b	R	S	R	R	R	R	MS	S	R	R	R
<i>L.plantarum</i> O44b	R	S	R	R	R	MS	R	S	R	R	MS
<i>L.brevis</i> O11	R	R	R	R	R	MS	S	S	R	R	R
<i>L.brevis</i> DSM20054	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
<i>L.curvatus</i> O32	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
<i>L.curvatus</i> DSM20019	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	MS
<i>L.paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> O54	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R
<i>L.paracasei</i> DSM5622	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	MS
<i>L.helveticus</i> O16	R	R	R	R	R	MS	S	S	R	R	R
<i>L.pentosus</i> O8a	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R

*: PB: Poymixin B, AM: Ampicillin, B: Bacitracin, K: Kanamycin, S: Streptomycin, TE: Tetracycline, E: Erythromycin, C: Chloramphenicol, CN: Gentamicin, VA:Vancomycin, P:Penicillin G, **: R: Dirençli, MS: Yarı-hassas, S: Hassas

Ağır Metallerle Dayanıklılık

Ağır metallerden CdNO₂.4H₂O ve AgNO₃ tüm izolatlarla karşı en yüksek antimikrobiyal etkiyi gösterenler olmuştur. İzolatların büyük kısmı bu metallerden 10 ppm konsantrasyonda etkilenmişlerdir. Bu metalleri CuSO₄.5H₂O takip etmiştir. Bu sonuç gıda işlemede metal bulaşıklığına neden olmayacak materyallerden yapılmış ekipmanların ve ambalaj/depolama kabı materyallerinin kullanımının önemli olacağına işaret etmektedir. En düşük inhibitör etkiyi ise Pb(NO₃)₂ ve MgSO₄.7H₂O göstermiştir (500 ppm'de inhibitör etki yok). Bu iki metali sadece 3 izolata karşı (150 ppm üzerinde) inhibitör etki gösteren MnSO₄.2H₂O takip etmiştir (Tablo 6).

SONUÇ

Çalışmada test edilen izolatlardan *P.pentosaceus* ve *L.plantarum* izolatlarının *E.faecium* ve *L.monocytogenes* Li¹'e karşı yüksek antimikrobiyal aktivite göstermeleri, 15°C sıcaklıkta ve 3.5 pH'da gelişebilmeleri bunların asidik fermente gıdalarda starter ve/veya probiyotik kültür olarak kullanımları açısından bir avantaj olarak görülmüştür. Asidik fermente gıdaların büyük bir

kısımının üretiminde kullanılan %1-8 NaCl arasında değişen konsantrasyonlarda tuza 2 izolat hariç diğerlerinin dayanıklı olması, asit üretim miktarları ve hızları da starter kültür olarak kullanım açısından yeterli olarak değerlendirilmiştir. Proteolitik aktivite açısından ise *P.pentosaceus*'ların tamamı ve *L.helveticus* ile 4 *L.plantarum* izolatu süt starter kültürlerinde aranılan değerler açısından uygun bulunmuşlardır.

Probiyotik niteliği ortaya koyan özelliklerden biri olan hidrofobisite değerleri bazı suşlarda halen probiyotik olarak değerlendirilen suşlara yakın bulunmuştur. Bu açıdan *L.plantarum* O21 ve O22b (%50.82 ve %45.56) diğerlerinden daha iyi bulunmuştur. *L.plantarum* ile *P.pentosaceus* izolatları alkole dayanıklılık, yüksek safra tuzuna dayanıklılık ve 3.5 ile 9.6 pH da gelişme, gastrik suya ve H₂O₂'ye dayanıklılık, β-Galaktosidaz aktivitesi gösterme açısından da probiyotik starter kültür olarak değerlendirilebilecek niteliktedirler. İzolatlar Pb(NO₃)₂, MgSO₄.7H₂O, MnSO₄.2H₂O gibi metallerle diğerlerinden çok daha dayanıklı; antibiyotiklerden de polymixin B, bacitracin, kanamycin, streptomycin, gentamicin ve vancomycine dirençli bulunmaları da probiyotik olarak seçimlerinde dikkate alınacak özellikleridir.

