

## Araştırma Makalesi

**Probiyotik Laktik Asit Bakterilerinin *Staphylococcus aureus*'a Karşı Antimikrobiyel Etkilerinin Farklı Matematiksel Modeller ile Analizi**Selin Kalkan <sup>\*a</sup><sup>a</sup> Giresun Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Giresun, Türkiye**Öz**

Bu çalışmada, probiyotik laktik asit bakterileri olan *Lactobacillus rhamnosus* ile *Lactobacillus casei* Shirota'nın karışık kültür olarak sıvı besiyerindeki *Staphylococcus aureus* üzerine antimikrobiyel etkisinin doğrusal (Basit Doğrusal, Kuadritik, Kübik ve Kuartik) ve doğrusal olmayan (Logistik, Richards, Gompertz) modellerle belirlenmesi ve antimikrobiyel etkiye bağlı olarak *Staphylococcus aureus*'un sayısındaki değişimlerin iyi ifade edecek matematiksel modelin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, *Staphylococcus aureus* Nutrient Broth (Merck) besiyerinde 37°C'de 18-24 saat boyunca geliştirilip, konsantrasyonu 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup> kob/mL düzeyine getirilmiştir. Antimikrobiyel etkinin tespiti için 10<sup>6</sup> kob/mL düzeyindeki *Lactobacillus rhamnosus* ile *Lactobacillus casei* Shirota, sıvı besiyerindeki *Staphylococcus aureus* üzerine 50, 100, 150 ve 200 µL olarak ilave edilmiştir. Kombine probiyotik laktik asit bakterileri ilave edilen örnekler, *Staphylococcus aureus* gelişimi üzerindeki antimikrobiyel etkinin tespiti amacıyla, 37 °C'de inkübasyona bırakılarak, 0, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 60 ve 72. saatlerde *Staphylococcus aureus* sayımları yapılmıştır. Sayım sonuçlarına göre, beklenildiği gibi en yüksek antimikrobiyel etki 4. saatin sonunda toplam 200 µL *Lactobacillus rhamnosus* ile *Lactobacillus casei* Shirota ilavesiyle elde edilmiştir. *Staphylococcus aureus* üzerindeki antimikrobiyel etkiyi en iyi ifade eden model tespitinde belirleme katsayısı (R<sup>2</sup>) ile hata kareler ortalaması (HKO) istatistiklerinden yararlanılarak, yalnızca kuadratik ve kübik modellerin uyumu birbirlerine oldukça benzer bulunmuştur. Fakat bu çalışmada kullanılan *Staphylococcus aureus* inaktivasyonu için kuartik modelin uygun olduğu görülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Probiyotik laktik asit bakterileri, *Staphylococcus aureus*, Matematiksel modelleme, Antimikrobiyel

**Analysis of Antimicrobial Effects of Probiotic Lactic Acid Bacteria Against *Staphylococcus aureus* by Different Mathematical Models****Abstract**

In this study, it's aimed to determine the antimicrobial effect of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus casei* Shirota, which are known as probiotic lactic acid bacteria, against to *Staphylococcus aureus* by using linear (Simple Linear, Quadratic, Cubic and Quartic) and nonlinear (Logistic, Gompertz, Richards) models and the best model to explain the change in the number of colonies of *Staphylococcus aureus* depending on the antimicrobial effect by *in*

\* Sorumlu yazar  
e-mail: [selin.kalkan@giresun.edu.tr](mailto:selin.kalkan@giresun.edu.tr)

Received: 14.11.2016  
Accepted: 31.12.2016

*vitro*. For this purpose, *Staphylococcus aureus* were growth in Nutrient Broth (Merck) at 37 °C for 18-24 hours and the concentration of *Staphylococcus aureus* colonies were brought to the level of  $10^5$ - $10^6$  CFU/mL. For the determination of antimicrobial effect *Lactobacillus casei* Shirota and *Lactobacillus rhamnosus* with a level of  $10^6$  CFU/mL were added to *Staphylococcus aureus* colonies in liquid medium with in rates 50, 100, 150 and 200 µL. Samples added combined lactic acid bacteria were incubated at 37 °C and was counted at 0, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 60 and 72 hours in order to determine of antimicrobial effect on growth of *Staphylococcus aureus* colonies. According to the result of analyzes, the highest antimicrobial effect was obtained by the addition 200 µL of *Lactobacillus casei* Shirota and *Lactobacillus rhamnosus* at fourth hour as expected. Coefficient of determination ( $R^2$ ) and mean of incorrect squares (MIS) was used for determinate of the best model which describes the antimicrobial effect against *Staphylococcus aureus* and only Quadratic and Cubic fit of the model were very similar to each other. However, it was determined that Quartic model was appropriate for the inactivation of *Staphylococcus aureus* for this study.

