



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



GELENEKSEL OLARAK ÜRETİLEN TURŞULARDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN PROBİYOTİK POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Miray Gizem BAŞDOĞAN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

İzmir
2020

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**GELENEKSEL OLARAK ÜRETİLEN
TURŞULARDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN PROBİYOTİK POTANSİYELİNİN
BELİRLENMESİ**

Miray Gizem BAŞDOĞAN

Danışman: Doç. Dr. İlkin ŞENGÜN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Yüksek Lisans Programı

İzmir

2020

Miray Gizem BAŞDOĞAN tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “Geleneksel Olarak Üretilen Turşulardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Potansiyelinin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 17.01.2020 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı

: Doç. Dr. İkin Ergelen

Raportör Üye

: Doç. Dr. Pınar YALÇIN

Üye

: Doç. Dr. Sani MARGALİ

.....
.....
.....

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Geleneksel Olarak Üretilen Turşulardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Potansiyelinin Belirlenmesi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

17/01/2020

Miray Gizem BAŞDOĞAN

ÖZET**GELENEKSEL OLARAK ÜRETİLEN TURŞULARDAN İZOLE
EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN PROBİYOTİK
POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ**

BAŞDOĞAN, Miray Gizem

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Bilimi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. İlkin ŞENGÜN

Ocak 2020, 97 sayfa

Bu çalışmada, farklı formülasyonlarla geleneksel olarak üretilen turşulardan izole edilen laktik asit bakterilerinin (LAB) probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Probiyotik LAB suşlarının izolasyonu için İzmir ili çevresinde evlerde geleneksel yöntemlerle üretilen toplam on bir örnek [şalgam turşusu (A), karışık turşu (B, D, E), kırmızı biber turşusu (C), domates turşusu (F), lahana turşusu (G, H), fasulye turşusu (I) ve bamya turşusu (J)] toplanmış ve bu örneklerden toplam 114 adet LAB izole edilmiştir. İzolatlara probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla farklı pH, sıcaklık ve tuz değerlerinde gelişim, safra tuzuna tolerans, antimikrobiyal aktivite, %0.4 (h/h) fenole dayanıklılık, pepsin ve pankreatin varlığında gelişim, antibiyotiklere karşı direnç, hemolitik aktivite, proteolitik aktivite ve β -Galaktosidaz aktivitesi analizleri uygulanmıştır. Tüm bu analizler sonucunda probiyotik özellikte olabileceği düşünülen izolatları temsilen toplam 15 izolat moleküler düzeyde *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus parvulus* ve *Lactobacillus parabuchneri* olarak tanımlanmıştır.

Anahtar sözcükler: turşu, probiyotik, laktik asit bakterisi, fermente sebze

ABSTRACT**DETERMINATION OF PROBIOTIC POTENTIAL OF LACTIC ACID
BACTERIA ISOLATED FROM PICKLES PRODUCED
TRADITIONALLY**

BAŞDOĞAN, Miray Gizem

MSc in Food Eng.

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İlkin ŞENGÜN

January 2020, 97 pages

The aim of the present study was to examine the probiotic properties of lactic acid bacteria (LAB) isolated from traditionally produced pickles. Total eleven different samples [pickled turnips (A), mixed pickles (B, D, E), salt pickled red peppers (C), pickled tomatoes (F), sauerkraut (G, H), pickled beans (I), pickled okras (J)] produced at homes by traditional methods were collected around Izmir city for the isolation of probiotic LAB strains and 114 LAB isolate were isolated from these samples. Development of different pH, temperature and salt values, tolerance to bile salt, antimicrobial activity, resistance to 0.4% (h/h) phenol, development in the presence of pepsin and pancreatin, resistance to antibiotics, hemolytic activity, proteolytic activity and β -Galactosidase activity analyzes were applied to the isolates for determining probiotic properties. As a result of all these analyzes; a total of 15 isolates, representing the isolates that might be probiotic properties, were identified as *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus parvulus* and *Lactobacillus parabuchneri* at molecular level.