Tablo 6. İzolatlarla karşı antimikrobiyal etki gösteren en düşük ağır metal konsantrasyonu*

İzolatlar	CrN ₃ O ₉ .9H ₂ O	N ₂ NiO ₆ .6H ₂ O	Al(NO ₃) ₃ .9H ₂ O	ZnSO ₄ .7H ₂ O	CoN ₂ O ₆ .6H ₂ O	CdN ₂ O ₆ .4H ₂ O	Pb(NO ₃) ₂	AgNO ₃	CuSO ₄ .5H ₂ O	MgSO ₄ .7H ₂ O	MnSO ₄ .2H ₂ O	Fe ₂ (SO ₄) ₃ .H ₂ O	FeSO ₄ .7H ₂ O	NaNO ₂
<i>P.pentosaceus</i> O24	300	500	300	150	-	10	-	10	150	-	-	300	-	500
<i>P.pentosaceus</i> O25	500	150	300	150	-	10	-	10	150	-	-	300	500	150
<i>P.pentosaceus</i> O27	300	-	300	150	-	10	-	10	150	-	150	300	300	300
<i>P.pentosaceus</i> O29	150	-	300	150	-	10	-	10	25	-	-	300	300	500
<i>P.pentosaceus</i> O31	150	-	300	300	-	10	-	10	50	-	-	300	-	500
<i>P.pentosaceus</i> O57	150	150	300	150	150	10	-	10	150	-	-	300	300	500
<i>P.pentosaceus</i> DSM20336	150	150	300	-	150	10	-	25	150	-	-	300	500	500
<i>L.lactis</i> ssp. <i>lactis</i> O3	50	25	300	150	150	10	-	10	25	-	150	150	150	300
<i>L.lactis</i> DSM20481	150	-	300	150	300	10	-	10	150	-	-	300	-	300
<i>L.plantarum</i> O12	150	300	300	150	150	10	-	10	150	-	-	300	-	300
<i>L.plantarum</i> O13	300	150	300	300	150	10	-	10	150	-	-	300	-	300
<i>L.plantarum</i> O14	150	500	300	300	-	10	-	10	150	-	-	300	500	500
<i>L.plantarum</i> O19	300	500	500	150	300	10	-	25	150	-	-	300	500	500
<i>L.plantarum</i> O20	300	300	300	300	300	10	-	10	150	-	-	300	-	500
<i>L.plantarum</i> O21	150	150	300	300	150	10	-	10	150	-	-	300	500	300
<i>L.plantarum</i> O23	300	-	300	150	-	10	-	10	150	-	-	300	-	-
<i>L.plantarum</i> O26	150	300	300	150	-	10	-	10	150	-	-	300	-	300
<i>L.plantarum</i> O30	300	-	300	150	-	10	-	10	150	-	-	300	-	500
<i>L.plantarum</i> O33	150	-	300	300	-	10	-	10	150	-	-	300	-	500
<i>L.plantarum</i> O41	150	-	300	150	-	10	-	10	150	-	-	300	-	500
<i>L.plantarum</i> O58	300	300	500	150	150	10	-	10	150	-	-	300	-	500
<i>L.plantarum</i> O22b	300	300	300	150	-	10	-	10	150	-	-	500	500	500
<i>L.plantarum</i> O44b	150	150	300	150	300	10	-	10	150	-	-	300	500	500
<i>L.plantarum</i> DSM20174	150	-	300	150	300	10	-	25	300	-	-	500	-	500
<i>L.brevis</i> O11	300	-	300	150	500	10	-	10	150	-	-	150	500	300
<i>L.brevis</i> DSM20054	300	-	300	150	-	10	-	10	150	-	500	500	-	300
<i>L.curvatus</i> O32	300	300	300	500	-	10	-	10	25	-	-	300	-	-
<i>L.curvatus</i> DSM20019	300	150	300	-	150	25	-	50	50	-	-	300	-	-
<i>L.paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> O54	150	150	300	300	150	10	-	10	25	-	-	300	300	500
<i>L.paracasei</i> DSM5622	500	300	500	300	150	10	-	10	300	-	-	300	-	-
<i>L.helveticus</i> O16	150	150	500	25	150	10	-	10	25	-	-	150	300	150
<i>L.pentosus</i> O8a	300	300	300	300	-	10	-	10	300	-	-	300	-	300