**Keywords:** Probiotic lactic acid bacteria, *Staphylococcus aureus*, Mathematical modeling, Antimicrobial

## Giriş

Matematiksel modeller, zaman alıcı ve maliyetli kalite kontrol analizlerinin yerine daha kısa bir zaman içerisinde sonuç alınabilecek analizlere imkan tanımaktadır ve ayrıca ekonomik açısından da faydalı olmaktadır. Modellerin, önemli bir özelliği gıda kalitesinin tespitinde bilinen faktör parametrelerinden yararlanılması ve bu parametrelerin geliştirilmesidir [1]. Modellemede kullanılan yöntemler; mikroorganizma yoğunluk ve dağılımları ile gelişme stratejilerinin belirlenmesine olanak sağlar. Matematiksel modelleme yöntemlerinin kullanım amacı, insan sağlığını tehdit eden olası mikroorganizma konsantrasyonu ile bu tehdidin ne zaman gerçekleşebileceğinin tahminidir [2,3].

Gıda üretiminde kullanılan matematiksel modeller, gıdanın kalitesindeki zamana bağlı olarak meydana gelen değişiklikleri tahmin etmek ve dolayısıyla gıdanın raf ömrünü uzatmayı hedeflemektedir. Bu modellerin bir çeşidi olan inaktivasyon modelleri ise gıda endüstrisinde; et ürünlerinde üretiminde kesme, parçalama, soğutma, paketleme ve dağıtım gibi değişik aşamalarında, et ve süt ürünlerinin raf ömürlerinin tespitinde,

fermantasyonda kullanılan özel starter kültürlerin kontrolünde, etken mikroorganizmaların gelişmesi için gerekli ortam şartlarının sağlanmasında, ürün üretiminde kullanılan farklı proseslerin optimizasyonda ve üretimde kullanılan gıda katkı maddelerinin hedef mikroorganizma üzerindeki etkilerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır [4].

Probiyotikler ise intestinal mikrobiyal dengeyi oluşturarak ve geliştirerek konakçı sağlığına yararlı etkiler yaratan canlı mikrobiyal gıda katkılarıdır. İnsan bağırsak sisteminin doğal mikrobiyotasından izole edilen probiyotik bakterilerin, sahip oldukları çeşitli besleyici ve tedavi edici özellikleri sebebiyle, fermente süt ürünleri başta olmak üzere (ayran, ekşi krema, yoğurt vb.) bebek mamaları gibi bir çok süt ürününde kullanımları oldukça yaygındır. Probiyotik bakteriler, yeterli miktarlarda alınmaları suretiyle, insan sağlığı açısından oldukça yararlı etkileri olan canlı mikroorganizmalar grubudur. Gıda ürünlerinde probiyotik olarak kullanılan *Lactobacillus* suşları, *L. acidophilus*, *L. johnsonii*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. gasseri* ve *L. reuteri*'dir. Probiyotiklerin, patojen mikroorganizmaların inhibisyonunda

birçok farklı mekanizmalar olduğu bilinmektedir. Bu mekanizmaların başlıcaları, laktik asit üreterek gıdanın pH'sını düşürmek, antimikrobiyel özellikteki mikrosin, hidrojen peroksit ve serbest radikaller benzeri bileşikleri üretmek, reseptörlere tutunmak suretiyle gıda kaynakları için yarışmak, koruyucu musin (Epitelyal veya bağ doku kaynaklı, glikoprotein ve mukoprotein karışımından oluşan mukusun ana maddesi ) oluşumunu ile SekretuarIgA yapımını uyarmaktır [5].

Önemli bir gıda patojeni olan *Staphylococcus aureus*, başta ısıtma işlemi uygulaması olmak üzere mikroorganizma sayısının azaltılması için yararlanılan bütün uygulamalara karşı oldukça yüksek bir düzeyde hassasiyete sahiptir. Buna karşılık insanlarda zehirlenmeye neden olan ve ısıtma işlemine dayanıklı enterotoksinler üretebilmektedir. *S. aureus*, özellikle başta et ve süt ürünleri olmak üzere, balık, patates, makarna ile bunlardan yapılan gıdalarda yaygın olarak bulunmaktadır. Hijyenik koşullarda üretilmeyen ve depolanmayan, ambalajsız açıkta bekletilen gıdalar stafilokokal zehirlenme açısından potansiyel tehlike arz etmektedir. Stafilokokal gıda zehirlenmeleri, *S. aureus* tarafından sentezlenen ve sindirim sistemi üzerine etkili olan enterotoksinlerin gıdalarla birlikte vücuda alınması sonucu ortaya çıkan gıda kaynaklı hastalıklardan birisidir [6]. Bu çalışmada probiyotik bir laktik asit bakterilerinden olan *L. rhamnosus* ile *L. casei* Shirota'nın sıvı besiyerindeki gıda patojeni *S. aureus*

üzerindeki antimikrobiyel etkisinin doğrusal (Basit Doğrusal, Kuadritik, Kübik ve Kuartik) ve doğrusal olmayan (Lojistik, Gompertz ve Richards) modellerle belirlenmesi ve antimikrobiyel etkiye bağlı olarak *S. aureus*'un sayısındaki değişimi açıklamak için en iyi modelin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

### Materyal-Yöntem

Çalışmada gıda patojeni olarak *Staphylococcus aureus*, probiyotik laktik asit bakterisi olarak *Lactobacillus rhamnosus* ile *Lactobacillus casei* Shirota kullanılmıştır. *S. aureus* Nutrient Broth (Merck) besiyerinde 37 °C'de 18-24 saat geliştirilip, konsantrasyonu 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup>/mL düzeyine getirilmiştir. *L. rhamnosus* ile *L. casei* Shirota ise MRS Broth (Merck) besiyerinde 30 °C'de 24 saat inkübe edilmiş ve 10<sup>6</sup>/mL düzeyine getirilmiştir.