Key words: pickle, probiotic, lactic acid bacteria, fermented vegetable

ÖNSÖZ

Turşu, tüm Dünya’da çeşitli formülasyonlarla üretilen ve tüketimi çok yaygın fermente bir üründür. Meyve veya sebzelerin fermentasyona tabi tutulması sonucu elde edilen turşu, mikrobiyolojik açıdan oldukça zengin bir kaynaktır. Turşunun doğal florasını ağırlıklı olarak laktik asit bakterileri oluşturmaktadır. Bu durum, çeşitli hammaddelerden farklı yöntemler kullanılmak suretiyle üretilen turşularda bulunan mikroorganizmaların probiyotik özellikte olması ihtimalini de arttırmaktadır. Ülkemizde geleneksel yöntemlerle farklı hammaddelerden üretilen turşuların doğal florasında yer alan probiyotik özellikteki mikroorganizmaların izolasyon ve tanımlanmasına yönelik sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu tez çalışmasında; farklı formülasyonlarla geleneksel olarak üretilen turşulardan izole edilen laktik asit bakterilerinin probiyotik özellikler açısından detaylı şekilde incelenmesi ve böylece bu ürün grubunun probiyotik potansiyelinin belirlenmesi amaçlanmaktadır. Bu nedenle bu tez çalışmasının ilk aşamasında farklı formülasyonlarla üretilen turşularda mikrobiyolojik (laktik asit bakterisi, asetik asit bakterisi ve küf-maya sayımları) ve kimyasal analizler (pH, toplam asitlik, tuz) yapılmasının ardından, örneklerden laktik asit bakterileri izole edilmiş ve bu izolatlar uzun süreli muhafaza amacıyla stoğa alınmıştır. Çalışmanın üçüncü aşamasında, elde edilen izolatların probiyotik özellik belirlemeye yönelik testler (farklı pH değerlerinde gelişme, farklı sıcaklıklarda gelişme, safra tuzlarına tolerans, farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme, pepsin ve pankreatin varlığında gelişme, antibiyotiklere karşı direnç, hemolitik aktivite, antimikrobiyal aktivite, fenole dayanıklılık, enzim aktivitesinin belirlenmesi) uygulanmıştır. Çalışmanın son aşamasında ise, probiyotik özellikleri belirlenen izolatların genotipik tanımlaması yapılmıştır. Böylelikle bu çalışma kapsamında farklı formülasyonlarla üretilen turşuların laktik asit bakterisi çeşitliliği ile bu bakterilerin probiyotik potansiyeli ortaya konmuştur.

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

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇ KAPAK	i
KABUL ONAY SAYFASI	iii
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Laktik Asit Bakterileri	2
2.2 Probiyotikler	3
2.2.1 Probiyotik mikroorganizmaların sağlık üzerine etkileri	5
2.2.2 Probiyotiklerin taşınması gereken özellikler	9
2.3 Fermente Gıdalar	13
2.3.1 Fermente ürünlerin sağlık üzerine yararları.....	14
2.3.2 Fermente bitkisel ürünler	16
2.3.3. Turşu	19
2.3.4 Sebze fermantasyonunun probiyotik ile ilişkilendirildiği çalışmalar	21
3.MATERYAL VE METOT	26
3.1.Materyal	26
3.2. Kimyasal Analizler	30
3.2.1 pH	30
3.2.2 Toplam asitlik	30
3.2.3 Tuz	30

İÇİNDEKİLER (Devamı)