*: - işareti denenen hiçbir konsantrasyonda inhibisyon zonu görülmemiştir anlamına gelmektedir. (Çalışmada 10, 25, 50, 150, 300 ve 500 ppm konsantrasyonlar denenmiştir.)

KAYNAKLAR

- [1] Sharpe, M.E., Fryer, T.F., Smith, D.G., 1966. Identification of the Lactic Acid Bacteria. In Identification Methods for Microbiologist* Part A., Edited by Gibbs, M.M. and Skinner, F.A., Academic Press, New York. p. 245
- [2] Şahin, İ. (1990) Mikrobiyolojiye Giriş. Eser Matbaası, Samsun.
- [3] Çon, A.H., Gökalp, H.Y., 2001. Laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal metabolitleri ve etki şekilleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 30: 180-190.
- [4] Salminen, S., von Wright, A., Ouwehand, A. 2006. Lactic acid bacteria. *International Dairy Journal* 16: 940-941.
- [5] Leroy, F., De Vuyst, L., 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology* 15: 67-78.
- [6] Çon, A.H., 1995. Sucuktan Bakterisin- Benzeri Antimikrobiyal Metabolit Üreten Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve İdentifikasyonu ve Çeşitli Gıda Zararlısı ve/veya Gıda Kaynaklı Patojen Bakterilere Karşı Antagonistik Aktivite Araştırılması. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- [7] Schillinger, U., Lucke, F.K., 1989. Identification of Lactobacilli from meat and meat products. *Appl. Environ. Microbiol.* 4: 199-209.
- [8] Şimşek, Ö., 2003. Uşak ve Yöresi Ekşi Hamurlarından İzole Edilen Antimikrobiyal Aktiviteye Sahip Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması ve Bazı Metabolik Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Denizli.
- [9] Kostinek, M., Specht, I., Edward, V.A., Pinto, C., Egonlety, M., Sossa, C., Mbugua, S., Dortu, C., Thonart, P., Taljaard, L., Mengu, M., Franz, C.M.A.P., Holzapfel, W.H., 2007. Characterisation and biochemical properties of predominant lactic