Antimikrobiyel etkinin tespiti için *L. rhamnosus* ile *L. casei* Shirota eşit oranlarda, sıvı besiyerindeki *S. aureus* üzerine 50, 100, 150 ve 200 µL olarak ilave edilmiştir. *L. rhamnosus* ile *L. casei* Shirota ilave edilen örnekler, *S. aureus* üzerine antimikrobiyel etkinin tespiti amacıyla, 37°C'de inkübasyona bırakılarak, 0, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 60 ve 72. saatlerde Baird-Parker Agar (Merck) besiyerinde sayımları yapılmıştır. Sayım sonuçlarına göre, antimikrobiyel etkiyi açıklayan en iyi modelin tespitinde Tablo 1'de belirtilen doğrusal ve doğrusal olmayan modellerden yararlanılmıştır.

**Tablo 1.** Araştırmada kullanılan doğrusal ve doğrusal olmayan büyüme eğrisi modelleri

Model	Eşitlik
<b>Doğrusal Modeller</b>	
Basit Doğrusal	$Y_t = a + b_1 * t$
Kuadratik	$Y_t = a + b_1 * t + b_2 * t^2$
Kübik	$Y_t = a + b_1 * t + b_2 * t^2 + b_3 * t^3$
Kuartik	$Y_t = a + b_1 * t + b_2 * t^2 + b_3 * t^3 + b_4 * t^4$
<b>Doğrusal Olmayan Modeller</b>	
Lojistik	$Y_t = A * (1 + B * \exp(-k * t))^{-1}$
Richards	$Y_t = A * (1 \pm B * \exp(-k * t)) * m$
Gompertz	$Y_t = A * \exp(-B * \exp(-k * t))$

Modellerde;

$Y_t$ : t zamanda gözlenen mikroorganizma konsantrasyonu

t: Zaman

*Doğrusal modellerde;*

a, Araştırılan özellik bakımından doğrunun y eksenini kestiği başlangıç değeridir.  $b_1$ ,  $b_2$ ,  $b_3$  ve  $b_4$  ise doğrusal modellere ait regresyon katsayılarıdır.

*Doğrusal olmayan modellerde ise;*

A: Maksimum mikroorganizma konsantrasyonu,

B:  $t_1$  zamandaki mikroorganizma konsantrasyonunun,  $t_s$  zamandaki mikroorganizma konsantrasyonuna oranı,

k: Logaritmik artış hızı, bu parametre mikroorganizma konsantrasyonunun hangi hızla maksimum mikroorganizma konsantrasyonuna yaklaştığını göstermektedir.

m: Eğrinin şekli hakkında bilgi veren ve tahminlenen gelişme hızındaki değişikliğin artıştan azalışa geçtiği koşulda meydana gelen değişim noktasını göstermektedir.

A, B, k ve m parametreleri, SPSS 20 istatistik paket programı kullanılarak genelleştirilmiştir. Parametreler, en küçük kareler yöntemi ve Levenberg-Marquardt iterasyon işlemi ile tahminlenmiştir. İterasyon işleminde, yakınsama kriteri olarak  $1.0E-8$  kullanılmıştır [7,8].

Çalışmada kullanılan modellerin karşılaştırılmasında, toplam varyasyonda modelin açıkladığı kısmı gösteren  $R^2$  ve modele ait tahminlenen inaktivasyon eğrisi kullanılmıştır [9].

## Bulgular

Tablo 2'de probiyotik laktik asit bakterileri kombinasyonunun, *in vitro* koşullarda, farklı konsantrasyon ve sürelerde *S. aureus*'a karşı gösterdiği antimikrobiyel etki gösterilmiştir. Tabloda gösterilen antimikrobiyel etki incelendiğinde tüm konsantrasyonların