	<u>Sayfa</u>
3.3. Mikrobiyolojik Analizler	31
3.3.1 Mikrobiyolojik sayımlar ve izolasyon	31
3.4. Laktik Asit Bakterisi İzolatlarının Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi	32
3.4.1. Gram boyama	32
3.4.2. Farklı pH değerlerinde gelişimin belirlenmesi	33
3.4.3. Farklı sıcaklıklarda gelişimin belirlenmesi	33
3.4.4. Safra tuzlarına toleransın belirlenmesi	33
3.4.5 Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimin belirlenmesi	33
3.4.6 Antimikrobiyal aktivite	34
3.4.7 %0.4 (h/h) fenol'e dayanıklılık	34
3.4.8 Pepsin ve pankreatin varlığında gelişimin belirlenmesi	34
3.4.9 Antibiyotiklere karşı direncin belirlenmesi	35
3.4.10 Hemolitik aktivite	35
3.4.11 Enzim aktivitesinin belirlenmesi	36
3.4.12 Probiyotik özellik gösteren izolatların genotipik olarak tanımlanması	38
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	41
4.1 Turşu Örneklerinin Fizikokimyasal Özellikleri	41
4.1.1 pH	41
4.1.2 Toplam asitlik	42
4.1.3 Tuz	43
4.2 Turşu Örneklerinin Mikrobiyolojik Özellikleri	45
4.3 Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu	46
4.4 İzolatların Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi	47
4.4.1 Farklı pH değerlerinde gelişim	47
4.4.3 Farklı sıcaklıklarda gelişim	49
4.4.4 Safra tuzlarına tolerans	51

İÇİNDEKİLER (Devamı)

	<u>Sayfa</u>
4.4.5.Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim	54
4.4.6 Antimikrobiyal aktivite.....	56
4.4.7 % 0.4 (h/h) fenol'e dayanıklılık.....	60
4.4.8.Pepsin ve pankreatin varlığında gelişim	62
4.4.10. Hemolitik aktivite	68
4.4.11 Enzim aktivitesinin belirlenmesi	69
4.4.12.Probiyotik özellik gösteren izolatların genotipik olarak tanımlanması	71
5. SONUÇ.....	78
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	82
TEŞEKKÜR	97
ÖZGEÇMİŞ.....	98

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1 Meyve ve sebzelerin genel fermantasyon süreci	18
Şekil 3.1 Turşu örneklerine ait petri görüntüleri.....	29
Şekil 3.2. Tirozin standart eğrisi	38
Şekil 4.1 İzolatların mikroskopik görüntüleri	75
Şekil 4.2. İzolatların 16S rRNA PCR ürünlerinin agoroz jeldeki görünüşleri	77
Şekil 4.3 İzolatların DNA dizilerine bağlı olarak oluşturulmuş filogenetik ağaç..	77

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1 Probiyotik özellik gösteren mikroorganizmalar	4
Çizelge 2.2 Fermente bitkisel ürünlerde bulunan başlıca LAB (Battcock and Azam-Ali, 2001).	17
Çizelge 2.3 Asya ülkelerinde üretilen fermente meyve- sebze ürünlerinin mikroflorası.....	21
Çizelge 3.1. Analize alınan turşu örnekleri	26
Çizelge 3.2 Konvansiyonel PCR Miks Miktarları	39
Çizelge 3.3 PCR termal profil	39
Çizelge 4.1 Turşu örneklerinin pH değeri	41
Çizelge 4.2 Turşu örneklerinin toplam asitliği	42
Çizelge 4.3 Turşu örneklerinin %tuz miktarı	44
Çizelge 4.4 Turşu örneklerinde mikrobiyolojik sayım sonuçları	45
Çizelge 4.5 İzolat sayısı ve izolasyon kaynakları	46
Çizelge 4.6 İzolatların farklı pH değerlerinde gelişimi	47
Çizelge 4.7. İzolatların farklı sıcaklık değerlerinde gelişimi.....	50
Çizelge 4.8 İzolatların safra tuzu varlığında gelişimi	52
Çizelge 4.9 İzolatların farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimi	55
Çizelge 4.10 İzolatların antimikrobiyal aktiviteleri.....	57
Çizelge 4.11 İzolatların fenol varlığında gelişimi	60
Çizelge 4.12. İzolatların pepsin ve pankreatin varlığında gelişimi	64
Çizelge 4.13. İzolatların antibiyotiklere karşı direnci	66