- acid bacteria from fermenting cassava for selection as starter cultures. *Int. Journal of Food Microbiology* 114: 342-351.
- [10] Kim, S.W., Perl, L., Park, H. J., Tandianus, E.J., Dunn, W.N., 2001. Assesment of stress responce of the probiotic *Lactobacillus acidophilus*. *Current Microbiology* 43: 346-350.
- [11] Şimşek, Ö., Çon, A.H., Tulumoğlu, Ş., 2006. Isolating Lactic starter cultures with antimicrobial activity for sourdough processes. *Food Control* 17: 263-270.
- [12] Sánchez, I., Sesena, S., Poveda, J.M., Cabezas, L., Palop, L., 2005. Phenotypic and genotypic characterization of Lactobacilli isolated from Spanish goat cheeses. *Int. Journal of Food Microbiology* 102: 355- 362.
- [13] G-Allegria, E., Lopez, I., Ruiz, I.J., Saenz, J., Fernandez, E., Zarazaga, M., Dizy, M., Torres, C., 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 Microbiology Letters* 230: 53-61.
- [14] Kask, S., Adamberg, K., Orłowski, A., Vogensen, F.K., Moller, P.L., Ardö, Y., Paalme, T., 2003. Physiological properties of *Lactobacillus paracasei*, *L.danicus* and *L.curvatus* strains isolated from Estonian semi-hard cheese. *Food Research Int.* 36: 1037-1046
- [15] Randazzo, C.L., Restuccia, C., Daniele Romano, A., Caggia, C., 2004. *Lactobacillus casei*, dominant species in naturally fermented Scillian green olives. *Int. Journal of Food Microbiology* 90: 9-14.
- [16] 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. Journal of Food Microbiology* 59: 19-27.
- [17] Anonim, 2005. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Ed: A. K. Halkman. Başak Matbaacılık Ltd.Şti., Ankara.
- [18] Cebeci, A., Gürakan, C., 2003. Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Microbiology* 20: 511-518.
- [19] Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E., Kotzekidou, P., 2003. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Science* 65: 859-867.
- [20] Yüksekdağ, Z.N., Beyatlı, Y., Aslım, B., 2004. Determination of some characteristics coccoid forms of lactic acid bacteria isolated from Turkish kefirs with natural probiotic. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 37(6): 663-667.
- [21] Biriti, F.C.A., da Rocha, J.S., Assis, E.G., Saad, S.M.I., 2005. Probiotic potential of minas fresh cheese prepared with the addition of *Lactobacillus paracasei*. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.* 38: 173-180.
- [22] Elez-Martínez, P., Escolà-Hernández, J., Soliva-Fortuny, R.C., Martín-Belloso O., 2005. Inactivation of *Lactobacillus brevis* in Orange Juice By High-Intensity Pulsed Electric Fields. *Food Microbiology* 22: 311-319.
- [23] Evren, M., 1991. Turşudan Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Bunlardan Starter Kültür Üretimini Araştırılması., Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- [24] Vinderola, C.G., Reinheimer, J.A., 2003. Lactic acid starter and probiotic bacteria:a comperative “in vitro” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Research Int.* 36: 895-904.
- [25] Gardiner, G., Stanton, C., Lynch, P.B., Collins, J.K., Fitzgerald, G., Ross, R.P., 1999. Evaluation of Cheddar cheese as a food carrier for delivery of a probiotic strain to the gastrointestinal tract. *Journal Dairy Science* 82: 1379-1387.
- [26] Anderson, D.G., McKay, L.L., 1983. Simple and rapid method for isolating large plasmid DNA from lactic streptococci. *Appl. and Environ. Microbiology* 46: 549-552.
- [27] Charteris, P.W., Kelly, M.P., Morelli, L., Collins, K.J., 1998. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic Lactobacillus species. *Journal of Food Protection* 61(12): 1636-1643.
- [28] Hassen, A., Saidi, N., Cherif, M., Boudabous, A., 1998. Resistance of environmental bacteria to heavy metals. *Bioresource Technology* 64: 7-15.
- [29] Gülcan, S., 2006. Çeşitli Kaynaklardan İzole Edilen Pseudomonas Cinsi Bakterilerin Ağır Metal ve Naftalin Toleransı, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- [30] Tamang, J.P., Tamang, B., Schillinger, U., Franz, C.M.A.P., Gores, M., Holzapfel, W.H., 2005. Identification of predominant lactic acid bacteria isolated from traditionally fermented vegetable products of the Eastern Himalayas. *Int. Journal of Food Microbiology* 105: 347-356.
- [31] Karasu, N., 2006. Turşu ve Zeytinden Antagonistik ve Probiyotik Özellikte Laktik Starter Kültür Eldesi, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- [32] McKay, L.L., 1983. Functional properties of plasmids in lactic Streptococci. *Antonie Van Leeuwenhoek* 49: 259-274.
- [33] Pouwels, H.P., Leer, R. J., 1993. Genetics of lactobacilli; plasmid and gene expression. *Antonie Van Leeuwenhoek* 64: 85-107.
- [34] Venema, G., 1993. Molecular biology and genetic modifcation of Lactococci. *Journal of Dairy Science* 76(8): 2133-2144.
- [35] Kılıç, S., 2001. Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 542, İzmir.
- [36] Reinheimer, J.A., Quiberoni, A., Tailliez, P., Binetti, A.G., Suarez, V.B., 1996. The lactic acid microflora of natural whey starters used in argentina for hard cheese production. *Int. Dairy Journal* 8: 869-879.
- [37] Çon, A.H., Gökalp, H.Y., 2000. Production of bacteriosin like metabolites by lactic acid cultures isolated from sucuk samples. *Meat Science* 55: 89-96.
- [38] Klingberg, T.D., Axelsson, L., Naterstad, K., Elsser, D., Budde, B.B., 2005. Identifcation of potential probiotic starter cultures for Scandinavian-type fermented sausages. *Int. Journal of Food Microbiology* 105: 419-431.