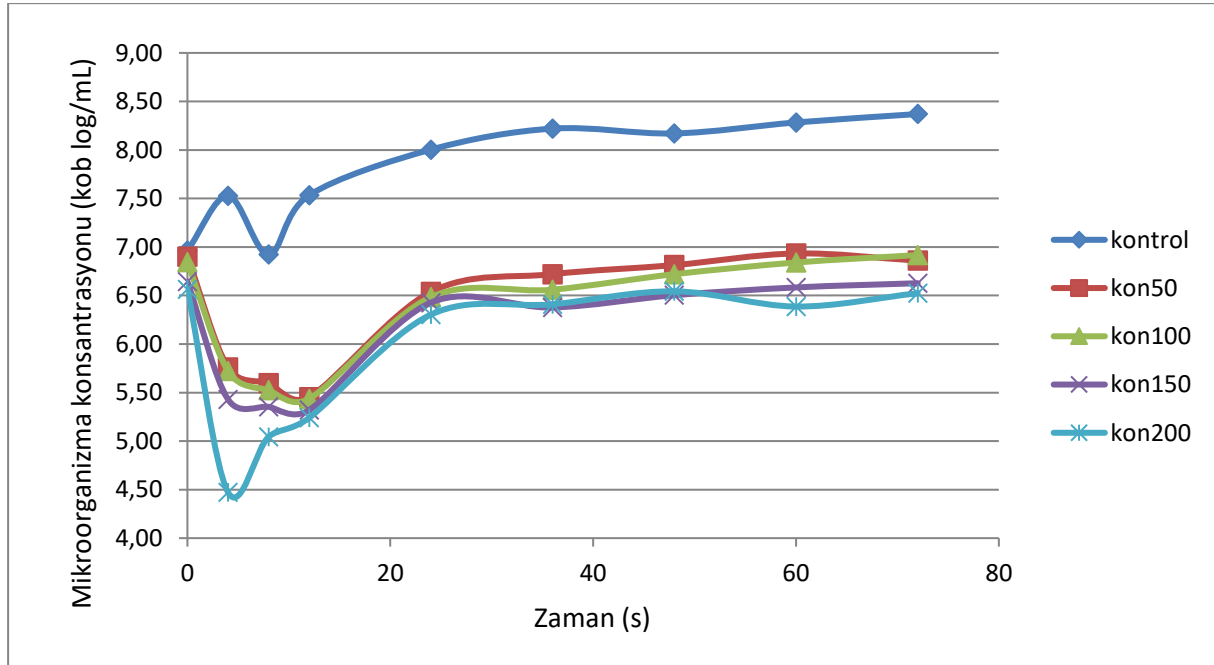
antimikrobiyel etki sağlandığı görülmektedir ve antimikrobiyel etkinin gerçekleşmesinde, konsantrasyon ile zaman arasındaki ilişki istatistiksel olarak oldukça önemlidir ( $p \leq 0,05$ ). Şekil 1'de de

gösterildiği gibi, en güçlü antimikrobiyel etki ise 4. saatin sonunda 200  $\mu$ L laktik asit bakterilerinin kombinasyonu ile elde edilmiştir ( $p \leq 0,05$ ).

**Tablo 2.** Probiyotik laktik asit bakterilerinin *S. aureus*'a karşı gösterdikleri antimikrobiyel etki (koblog/mL)

Zaman (s)	Probiyotik LAB Konstrasyonları ( $\mu$ L)				
	Kontrol*	Kon50*	Kon100*	Kon150*	Kon200*
0	6,69±0,045 <sup>Ba</sup>	6,90±0,043 <sup>Hd</sup>	6,84±0,055 <sup>Hb</sup>	6,64±0,061 <sup>Ib</sup>	6,56±0,085 <sup>Ic</sup>
4	7,53±0,065 <sup>Cb</sup>	5,76±0,055 <sup>Cb</sup>	5,72±0,115 <sup>Cd</sup>	5,43±0,117 <sup>Ca</sup>	4,47±0,117 <sup>Aa</sup>
8	6,92±0,100 <sup>Aa</sup>	5,59±0,185 <sup>Bab</sup>	5,52±0,105 <sup>Ba</sup>	5,85±0,113 <sup>Ba</sup>	5,04±0,080 <sup>Bb</sup>
12	7,53±0,165 <sup>Db</sup>	5,45±0,035 <sup>Aa</sup>	5,43±0,185 <sup>Aa</sup>	5,32±0,183 <sup>Aa</sup>	5,24±0,206 <sup>Cb</sup>
24	8,00±0,115 <sup>Ec</sup>	6,53±0,231 <sup>Dc</sup>	6,48±0,300 <sup>Db</sup>	6,42±0,130 <sup>Eb</sup>	6,30±0,180 <sup>Dc</sup>
36	8,22±0,095 <sup>Gcd</sup>	6,72±0,305 <sup>Ecd</sup>	6,56±0,150 <sup>Eb</sup>	6,37±0,265 <sup>Db</sup>	6,41±0,175 <sup>Fc</sup>
48	8,17±0,245 <sup>Fcd</sup>	6,81±0,070 <sup>Fd</sup>	6,72±0,265 <sup>Fb</sup>	6,50±0,370 <sup>Fb</sup>	6,54±0,346 <sup>Hc</sup>
60	8,28±0,130 <sup>Hd</sup>	6,93±0,115 <sup>Id</sup>	6,84±0,385 <sup>Gb</sup>	6,58±0,185 <sup>Gb</sup>	6,38±0,165 <sup>Ec</sup>
72	8,37±0,115 <sup>Id</sup>	6,86±0,065 <sup>Gd</sup>	6,91±0,440 <sup>Ib</sup>	6,62±0,165 <sup>Hb</sup>	6,52±0,405 <sup>Gc</sup>

\*A-I: Ortalamaların küçükten büyüğe doğru sıralanması; a-d: aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p \leq 0,05$ )



**Şekil 1.** Probiyotik laktik asit bakterilerinin *S. aureus*'a karşı gösterdiği antimikrobiyel etki

Doğrusal modellerle analiz için araştırmada mikroorganizma konsantrasyonu (koblog/mL) dikkate

olarak, en güçlü antimikrobiyel etkinin görüldüğü 200  $\mu$ L laktik asit bakterileri etkin antimikrobiyel dozu ile elde edilen

verilerle, kullanılan basit doğrusal, kuadratik, kübik ve kuartik modellerin parametre tahminleri yapılmıştır. İlgili

parametrelere ilişkin tanımlayıcı istatistikler Tablo 3’de gösterilmiştir.

