

Probiyotik Bakterilerin Düşük Sıcaklık Stresine Adaptasyonu

Firuze Ergin, Emine Mine Çomak Göçer, Ayşe Aşçı, Ahmet Küçükçetin

Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya

Geliş Tarihi (Received): 24.09.2012, Kabul Tarihi (Accepted): 17.11.2012

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): kucukcetin@akdeniz.edu.tr (A. Küçükçetin)

☎ 0 242 310 65 69 📠 0 242 227 45 64

ÖZET

Besleyici değeri ve sağlık ile ilgili olumlu özellikleri nedeniyle son yıllarda probiyotik ürünlerin tüketimine ilgi artmaktadır. Probiyotik bir gıdanın tüketimi esnasında en az 10^6 - 10^7 kob/g probiyotik bakteri içermesi gerekmektedir. Ancak pek çok probiyotik ürün bu koşulu sağlayamamaktadır. Probiyotik bir bakterinin endüstriyel prosesler esnasında ve tüketimi sonrası sindirim sisteminde karşılaştığı stres koşullarına (düşük ve yüksek sıcaklık, düşük asitlik, safra tuzu stresi vs.) karşı direnç göstererek canlı kalması gerekmektedir. Probiyotik bakterileri çevresel stres koşullarından koruyabilmek amacı ile çok sayıda yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden biri de probiyotik bakterilerin stres faktörlerine karşı adaptasyonunun sağlanmasıdır. Probiyotik bakterilerin düşük sıcaklık stresine adaptasyonu protein sentezinde ve hücre zarındaki yağ asidi bileşiminde meydana gelen değişim ile gerçekleşmektedir.

Anahtar Kelimeler: Probiyotik, Stres, Düşük sıcaklık, Adaptasyon

Adaptation of Probiotic Bacteria to Low Temperature Stress

ABSTRACT

In recent years, there has been a growing interest in consuming probiotic products mainly due to the nutritional value and healthy aspects associated with these products. Probiotic food must contain a minimum of 10^6 - 10^7 cfu/g of probiotic bacteria at use-by day. On the other hand many probiotic products fail to meet this standard. Probiotic bacteria should remain alive when exposed to stress conditions (high and low temperature, low acidity, bile stress etc.) during industrial processes and after the consumption in the digestive system. Numerous strategies have been developed to protect probiotic bacteria against environmental stresses. One of them is the adaptation of probiotic bacteria to stress factors. Adaptation of probiotic bacteria to low temperatures takes place with changing protein synthesis, and fatty acid composition of bacteria cell membrane.

Key Words: Probiotic, Stress, Low temperature, Adaptation

GİRİŞ

Günümüzde tüketiciler; sağlıklı, güvenilir ve dengeli beslenme kavramına uygun gıdaları tercih etmektedirler. Bu gıdalar arasında probiyotik bakteri içerenler, hem sağlıklı bir yaşam sürdürülebilmesi için hem de çeşitli hastalıkların tedavisinde doğal biyolojik ürünleri destekleyici olarak kullanılmaktadır. Probiyotikler; insan orijinli, sağlığa ilişkin olumlu özellikler gösteren, patojen olmayan, toksin üretmeyen, patojenlere karşı

antagonistik etkiye sahip, asit ve safra tuzlarına dayanıklılık gösterip canlı olarak bağırsak sistemine geçebilen, bağırsak hücrelerine tutunabilen, antimikrobiyal bileşikler oluşturabilen ve bağırsak mikrobiyasını stabilize edebilen canlı mikrobiyal gıda katkı maddeleridir [1]. Bakteriyel kaynaklı kolon hastalıklarının oluşum riskini azaltmak amacıyla sindirim sisteminde bulunan yararlı mikroorganizmaların desteklenmesi çalışmaları, probiyotik ürünlere yönelik ilginin artmasını sağlamıştır. Başta fermente süt ürünleri

olmak üzere, fermente et ürünlerinin, bebek mamalarının ve geliştirilme aşamasında olan pek çok gıdanın üretiminde probiyotik bakteriler kullanılabilir [2].