ÇİZELGELER DİZİNİ (devamı)ÇizelgeSayfa

Çizelge 4.14. İzolatların hemolitik aktivitesi68

Çizelge 4.15 İzolatların proteolitik aktivitesi.....70

Çizelge 4.16. İzolatların temsil ettiği gruplar72

Çizelge 4.17. Temsili seçilen izolatların probiyotik özellik belirlemeye yönelik yapılan testler üzerinde sergilediği sonuçlar73

Çizelge 4.18 İzolatların moleküler tanı sonuçları75



1. GİRİŞ

Çeşitli teknolojik seçenekler arasında fermantasyon, sebzelerin raf ömrünü, duyuusal ve besin özelliklerini korumak ve/veya geliştirmek amacıyla uygulanan basit ve değerli bir biyoteknolojik işlem olarak düşünülebilmektedir (Rodríguez ve ark., 2009). Sebze fermantasyonu ile elde edilen ürünler arasında en yaygın ürünlerden biri de turşudur.

Turşu, tüm Dünya’da çeşitli formülasyonlarla üretilen ve tüketimi çok yaygın fermente bir üründür. Meyve veya sebzelerin fermantasyona tabi tutulması sonucu elde edilen turşu, mikrobiyolojik açıdan oldukça zengindir. Laktik asit bakterilerinin, çeşitli fermente edilmiş taze sebzeler de dahil olmak üzere sağlıklı gıdaların muhafaza edilmesinde ve üretiminde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Ji et al., 2007). Turşunun doğal florasını ağırlıklı olarak laktik asit bakterileri oluşturmaktadır. Bazı araştırmacılar, sebze turşularında laktik asit bakterilerini tanımlamışlar ve en sık izole edilen türler arasında *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc citreum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus brevis* ve *L. plantarum* ve *L. paraplantarum*’un bulunduğunu tespit etmişlerdir (Battcock and Azam-Ali, 2001; Chiu et al., 2008; Yan et al., 2008; Rodríguez et al., 2009; Nguyen et al., 2013; Tamang, 2019). Çeşitli hammaddelerden farklı yöntemler kullanılmak suretiyle üretilen turşulardan izole edilen laktik asit bakterileri incelendiğinde, bu mikroorganizmaların probiyotik özellikte olma ihtimalinin yüksek olduğu görülmektedir.

2016 yılında yapılan bir araştırmaya göre turşu ihraç eden 15 ülke olduğu ve Türkiye’nin (72.1 milyon dolar, % 13.8) bu sıralamada önemli bir yere sahip olduğu belirtilmiştir. Ülkemiz turşu ihracatında bu kadar önemli yere sahipken, farklı meyve ve sebzelerden üretilen turşuların mikrobiyal çeşitliliğini ve bu mikroorganizmaların probiyotik özelliklerini belirlemeye yönelik yapılan çalışmalar ise yok denecek kadar az sayıdadır. Bu nedenle, bu çalışma kapsamında, geleneksel olarak evlerde üretilen farklı turşuların mikrobiyal florasının belirlenmesi ve bu florada yer alan probiyotik özellikteki mikroorganizmaların tanımlanması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Laktik Asit Bakterileri

Laktik asit bakterileri (LAB), endüstriyel olarak en önemli bakteri gruplarından biridir. Bu organizmalar, gıda üretimi, hastalıkların tedavisi ve makromoleküllerin, enzimlerin ve metabolitlerin üretimi dahil olmak üzere çeşitli şekillerde kullanılır (Pfeiler and Klaenhammer, 2007).

LAB, Gram pozitif, katalaz negatif, fakültatif anaerobik, hareketsiz, çubuk ya da kok şeklinde bakteriler olarak tanımlanmaktadır. Bu grup fermantasyon ürünü olarak laktik asit üretmektedirler. Gıdalarla ilişkilendirilen LAB, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Oenococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Wiessella* ve *Vagococcus* cinslerini içermektedir (Vandamme et al., 1996; Tokatlı, 2013).

LAB, insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri ve fermantasyon yapabilmelerinden dolayı, gıdalarda uzun yıllardan beri güvenli bir şekilde kullanılmaktadır. Bu nedenle gıda endüstrisinde büyük öneme sahiptirler. Bu bakterilerin gıdaların biyokontrolünde de ayrı bir önemi vardır. Patojen olan bakterilerin birçoğu LAB'leri tarafından son ürün olarak üretilen bazı maddelere karşı hassastırlar.