**Tablo 3.** Probiyotik laktik asit bakterilerinin *S. aureus* konsantrasyonu üzerine antimikrobiyel etkilerinin doğrusal modellerle analiz sonucu tahminlenen parametreler

Modeller	a*	b <sub>1</sub> *	b <sub>2</sub> *	b <sub>3</sub> *	b <sub>4</sub> *	HKO	R <sup>2</sup>
Basit doğrusal	5,39±0,35	0,018±0,009	-	-	-	4,12	0,37
Kuadratik	5,28±0,48	0,032±0,037	-0,00019±0,000	-	-	1,88	0,39
Kübik	5,59±0,59	-0,042±0,090	0,00002±0,003	-0,0002±0,000	-	1,50	0,47
Kuartik	6,05±0,53	-0,243±0,126	0,001703±0,017	-0,0003±0,0017	0,0000002±0,0000011	2,67	0,73

\* Ortalama ve standart hata

Tablo 3’te de görüldüğü gibi basit doğrusal modelde belirleme katsayısı *S. aureus* konsantrasyonu için 0,370 olarak bulunmuştur. Kuadratik modelde bu değer 0,385 bulunurken, kübik model ve kuartik modelde belirleme katsayısı sırayla 0,472 ve 0,727 olarak tespit edilmiştir.

Doğrusal olmayan modellerle analiz için *S. aureus* konsantrasyonunun zamana bağlı olarak değişimi, en güçlü antimikrobiyel etkinin görüldüğü 200 µL laktik asit bakterileri etkin antimikrobiyel

dozu ile elde edilen verilerle, Logistik, Richards ve Gompertz modelleri ile incelenmiş ve elde edilen parametreler, hata kareler ortalamaları (HKO) ve belirleme katsayıları (R<sup>2</sup>) Tablo 4’de sunulmuştur.

Tablo 4 incelendiğinde, doğrusal olmayan modellerden çalışmada kullanılan Logistik, Richards ve Gompertz modellerine ilişkin R<sup>2</sup>’ler *S. aureus* konsantrasyonu için sırasıyla 0,380, 0,417 ve 0,381 olarak bulunmuştur.

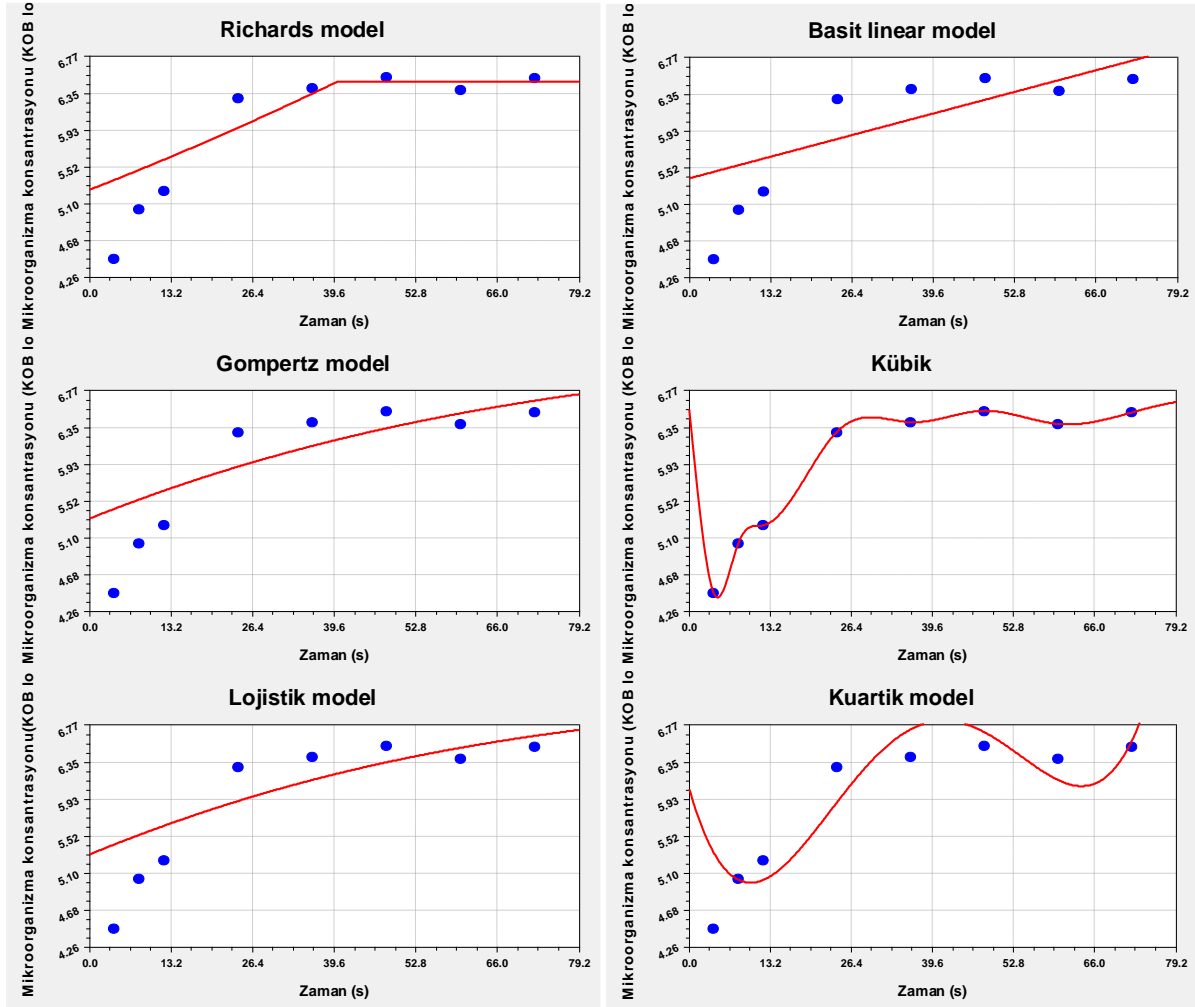
**Tablo 4.** Probiyotik laktik asit bakterilerinin *S. aureus* konsantrasyonu üzerine antimikrobiyel etkilerinin doğrusal olmayan modellerle analiz sonucu tahminlenen parametreler