Birçok faktör probiyotik bakterilerin ürün içinde canlılığını sürdürmesini etkileyebilmektedir. Bu faktörler arasında probiyotik bakteri türü, ortamın pH'sı, hidrojen peroksit ve çözülmüş oksijen varlığı, laktik asit ve asetik asit gibi metabolitlerin konsantrasyonu, aşılama miktarı, inkübasyon sıcaklığı ve süresi ile depolama koşulları yer almaktadır [3]. Söz konusu faktörlere bağlı olarak probiyotik bakterilerin canlılığı ve stabilitesindeki azalma, çeşitli uygulamalarla önlenmeye ya da en aza indirmeye çalışılmaktadır. Bu önlemler arasında gıdada kullanılmak üzere asit ve tuza dayanıklı suşların seçimi, oksijen geçirgenliği olmayan ya da düşük oksijen geçirgenliği olan ambalaj kullanımı (plastik ambalaj yerine cam ambalaj kullanımı gibi), iki basamaklı fermantasyon uygulanması, prebiyotik kullanımı ve askorbik asit ilavesi yer almaktadır [4]. Bununla birlikte, son yıllarda probiyotik bakterilerin canlılığını geliştirmek üzere yapılan araştırmalar mikroenkapsülasyon uygulaması ve bakterilerin stres koşullarına karşı direnç mekanizmalarının geliştirilmesi konuları üzerine yoğunlaşmıştır [5].

Bakterilerin gelişmesini veya çoğalmasını olumsuz yönde etkileyen herhangi bir zararlı faktöre/ortama stres adı verilmektedir. Bakteriler farklı stres koşullarıyla (yüksek ve düşük sıcaklık, düşük asitlik, yüksek ozmotik basınç vs.) karşılaştıkları zaman maruz kaldıkları stres koşuluna karşı farklı direnç mekanizmaları geliştirmektedir. Bakteriler, geliştirdikleri mekanizmalar ile olumsuz koşullara ve ani çevresel değişikliklere karşı uyum gösterebilmektedir. Stres koşulları altında bakterilerde meydana gelen bu fizyolojik değişiklikler strese adaptasyon (yanıt) olarak adlandırılmaktadır [6,7]. Gıdaların işlenmesi sırasında veya tüketiminden önce bakterilerin ölüm eşiği altındaki (sublethal) stres koşullarına maruz kalması bakterilerde strese yanıtı tetiklemekte ve böylelikle bakteriler uygulanan strese adaptasyon sağlayarak canlılıklarını koruyabilmektedir [8].

DÜŞÜK SICAKLIK STRESİ

Probiyotik bakteriler, starter kültürler ile probiyotik ürünlerin üretimi ve dondurularak depolanması sırasında düşük sıcaklık stresine maruz kalmaktadır [9]. Düşük sıcaklıklarda probiyotik bakteriler canlılıklarını sürdürebilmek için enzimatik reaksiyonların yavaşlaması, hücre zarının akışkanlığının azalması, RNA polimeraz aktivitesinin bozulması ve proteinlerin zarar görmesine neden olan ozmotik basıncın artması gibi birçok durum ile mücadele etmek zorundadır. Düşük sıcaklık sonucu bakterilerin inhibisyonu ise öncelikle hücre zarının zarar görmesine ve DNA'nın denatürasyonuna dayandırılmaktadır. Bakterilerin düşük sıcaklıklara adaptasyonu hücrenin protein sentezindeki ve hücre zarının yağ asidi bileşimindeki değişimler ile gerçekleşmektedir [10].