Çeşitli gıdalarda doğal olarak bulunan veya başlangıç kültür olarak kullanılan LAB'nin, patojen mikroorganizmalara karşı antagonistik aktivite gösterdiği bilinmektedir. LAB'nin diğer mikroorganizmalara karşı gösterdiği bu antagonistik aktivitenin farklı mekanizmalar ile olduğu bilinmektedir. Bunlardan ilki LAB'nin karbonhidrat kaynaklarını fermente etmeleri sonucu laktik ve asetik asit gibi organik asitler üretilmesidir. Gıdalarda bulunan birçok mikroorganizma bu üretilen organik asitlere karşı hassastır ve sonuçta mikroorganizma düşen pH'yı tolere edememektedir. Diğer mekanizma ise LAB tarafından aerobik gelişme esnasında üretilen H₂O₂'nin mikroorganizma üzerine inhibitör etki göstermesidir. Üçüncü mekanizma LAB tarafından üretilen bakteriosinlerin, özellikle yakın ilişkili bakteriler üzerine inhibitör etki göstermesidir. LAB

tarafından üretilen, diasetil, alkol ve CO₂ gibi metabolitler de bazı mikroorganizmalar üzerine inhibitör etki gösterebilmektedir (Tokatlı, 2013).

Turşu üretiminde, hammaddenin salamuraya konulmasıyla birlikte, doğal florada yer alan mikroorganizmalar ile fermantasyon başlar. Fermantasyon; başlangıç, birincil fermantasyon, ikincil fermantasyon ve fermantasyon sonrası olmak üzere dört aşamadan meydana gelir. Hammaddenin salamura içerisine yerleştirilmesiyle, hızlı bir şekilde mayalar ile Gr (+) ve Gr (-) bakterilerin geliştiği gözlenir. Başlangıç pH değeri 5.5 seviyesindedir ve mevcut fermente edilebilir şekerlerden glikoz ve früktoz, LAB için uygun substrat konumundadır. Bu aşamanın sonunda pH'nın düşmesiyle, LAB üstün konuma gelir ve birincil fermantasyon başlar. Bu mikroorganizmaların gelişimi, ortamdaki şekerin tamamen kullanılması veya asit inhibisyonu meydana gelinceye kadar devam eder. Turşu fermantasyonunun başlangıç ve birincil aşamasında ortama hâkim olan LAB; *Streptococcus faecalis*, *L. mesenteroides*, *P. pentosaceus*, *L. brevis* ve *L. plantarum*'dur. Hıyar turşusu fermantasyonunda ise *L. brevis*, *P. pentosaceus* ve *L. plantarum* türleri ortama hâkimdir. Tuzun etkisiyle birlikte, *L. mesenteroides*, *P. pentosaceus* ve *L. plantarum* türleri toplam asidin üreticileri olarak baskın konuma geçmektedirler. Bu sıralamayı türlerin başlangıçtaki miktarları, gelişme oranları, tuz ve asit dirençlilikleri etkilemektedir. *L. mesenteroides*'in aside direnci, diğer bakteriler kadar yüksek olmasa da; fermantasyonu başlatan mikroorganizma olması ve bunun nedeninin hammaddede diğer LAB'ne oranla daha yüksek miktarlarda bulunmasından kaynaklanmaktadır. Asit direnci çok yüksek olan *L. plantarum* ise fermantasyonu sonlandıran mikroorganizma olarak rol oynamaktadır (Goma, 2008).

2.2 Probiyotikler

Yeterli miktarda alındığı zaman kişinin sağlığı üzerinde olumlu etki gösteren canlı mikroorganizmalardır (FAO/WHO 2002). Probiyotik mikroorganizmalar Tablo 1 de gösterilmiş olup, en yaygın olanları *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerine aittir. Bununla birlikte, diğer bazı bakteri ve mayalar da probiyotik özelliklere gösterebilmektedir (Çizelge 2.1). *Lactobacilli* ve

Bifidobacteria, hayvanlar ve insanlarda normal intestinal mikrofloranın önemli bir bölümünü oluşturan mikroorganizmalardır (Goma, 2008).