Modeller	A*	B*	k*	m*	HKO	R <sup>2</sup>
Lojistik	7,166478±3,685974	0,349138±0,636011	0,20709±0,060985	-	3,444	0,380
Richards	6,480000±0,444382	452,445007±145114	11,32279±36314311	2165,407±6945165205	0,798	0,417
Gompertz	7,360±2,691	0,324±0,341	0,160±0,310	-	10,367	0,367

\* Ortalama ve standart hata

*S. aureus* için mikroorganizma konsantrasyonuna ait doğrusal ve doğrusal olmayan modeller kullanılarak çizilen inaktivasyon eğrileri Şekil 2’de verilmiştir. Her bir model için tespit edilen mikroorganizma konsantrasyonu

ortalamaları ve gözlenen değerlerin, aynı probiyotik laktik asit bakteri kombinasyonu konsantrasyonuna (200 µL) ait ortalamaları kullanılarak zamana göre değişimi gösterilmiştir.



**Şekil 2.** *S. aureus* konsantrasyonu ile çalışmada kullanılan doğrusal ve doğrusal olmayan modellere göre tahminlenen konsantrasyon (koblog/mL) değişimi

Çalışmada kullanılan probiyotik laktik asit bakterilerinin *S. aureus*'a karşı kombine antimikrobiyel etkisinin belirlenebilmesi amacıyla, 0. saatten itibaren 72. saate kadar aralıklarla 9 kez *S. aureus* konsantrasyonu tespiti yapılmıştır. Şekil 2 dikkate alındığında kübik ve kuartik modellerinin uyumunun iyi olduğu dikkat çekmektedir.

### Tartışma

Bağırsak mikrobiyotasında doğal olarak bulunan probiyotik bakteriler, hastalıklara karşı insan sağlığını koruyucu etkiye sahip mikroorganizmalardır. Probiyotik bakterilerin, bilindiği üzere

laktik ve asetik asit gibi organik asitlerle, hidrojen peroksit ve bakteriyosin üretme potansiyelleri bulunmaktadır. Laktik ve asetik asit, probiyotik özellikteki bakterilerin ürettikleri organik asitlerin yaklaşık %90'ını oluştururken, sitrik, hippurik, orotik ve ürik asit gibi diğer asitler az miktarda üretirler. Bağırsak kökenli laktobasillerin antimikrobiyel özellikte olduğu yapılan birçok araştırma ile belirlenmiştir. Sindirim sisteminde yer alan probiyotik özellikli bakterilerin ürettiği laktik ve asetik asitten kaynaklı olarak pH'nın azalması, patojenik bakteriler üzerine inhibisyon etkisi yapmaktadır. Probiyotik bakterilerin sentezlediği bakteriyosinlerin, *Staphylococcus aureus*