- [39] Santos, A., San Mauro, M., Sánchez, A., Torres, J.M., Marquina, D., 2003. The antimicrobial properties of different strains of *Lactobacillus* spp. isolated from kefir. *Systematic and Applied Microbiology* 26: 434-437.
- [40] García Fontán, M.C., Lorenzo, J.M., Martínez, S., Franco, I., Carballo, J., 2007. Microbiological characteristics of botillo, a Spanish traditional pork sausage. *LWT-Food Science and Technology* 40(9): 1610-1622.
- [41] McDonald, L.C., Fleming, H.P., Hassan, H.M., 1990. Acid tolerance of *L.mesenteroides* and *L.plantarum*. *Appl Environ Microbiol.* 56(7): 2120-2124.
- [42] Badis, A., Guetarni, D., Moussa-Boudjemâ, B., Henni, D.E., Tornadijo, M.E., Kihal, M., 2004. Identification of cultivable lactic acid bacteria isolated from algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties. *Food Microbiology* 21: 343-349.
- [43] Özkalp, B., 2006. Doğal Tip *Lactococcus lactis* Suşlarının Endüstriyel Starter Kültür Potansiyellerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.
- [44] Tolonen, M., Rajaniemi, S., Pihlava, J-M., Johansson, T., Saris, P.E.J., Ryhänen, E-L., 2004. Formation of nisin, plant-derived biomolecules and antimicrobial activity in starter culture fermentations of sauerkraut. *Food Microbiology* 21: 167-179.
- [45] Yaman, A., Gökalp, H.Y., Çon, A.H., 1998. Some characteristics of lactic acid bacteria present in commercial sucuk samples. *Meat Science* 49 (4): 387-397.
- [46] Yoon, K.Y., Woodams, E.E., Hang, Y.D., 2006. Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Bioresource Technology* 97: 1427-1430.
- [47] Shimamura, S., Abe, F., Ishibashi, N., Miyakawa, H., Yaeshima, T., Araya, T., Tomita, M., 1992. Relationship between oxygen sensitivity and oxygen metabolism of Bifidobacterium species. *Journal of Dairy Science* 75(12): 3296-3306.
- [48] Zhou, J.S., Pillidge, C.J., Gopal, P.K., Gill, H.S., 2005. Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Int. Journal of Food Microbiology* 98: 211-217.
- [49] Herreros, M.A., Sandoval, H., González, L., Castro, J.M., Fresno, J.M., Tornadijo, M.E., 2005. Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Armada Cheese (a Spanish Goats' Milk Cheese). *Food Microbiology* 22: 455-459.
- [50] Temmerman, R., Pot, B., Huys, G., Swings, J., 2003. Identification and susceptibility of bacterial isolates probiotic products. *Int. Journal of Food Microbiology* 81: 1-10.
-
-