Faydalı mikroorganizmaların ağız yoluyla alınmasıyla bağırsaktaki patojen bakterileri baskılamak ve bu sayede mikrobiyal dengeyi sağlayıp sağlıklı ve uzun bir ömrü elde etme fikri yaklaşık yüzyıl öncesinde Tissier (1906) ve Metchnikoff (1907) tarafından ortaya atılmıştır. Tissier, bifidobakterilerin, anne sütü ile beslenen bebeklerin bağırsaklarında baskın olduğunu belirtmiş ve bifidobakterilerin ishal olan bebeklere uygulanması ile bu bakterilerin hastalığa neden olan patojen mikroorganizmaların yerini aldığını ve bu şekilde hastalığın tedavi edilebildiğini iddia etmiştir. Elie Metchnikoff ise, meşhur “The Prolongation of Life” adlı kitabında, laktobasil içeren yoğurt tüketiminin, bağırsakta toksin üreten bakterilerin azalmasına yol açtığını iddia etmiştir.

Çizelge 2.1 Probiyotik özellik gösteren mikroorganizmalar (Goma, 2008)

Probiyotik Mikroorganizmalar	
<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>
<i>L. acidophilus</i> <i>L. casei</i> <i>L. crispatus</i> <i>L. gallinarum</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. johnsonii</i> <i>L. paracasei</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. reuteri</i> <i>L. rhamnosus</i>	<i>B. adolescentis</i> <i>B. animalis</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. breve</i> <i>B. infantis</i> <i>B. lactis</i> <i>B. longum</i>
Probiyotik Özellik Gösteren Diğer Laktik Asit Bakterileri	Probiyotik Özellik Gösteren Diğer Mikroorganizmalar
<i>Enterococcus faecalis</i> <i>E. faecium</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>L. mesenteroides</i> <i>P. acidilactici</i> <i>Sporolactobacillus inulinus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Bacillus cereus</i> var. <i>toyoi</i> <i>Escherichia coli</i> strain Nissle <i>Propionibacterium freudenreichii</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>S. boulardii</i>

Probiyotik mikroorganizmalarda aranan özellikler şunlardır (Swain et al., 2014);

- Güvenilir olmalıdır, kullanıldığı insan ve hayvanda yan etki oluşturmamalıdır.
- Stabil olmalıdır, düşük pH ve safra tuzları gibi olumsuz çevre koşullarından etkilenmeden bağırsakta metabolize olmalıdır.
- Kanserojenik ve patojenik bakterilere antagonistik etki göstermelidir. Antimikrobiyal maddeler üretmelidir.
- Antibiyotiklere dirençli olmalıdır. Antibiyotiğe bağlı ortaya çıkan hastalıklarda bağırsak florasını düzeltmek amacı ile kullanılabileceğinden, bağırsaktaki antibiyotiklerden etkilenmemelidir.
- Gıdalara ilave edildiğinde kaliteyi düşürmemelidir.
- Bağırsak mukozasına tutunabilme yeteneğine sahip olmalarıdır. Bu tutunma en önemli ve hatta biyolojik etki gösterebilmeleri için mutlaka olması gereken bir özelliktir.

2.2.1 Probiyotik mikroorganizmaların sağlık üzerine etkileri

Probiyotik mikroorganizmalara atfedilen sağlık etkilerinin çoğu, doğrudan veya dolaylı olarak bağışıklık sisteminin aracılık ettiği gastrointestinal sistem ile ilişkilidir. Bağırsak (veya bağırsakla ilişkili lenfoid sistem (GALT), immünolojik açıdan vücuttaki en büyük organdır ve doğumdan itibaren bağışıklık sisteminin olgunlaşması ve optimal gelişimi, burada oluşan mikroflora ve kompozisyonuna bağlıdır (Goma, 2008).