ve *Clostridium perfringens* gibi Gram pozitif özellikteki bakterilere karşı, *Salmonella Typhimurium* ve *Escherichia coli* gibi Gram negatif özellikteki bakterilerden daha etkili antibakteriyel etki gösterdiği bilinmektedir. Bakterilere karşı organik asitlerle birlikte gıda ortamında hidrojen peroksit varlığı, tek başına laktik asit veya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulamasından daha etkili olmaktadır [10]. *S. aureus*'un inaktivasyonu hakkında yapılan çalışmalardan birinde Çon ve Gökalp (2000), 51 fermente sucuk örneğinden laktik asit bakteri suşlarını izole etmişlerdir. Araştırmacılar, izole edilen bu laktik asit bakterisi suşlarından biri olan *Lactobacillus plantarum*'un *Staphylococcus aureus* ST 44 üzerine güçlü antimikrobiyel etki gösterdiğini, *Escherichia coli* NRRL B-3704 üzerine ise herhangi bir antimikrobiyel etkisinin bulunmadığını, *Listeria monocytogenes* Li6 suşu üzerine ise zayıf antimikrobiyel etki gösterdiğini rapor etmişlerdir. Yine aynı çalışmada izole edilen bir diğer suş olan *Lactobacillus curvatus*'un ise *Staphylococcus aureus*'a karşı güçlü bir antimikrobiyel etkiye sahip olduğunu ancak *Escherichia coli* üzerine ise zayıf bir antimikrobiyel etki gösterdiğini tespit etmişlerdir [11]. Laktik asit bakterilerinin antimikrobiyel özellikleri ile ilgili yapılan diğer bir çalışmada, Aslım ve ark. (2000), laktik asit bakterilerinin sentezlediği bazı metabolik ürünlerin hem ayrı ayrı hem de kombine kullanımları halinde bazı gıda patojeni mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyel etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada bu amaçla, 5 adet *Lactobacillus bulgaricus* suşu ile yine 5 adet *Streptococcus thermophilus* suşundan yararlanılmıştır. Bu suşların sentezlediği laktik asit, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, asetaldehit, diasetil gibi metabolik ürünlerin önemli gıda patojenlerinden olan *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'ye karşı antimikrobiyel etkileri belirlenmiştir. Yine, *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* suşların rastgele

kombinasyonları oluşturularak, sentezlenen metabolik ürünlerin ve *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* üzerine antimikrobiyel etkileri de tespit edilmiştir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, diasetil, asetaldehit gibi sentezlenen metabolitlerin inhibisyon etkisi tespit edilemezken, laktik asidin 5-20 mg/mL konsantrasyon düzeylerinde *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* üzerinde bakterisidal etkisi olduğu belirlenmiştir [12]. Yine farklı bir çalışmada, Chuayana ve ark. (2003), bazı süt ürünlerinden izole edilen probiotik özellikteki laktik asit bakterilerin *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* gibi gıda patojenleri üzerine antimikrobiyel etkilerini araştırmışlar ve *Lactobacillus casei*'nin bu patojen bakterilere karşı inaktivasyon etkisi gösterdiğini bildirmişlerdir [13]. Yürütülen çalışma ile elde edilen veriler, literatür bilgilerine benzer olarak, çalışmada kullanılan probiyotik laktik asit bakterilerinin *S. aureus*'un gelişimi ve inaktivasyonu üzerine özellikle ilk 12 saat içerisinde oldukça etkili olduğunu göstermiştir. Yapılan literatür taramaları sonucunda *S. aureus*'un gelişme-inaktivasyon modelleme çalışmalarının genellikle az olduğu ve yapılan çalışmaların *in vivo* koşullarda gerçekleştirildiği görülmektedir. Bu çalışmalardan biri olan Lee ve ark. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, Patojen Modelleme Programı (2013) kullanılarak çığ domuz etlerine inoküle edilen *S. aureus*'un 10, 15 ve 25 °C gibi farklı sıcaklıkta gelişimin tahmini modellenmesi gerçekleştirilmiş ve Gompertz modelin *S. aureus*'un gelişimin tahmininde diğer modellere kıyasla daha yeterli olduğu tespit edilmiştir [14].

Gıdalarda mikroorganizmaların inaktivasyonlarının modellerle ifade edilmesi, bu modellerin daha sonra benzeri durumlarda deney yapmadan tahminde bulunulmasına imkan verdiği için çok



önemlidir. Deneysel verileri hangi modelin daha iyi temsil ettiğinin, bazı itirazlar olsa da, en basit yolu determinasyon katsayılarının ( $R^2$ ) karşılaştırılmasıdır. Ancak parametre sayısının aynı olmaması durumunda daha farklı yöntemler (F testi) kullanılmaktadır [15].

Dolayısıyla bu çalışmada mikroorganizma konsantrasyonundaki inaktivasyon düzeyi dikkate alınarak *S. aureus* için inaktivasyonun zaman içindeki değişimini açıklamak için doğrusal ve doğrusal olmayan büyüme modellerinden yararlanılmıştır. Bu modeller, Basit Doğrusal, Kuadratik, Kübik, Kuartik, Lojistik, Gompertz ve Richards modelleridir. *S. aureus* konsantrasyonu için doğrusal ve doğrusal olmayan modeller  $R^2$  değerinin büyüklüğü ve HKO'sının küçüklüğü açısından karşılaştırıldığında, Kübik ve Kuadratik modeller birbirlerine oldukça yakın bulunmuştur (Tablo 3). Kuartik modelde  $R^2=0.727$  ile en küçük ve HKO=2,668 olduğu tespit edilmiştir. Bu durum Şekil 2'deki inaktivasyon eğrisi grafiği ile de görülmektedir. Gompertz modelde ise  $R^2=0,367$  ile en küçük ve HKO=10,367 olduğu tespit edilerek, modelin HKO açısından diğer modellerle uyumlu olmadığı belirlenmiştir.