Protein Sentezindeki Değişimler

Bakterilerin düşük sıcaklık stresine karşı sentezlediği proteinler genellikle soğuk şok proteinleri (Csp's) olarak adlandırılmalarına karşın, büyüklüklerine ve düşük sıcaklığın uygulanış yöntemine göre soğuk ortama adaptasyon proteinleri (Caps) ya da soğukla uyarılmış proteinler (Cips) olarak isimlendirilmektedir. Csp's ani sıcaklık düşüşlerinde hızlı bir şekilde geçici olarak uyarılırken, Caps düşük sıcaklıklarda gelişim süresince sentezlenmektedir. Cips, molekül ağırlığı genellikle 10 kDa'dan büyük Csp's'dir. Laktik asit bakterilerinde düşük sıcaklığa yanıt üzerine yapılan araştırmalar tamamen Csp's üzerine odaklanmıştır. Csp's, bakteri hücrelerinde birçok işlevi yerine getirmektedir. Düşük sıcaklık streşi sonucunda bakteride genetik aktarımı ve protein sentezini sağlayan replikasyon, transkripsiyon ve translasyon işlemlerini engelleyen DNA ve RNA'nın ikincil yapıları oluşmaktadır. Csp's, bakteri DNA ve RNA'sının ikincil yapılarının oluşumunu engellemek ve transkripsiyonu kolaylaştırmak için geçici olarak sentezlenen küçük proteinlerden oluşmaktadır [10].

Yapılan çalışmalarda *E. coli*'de soğukla indüklenebilen 16 protein bulunmuş ve bu proteinlerden 12 tanesi tanımlanmıştır. Bunlar; CspA ailesi ile birlikte RecA, H-NS, GyrA, NusA, PNP, Hsc66, Hsp70, IF2, CsdA ve RbfA'dır. CspA ailesi; üyeleri 69 ile 74 amino asitten oluşan, izoelektrik noktaları yaklaşık 5.5-10.7 arasında değişen, β -barrel yapıda dokuz proteinden (CspA, CspB, CspC, CspD, CspE, CspF, CspG, CspH ve CspI) oluşmaktadır [11-13]. CspA'nın en önemli özelliklerinden biri de yapısında iki adet RNA bağlama bölgesi (RNP1 ve RNP2) içermesidir. Bu özellik sayesinde RNA ve DNA'nın tek iplikçilerine bağlanabilmekte ve RNA şaperonu olarak işlev gösterebilmektedir. *E. coli*'de bulunan CspA ailesi üyelerinden dördü (CspA, CspB, CspG ve CspI) soğukla sentezlenmekteyken; CspD durma evresinin başında besin yetersizliğinde, CspC ile CspE ise 37°C'de normal gelişim süresince sentezlenmektedir. CspH ve CspF'nin ne zaman sentezlendiği ve görevleri henüz tam bilinmemektedir. Bu proteinler, optimum gelişme sıcaklığında ve düşük sıcaklıklarda tek tek ya da birlikte hücrenin canlılığına ve gelişimine katkı sağlamaktadır [14]. Bununla birlikte Csp's ve diğer benzer proteinler, bazı laktik asit bakterilerinde de tespit edilmiş ve tanımlanmıştır [7].

Wouters ve ark. [15] yaptıkları bir çalışmada, sublethal düşük sıcaklık streşi uygulanmış *Lactococcus lactis* MG1363'ün dondurma-çözündürme işlemi sonunda canlı kalma düzeyini ve protein sentez miktarlarını incelemişlerdir. Araştırmacılar, çoğalma evresinin ortasına kadar 30°C'de M17 besiyerinde geliştirilen *L. lactis* MG1363'ü 4, 10, 20°C'lerde 2 ile 4 saat sublethal düşük sıcaklık stresine maruz bırakmış ve -20°C'de 24 saat tutmuşlardır. Çalışmada, 10°C'de 2 saat sublethal düşük sıcaklık stresine maruz bırakılmış *L. lactis* MG1363'ün sayısı sublethal stres uygulanmamış *L. lactis* MG1363'e göre 10 kat daha fazla bulunurken, 10°C'de 4 saat sublethal stres uygulanmış *L. lactis* MG1363'ün sayısının stres uygulanmamışa göre 100 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte 30°C'de geliştirilen *L. lactis* MG1363'de toplam sentezlenen