Basit Doğrusal, Kuadratik, Kübik, Lojistik, Richards ve Gompertz modeller  $R^2$  ve HKO değerleri açısından değerlendirildiğinde, modeller arasında anlamlı bir üstünlük bulunmadığı belirlenmiştir. Bahsi geçen modeller arasında basit doğrusal modelin diğer doğrusal ve doğrusal olmayan modeller ile benzer bir uyum sergilemesi halinde, basit doğrusal modelin tercih edilmesi önerilmektedir [16]. Fakat  $R^2$  değerleri açısından karşılaştırma yapıldığında en uygun değerler kuartik model ile elde edilmiştir. Dolayısıyla bu çalışmada *S. aureus* kolonilerinin, 200  $\mu$ L probiyotik laktik asit bakterileri kombinasyonu ile zamana bağlı inaktivasyonunu açıklamak

için doğrusal inaktivasyon modellerinden kuartik model tercih edilebilir.

## Sonuç

Sonuç olarak, *Staphylococcus aureus*'a karşı probiyotik laktik asit bakterilerinin antimikrobiyel etkilerini en iyi açıklayan model tespitinde belirleme katsayısı ( $R^2$ ) ile hata kareler ortalaması (HKO) istatistiklerinden yararlanılarak, çalışmada kullanılan tüm modellerin uyumlarının birbirlerine oldukça benzer olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu çalışmada kullanılan *Staphylococcus aureus* kolonileri için “**Kuartik model**”in uygun olduğu görülmektedir. Ayrıca, yapılan regresyon analizine göre *Staphylococcus aureus* koloni sayısı denklemi;

$$Y=6,0500,243*(zaman)+0,001703*(zaman)^2-0,0003*(zaman)^3+0,0000002*(zaman)^4$$

olarak tespit edilmiştir.

## Kaynaklar

[1] Wijtzes T, De Wit JC, Huis In Veld HJ, Van Riet K, Zwietering M H, 1995. Modelling bacterial growth of *Lactobacillus curvatus* as a function of acidity and temperature. Applied and Environmental Microbiology, 61(7): 2533-2539.

[2] Soboleva TK, Pleasants G, Roux G, 2000. Predictive microbiology and foodsafety. International Journal of Food Microbiology, 57:183 – 192.

[3] Keyvan E, Özdemir H, 2010. Prediktif mikrobiyoloji ve gıda endüstrisinde önemi. Elektronik Mikrobiyolojisi Dergisi, 8 (2):11-25.

[4] Oğuzhan P, Yangılar F, 2013. Gıdalarda mikroorganizma inaktivasyonunun modellenmesi ve

uygulaması. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 10(3): 54-58.

[5] Arat Maden E, Altun C, 2012. Probiyotikler ve ağız sağlığı. Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg., 22(3):334-339.

[6] Küçükçetin A, Milci S, 2008. *Staphylococcus aureus* ile kontamine olan peynirlerden kaynaklardan gıda zehirlenmeleri. Gıda, 33(3):129-135.

[7] Akbaş Y, Taşkın T, Demirören E, 1999. Farklı modellerin Kıvırcık ve Dağlıç erkek kuzularının büyüme eğrilerine uyumunun karşılaştırılması. Turkish J. Vet. and Anim. Sci., 23(Supplement 3): 537-544.

[8] Akbaş Y, Fırat MZ, Yakupoğlu Ç, 2001. Comparison of different models used in the analysis of repeated measurements in animal science and their SAS applications. Agricultural Information Technology Symposium, Sütçü İmam University, Agricultural Faculty, Kahramanmaraş, Türkiye.

[9] Bayram B, Akbulut Ö, 2009. Esmer ve siyah alaca sığırlarda büyüme eğrilerinin doğrusal ve doğrusal olmayan modellerle analizi. Hayvansal Üretim, 50(2):33-40.

[10] Sağdıç O, Küçüköner E, Özçelik S, 2004. Probiyotik ve prebiyotiklerin fonksiyonel özellikleri. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg., 35 (3-4): 221-228.

[11] Çon A H, Gökalp H Y, 2000. Production of bacteriocin-like metabolites by lactic acid cultures isolated from sucuk samples. MeatScience, 55: 89-96.

[12] Aslım B, Beyatlı Y, Halkman K, 2000. Yoğurt starter kültür metabolitlerinin inhibisyon etkisi. Turk J Biol., 24: 65-78.

[13] Chuayana JR, Ponce CV, Rivera MRB, Cabrera EC, 2003. Antimicrobial activity of probiotics from milk products. Phil. J. Microbiol. Dis., 32(2): 71-74.

[14] Lee YOJ, Jung BS, Kim K, Paik H, 2015. Predictive model for the growth kinetics of *Staphylococcus aureus* in raw pork developed using Integrated Pathogen Modeling Program (IPMP) 2013. Meat Science, 107: 20–25.

[15] Çoksöyler N, 2006. Gıdalarda mikroorganizmaların inaktivasyonunun modellenmesi. Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, Türkiye.

[16] Yıldız G, Soysal MĞ, Gürcan E K, 2009. Tekirdağ ilinde yetiştirilen Karacabey merinosu x kıvırcık melezi kuzularda büyüme eğrisinin farklı modellerle belirlenmesi. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 6(1): 11-19.