protein miktarı içinde yaklaşık %0.1 CspD ve %1.6 CspE saptanırken, CspA, CspB, CspC ve CspF tespit edilememiştir. 10°C'de 4 saat sublethal stres uygulanmış *L. lactis* MG1363'de ise toplam sentezlenen protein miktarı içinde CspB yaklaşık %1.5, CspD %3.5, CspE %3.1 ve CspF %1.7 oranında belirlenirken, CspA ile CspC saptanamamıştır. Ayrıca *L. lactis* MG1363'e sublethal düşük sıcaklık stresi uygulanması sırasında besiyeri ortamına protein sentezini engelleyen chloramphenicol (100 µg/ml) ilave edildiğinde, dondurma-çözündürme işlemi sonunda *L. lactis* MG1363'ün canlı kalma düzeyinde sublethal stres uygulanmamış *L. lactis* MG1363'e göre herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Çalışmada, adaptasyon mekanizması için protein sentezinin gerekli olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Lactococcus lactis subsp. *lactis* (LL40-1, LL41-1, LL43-1) ve *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (LC10-1, LC11-1, LC12-1) suşlarının stres koşullarına adaptasyonunun incelendiği bir çalışmada, çoğalma evresindeki bakteriler 10°C'de 2 saat sublethal düşük sıcaklık stresine maruz bırakıldıktan sonra -20°C'de 24 saat tutulmuştur. 30°C'de çoğalma ve durma evresine kadar geliştirildikten sonra dondurma işlemi uygulanmış bakteri suşları ile sublethal düşük sıcaklık stresi uygulanarak dondurma işlemi uygulanan bakteri suşlarının canlı kalma düzeyleri karşılaştırılmıştır. 30°C'de geliştirilen *L. lactis* subsp. *lactis* ve *L. lactis* subsp. *cremoris* suşları dondurma işleminden sonra canlılıklarını önemli düzeyde kaybetmiştir. Bununla birlikte sublethal düşük sıcaklık stresine maruz bırakılan *L. lactis* subsp. *lactis* suşlarının tümünde canlı kalma düzeyinin 30°C'de geliştirilen *L. lactis* subsp. *lactis* suşlarına göre daha fazla olduğu tespit edilirken, sublethal düşük sıcaklık uygulamasının *L. lactis* subsp. *cremoris* suşlarının canlı kalma düzeyini etkilemediği belirlenmiştir. 30°C'de durma evresine kadar geliştirildikten sonra -20°C'de 24 saat tutulan *L. lactis* subsp. *cremoris* LC12-1 suşu dışındaki bütün suşların canlı kalma düzeyinin, 30°C'de çoğalma evresine kadar geliştirilen suşlara göre daha fazla olduğu belirlenmiştir [16].

S. thermophilus CNRZ302 suşunun düşük sıcaklığa karşı verdiği yanıt ve Csp sentezinin incelendiği bir çalışmada; 42°C'de çoğalma evresinin ortasına (OD₆₀₀=0.5) kadar geliştirilen bakteriye, 10°C ve 20°C'de 2 ile 4 saat sublethal düşük sıcaklık stresi uygulanmıştır. Uygulamadan sonra *S. thermophilus* CNRZ302, -20°C'de 24 saat tutulmuş ve 30°C'de 4 dakika süre ile çözündürülmüştür. *S. thermophilus* CNRZ302'nin canlılık durumunun incelenmesi amacıyla mikrobiyolojik analizler sublethal düşük sıcaklık stresi uygulamasından ve dondurma-çözündürme işleminin art arda 4 kez uygulanmasından sonra yapılmıştır. Sublethal düşük sıcaklık stresi uygulanmayan *S. thermophilus* CNRZ302'nin dondurma-çözündürme işlemlerinden sonra canlı kalma oranı %0.01 olarak belirlenmiştir. Çalışmada, 20°C'de 2 saat süre ile sublethal düşük sıcaklık stresi uygulanan *S. thermophilus* CNRZ302'nin canlı kalma oranı sublethal düşük sıcaklık stresi uygulanmayan *S. thermophilus* CNRZ302'ye göre 100 kat daha fazla tespit edilirken, 20°C'de 4 saat sublethal

düşük sıcaklık stresine maruz bırakılan *S. thermophilus* CNRZ302'nin canlı kalma oranının sublethal düşük sıcaklık stresi uygulanmayan *S. thermophilus* CNRZ302'ye göre 1000 kat daha fazla olduğu ortaya konulmuştur. Bununla birlikte 10°C'de 2 ve 4 saat süre ile sublethal düşük sıcaklık stresi uygulandığında *S. thermophilus* CNRZ302'nin canlı kalma oranının sublethal düşük sıcaklık stresi uygulanmayan *S. thermophilus* CNRZ302'ye göre sırasıyla 5 ve 10 kat daha fazla olduğu saptanmıştır. Sublethal düşük sıcaklık stresi uygulaması sırasında gelişim ortamına protein sentezini engelleyen chloramphenicol (100 µg/ml) ilave edilmesinin *S. thermophilus* CNRZ302'nin düşük sıcaklığa olan adaptasyonunu engellediği, dolayısıyla adaptasyon işlemi için protein sentezinin gerekli olduğu belirtilmiştir. 20°C'de 2 ve 4 saat süre sublethal düşük sıcaklık stresi uygulaması ile sırasıyla 14 ve 18 adet Csp sentezlendiği saptanmıştır. 10°C'de 4 saat sublethal düşük sıcaklık stresi uygulamasından sonra ise sadece 4 tane Csp sentezlendiği tespit edilmiştir [17].

Hücre Zarındaki Yağ Asidi Bileşiminde Değişimler

Düşük sıcaklık stresine karşı bakterilerin verdiği diğer bir yanıt, hücre zarındaki yağ asidi bileşiminin değişimidir. Dondurma sonrası bakteri hücresinin canlılığı üzerine hücre zarının bütünlüğü ve makromoleküllerin denatürasyonu etkilidir [18]. Bakteriler düşük sıcaklıklara maruz kaldıklarında hücre zarları katılaşmakta ve temel işlevlerini (taşıma, enerji üretimi, hücre bölünmesi) yerine getirememektedir. Bu nedenle bakterilerin, düşük sıcaklıklara adaptasyonu için hücre zarlarının akışkanlığını arttırmaları gerekmektedir. Bakteriler; hücre zarındaki uzun ve kısa zincirli yağ asitlerinin oranını, yağ asitlerinin doymamışlık oranını, yağ asitlerinin cis-trans oranlarını, karotenoid oranını, polar grupların büyüklüklerini ve yüklerini değiştirerek hücre zarlarının akışkanlığını arttırabilmektedir. Ancak söz konusu bu değişimler karşılaştırıldıklarında, yağ asitlerinin doymamışlık oranı ve izomerizasyonlarının değişimi ile karotenoid düzeyindeki değişim düşük sıcaklıklarda hücre akışkanlığını korumada daha önemli yer tutmaktadır [19].

Doymamış yağ asitleri grupları hücre zarının akışkanlığını arttırmaktadır. Çünkü doymamış yağ asitleri doymuş yağ asitlerine göre hücre zarının yapısını daha düzensiz hale getirmektedir. Bakteri, hücre zarının yapısında bulunan doymuş yağ asitlerinin doymamış yapıya dönüştürülmesi ile düşük sıcaklığa karşı hızlı tepki verilebilmektedir. Hücre zarının akışkanlığını arttırabilecek değişimlerden biri de yağ asidi zincirlerinin uzunluğunun azalmasıdır. Kısa zincirli yağ asitlerinde daha az sayıda C-C bağı bulunması ve erime sıcaklıklarının uzun zincirli yağ asitlerine göre daha düşük olması zar akışkanlığının sürdürülmesinde etkili olmaktadır [20].

Murga ve ark. [21] yaptıkları bir çalışmada, farklı sıcaklıklarda geliştirilen *L. acidophilus* CRL640 suşunun dondurma-çözündürme sırasında davranışları ile hücre zarındaki yağ asidi bileşimleri karşılaştırılmıştır. *L. acidophilus* CRL640, 25°C'de 72 saat (M25), 30°C'de 24 saat (M30), 37°C'de 18 saat (M37) ve 40°C'de 16 saat

(M40) inkübe edilerek durma evresine kadar geliştirilmiştir. Durma evresindeki *L. acidophilus* CRL640, -20°C'de 24 saat tutulduktan sonra 37°C'de 5 dakika süre ile çözündürülmüştür. Dondurma-çözündürme işleminden önce ve sonra *L. acidophilus* CRL640'ın dondurma işlemine direnci ve hücre zarındaki yağ asidi bileşimi belirlenmiştir. Farklı sıcaklıklarda geliştirilen *L. acidophilus* CRL640'ın dondurma-çözündürme işleminden sonra canlı kalma oranları M25 için %67, M30 için %23, M37 için %16 ve M40 için %14 olarak saptanmıştır. Gelişme sıcaklığı 25°C olanın dışındaki *L. acidophilus* CRL640'ların yağ asidi bileşimleri benzer bulunmuştur. Dondurma-çözündürme işleminden sonra M25 ile M37 örnekleri karşılaştırıldığında M25'in hücre zarında heksadekanoik asit (C 16:0) oranı 2 kat, oktadekadienoik asit (C 18:2) oranı 5 kat daha fazla bulunurken, 10 hidroksioktadekanoik asit (C 18:0, 10-OH) ve siklopropan asit (cyc 19:0) oranının ise 2 kat düşük olduğu belirlenmiştir. Çalışmada, 25°C'de gelişen *L. acidophilus* CRL640'ların dondurma-çözündürme işlemine karşı direnç olmasının temel nedeninin hücre zarında C 16:0 ve C 18:2 yağ asitlerinde meydana gelen artış olduğu sonucuna varılmıştır.

Zavaglia ve ark. [22] *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un CIDCA331, CIDCA332 ve CIDCA333 suşlarının, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*'in CIDCA132 ve CIDCA133 suşlarının ve *L. acidophilus* CIDCA134 suşunun dondurma-çözündürme işlemi sonunda hücre zarlarındaki yağ asidi bileşimini incelemiştir. Çalışmada bakteriler durma evresine kadar geliştirildikten sonra -20°C'de dondurulup 37°C'de 5 dakika süre ile çözündürülmüştür. Bakterilere aynı koşullarda ikinci kez dondurma-çözündürme işlemi uygulanmıştır. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CIDDA332 dışındaki bakterilerin hücre zarlarındaki yağ asidi bileşimi benzer bulunmuştur. Miristik, palmitik, palmitoleik, oleik ve cyc 19:0 yağ asitlerinin bakterilerin hücre zarlarındaki yağ asidi bileşiminin %90'ını oluşturduğu saptanmıştır. Bunun yanında bazı suşların hücre zarlarında az miktarda lavrik, miristoleik, pentadekanoik, heptadekanoik, margaoleik ve stearik yağ asitleri tespit edilmiştir. Dondurma-çözündürme işlemlerinden sonra *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CIDCA331, CIDCA332 ve CIDCA333 suşlarının, *L. delbrueckii* subsp. *lactis* CIDCA132 ile CIDCA133 suşlarının ve *L. acidophilus* CIDCA134'ün hücre zarında doymamış yağ asitlerinin oranı sırasıyla %42.8, %43.0, %48.8, %66.8, %70.2 ve %46.3 olarak belirlenirken, cyc 19:0 yağ asidi oranları sırasıyla %14.0, %27.2, %12.8, %1.5, %2.5 ve %15.5 olarak tespit edilmiştir. Hücre zarında tespit edilen cyc 19:0 yağ asidinin oranı suşlara göre oldukça farklılık göstermiştir. Çalışmanın sonucunda; hücre zarında düşük doymamış yağ asidi oranına sahip bakteri suşlarının dondurma-çözündürme işlemine karşı direnç gösterebilmek için hücre zarlarında cyc 19:0 yağ asidi oranını artırdığı ortaya konulmuştur.

Farklı sıcaklıklarda (25°C ve 37°C) geliştirilen *L. acidophilus* CRL640'ın dondurma-çözündürme sonrası hücre zarı stabilitesinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada 37°C'de gelişen *L. acidophilus* CRL640'ın dondurma işlemine karşı daha duyarlı olduğu ve

dondurma işlemi sırasında *L. acidophilus* CRL640 sayısının %87 oranında azaldığı tespit edilmiştir. 25°C'de geliştirilen *L. acidophilus* CRL640'ın sayısının ise dondurma işleminden sonra %33 oranında azaldığı belirlenmiştir. 25°C'de geliştirilen *L. acidophilus* CRL640'nın hücre zarında kardiolipin ve triglikozidigliserit kısımları azalmıştır. Bununla birlikte kardiolipin, diglikozidigliserit ve fosfatidigliserol kısımlarında bulunan C16:0 ile C 18:2'nin oranı sırasıyla 2 ve 5 kat artarken, nötral lipit ve kardiolipin kısımlarında bulunan cyc 19:0 ve C18:0, 10-OH yağ asitlerinin miktarı azalmıştır. Çalışma sonunda sublethal düşük sıcaklığa maruz bırakılan bakterinin donma işlemine karşı direncinin arttığı tespit edilmiştir [23].

SONUÇ

Yapılan çalışmalar, sublethal düşük sıcaklık stresine maruz kalan probiyotik bakterilerin endüstriyel proseslerde karşılaştıkları düşük sıcaklık uygulamalarına karşı adapte olabildiğini göstermektedir. Stres koşullarına adaptasyon ile probiyotik bakteriler, olumsuz çevre koşullarına karşı farklı savunma mekanizmaları geliştirerek gıda sistemleri içerisinde canlılıklarını koruyabilmektedir. Gıda üretimi ve depolanması sırasında karşılaştığı düşük sıcaklık stresinden olumsuz etkilenen probiyotik bakterilerin gıda sistemleri içerisinde canlı kalma düzeylerini arttırmaya yönelik çalışmaların artarak devam etmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Erişir, D., 2005. Dondurma Üretiminde Probiyotik Bakteri ve Fruktooligosakkarit Kullanımının Ürün Özelliklerine Etkisi Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 74 ss. İzmir.
- [2] Menrad, K., 2003. Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering* 56(2-3): 181-188.
- [3] Donkor, O.N., Henriksson, A., Vasilyevic, T., Shah, N.P., 2006. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal* 16: 1181-1189.
- [4] Şener, A., 2009. Serbest ve Mikroenkapsüle Probiyotik Bakterilerin Ticari Dondurma Üretiminde Kullanılabilirliği Üzerine Bir Araştırma. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [5] Sanders, M.E., Marco, M.L. 2010. Food formats for effective delivery of probiotics. *Annual Review of Food Science and Technology* 1: 65-85.
- [6] Dikici, A., 2009. Çevresel stres faktörlerine karşı bakteriyel adaptasyonlar ve mekanizmaları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi* 4 (3): 59-68.
- [7] Van De Guchte, M., Serror, P., Chervaux, C., Smokvina, T., Ehrlich, S., Maguin, E., 2002. Stress responses in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 82: 187-216.
- [8] Corcoran, B.M., Stanton, C., Fitzgerald, G.F., Ross, R.P. 2008. Life under stress: The probiotic stress response and how it may be manipulated. *Current Pharmaceutical Design* 14: 1382-1399.

- [9] Yılmaz, B. Ç. 2008. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* BLL27 Suşunda Farklı Stres Koşullarının Nisin Üretimi Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [10] Girgis, H.S., Smith, J., Luchansky, J.B., Klaenhammer, T.R. 2003. Stress Adaptations of Lactic Acid Bacteria. In: A. E. Yousef and V. K. Juneja (Editors), Microbial stress adaptation and food safety. CRC Press, 159–211 pp, Boca Raton, Florida.
- [11] Thieringer, H.A., Jones, P.G., Inouye, M., 1998. Cold shock and adaptation. *BioEssays* 20: 49–57.
- [12] Trevors, J.T., Bej, A.K., Mojib, N., Van Elsas, J.D., Van Overbeek, L., 2012. Bacterial gene expression at low temperatures. *Extremophiles* 16: 167–176.
- [13] Yamanaka, K., Fang, L., Inouye, M., 1998. The CspA family in *Escherichia coli* : multiple gene duplication for stress adaptation. *Molecular Microbiology* 27(2): 247–255.
- [14] Derzelle, S., Hallet, B., Francis, K.P., Ferain, T., Delcour, J., Hols, P., 2000. Changes in cspL, cspP, and cspC mRNA abundance as a function of cold shock and growth phase in *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Bacteriology* 182 (18): 5105.
- [15] Wouters, J.A., Jeynov, B., Rombouts, F.M., De Vos, W.M., Kuipers, O.P., Abee, T., 1999. Analysis of the role of 7 kDa cold-shock proteins of *Lactococcus lactis* MG1363 in cryoprotection. *Microbiology* 145: 3185–3194.
- [16] Kim, W.S., Ren, J., Dunn, N.W. 1999. Differentiation of *Lactococcus lactis* subspecies *lactis* and subspecies *cremoris* strains by their adaptive response to stresses. *FEMS Microbiology Letters* 171: 57-65.
- [17] Wouters, J.A., Jeynov, B., Rombouts, F.M., De Vos, W.M., Kuipers, O.P., Abee, T., 1999. Cold shock proteins and low-temperature response of *Streptococcus thermophilus* CNRZ302. *Applied and Environmental Microbiology* 65(10): 4436-4442.
- [18] De Angelis, M., Gobbetti, M., 2004. Environmental stress responses in *Lactobacillus*: A review. *Proteomics* 4: 106–122.
- [19] Shivaji, S., Prakash, J.S.S., 2010. How do bacteria sense and respond to low temperature? *Archives Microbiology* 192: 85–95.
- [20] Beales, N., 2003. Adaptation of microorganisms to cold temperatures, weak acid preservatives, low pH, and osmotic stress: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 3: 1-20.
- [21] Murga, M.L.F., Cabrera, G.M., De Valdez, G.F., Disalvo, E.A., Seldes, A.M., 2000. Influence of growth temperature on cryotolerance and lipid composition of *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Applied Microbiology* 88: 342–348.
- [22] Zavaglia, A.G., Disalvo, E.A., De Antoni G.L., 2000. Fatty acid composition and freeze-thaw resistance in lactobacilli. *Journal of Dairy Research* 67: 241-247.
- [23] Murga, M.L.F., De Valdez, G.F., Disalvo, E.A., 2001. Effect of lipid composition on the stability of cellular membranes during freeze-thawing of *Lactobacillus acidophilus* grown at different temperatures. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 388(2): 179–184.
-
-