2.2.1.1 İmmünomodülasyon

Probiyotik mikroorganizmalar ve bunların hücre duvarı bileşenleri (peptidoglikanlar, lipopolisakaritler) ile DNA ve metabolitlerinin immünomodülatör özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir (Goma, 2008).

Probiyotik bakterilerin, alerjisi ve atopik hastalıkları olan veya bu hastalıklar açısından risk altındaki bebeklerde immün reaksiyonları modüle edebileceği yapılan çalışmalarla doğrulanmıştır. Finlandiya'da yapılan bir çalışmada özel emzirme döneminde atopik egzama görülen çocuklara (grup başına dokuz çocuk, ortalama 4.6 aylık) hipoalerjenik, yoğun şekilde hidrolize edilmiş peynir altı suyundan izole edilen *L. rhamnosus* veya *B. animalis* ssp. *lactis* destekli formül verilmiş, 2 ay sonunda probiyotik destekli formül verilen hastaların cilt durumunda belirgin bir düzelme meydana geldiği tespit edilmiştir (Thompson, 2000).

2.2.1.2 Gastrointestinal Sistem Üzerine Etkileri

Virüs veya Bakterilerin Neden Olduğu İshal: Rotavirüs kaynaklı diyare, gelişmekte olan ülkelerde ve özellikle hastanede tedavi gören çocuklarda hala önemli bir sorun ve ölüm nedenidir. Probiyotik bakteri ve mayaların immünostimülatör özelliklere veya akut enfeksiyonların azaltılmasına karşı etkisi birçok çalışma ile belirlenmiştir. Önceki çalışmalarda *L. rhamnosus* GG (LGG) ve *L. casei* Shirota kullanımı ile, enfeksiyon sıklığının azaltılması, atakların süresinin 1-1.5 gün kadar kısaltılması, rotavirüslerin daha az görülmesi veya rotavirüs spesifik antikorların üretimindeki artış gibi faydalı etkiler belirlenmiştir (Fox, 1990; Goma, 2008). Örneğin 4 aylık 74 diyareli bebek ile yapılan bir çalışmada, rotavirüs enfeksiyonunun tedavisinde *Lactobacillus* GG kullanımının plaseboya kıyasla daha iyi sonuç verdiği tespit edilmiştir (Rolfe, 2000). Araştırmalar ayrıca diyareli hastaların iyileşme süresinin *Lactobacillus* GG kullanımı ile önemli oranda (2-4 günden 1-2 güne) kısaltıldığını da göstermiştir.

Antibiyotik İlişkili İshal: Antibiyotik tedavisi öncesi ve sırasında bazı probiyotik türlerinin kullanımının, antibiyotikle ilişkili diyare ataklarının sıklığını ve/veya süresini ve semptomlarının ciddiyetini azalttığı çoğu çalışmada kanıtlanmıştır. Bazı durumlarda antibiyotik tedavisi, anaerobik toksijenik bakteri fazlalığı (örneğin *Clostridium difficile* türleri) nedeniyle, yaşamı tehdit edici psödomembranöz kolit ile sonuçlanabilir. Probiyotik uygulanmasının, *Clostridium difficile* enfeksiyonlarını başarılı bir şekilde tedavi ederken aynı zamanda hastalığın tekrarlama sayısını da önemli ölçüde azalttığı bildirilmektedir (Goma, 2008)

İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları: Pro-enflamatuvar immünolojik mekanizmaların uyarılmasının, bağırsaktaki bir takım enflamatuvar hastalıklarda rol oynadığına dair çalışmalar mevcuttur. Anti-enflamatuvar özelliklere sahip probiyotiklerin uygulanması ile bağırsak florası üzerinde pozitif etkilerin görüldüğü ve probiyotik kullanan hastaların sağlık ve refahının iyileştiği bildirilmektedir (Goma, 2008).

Sindirim Sistemi Bozuklukları: Son zamanlarda yapılan kontrollü klinik çalışmalar, *L. casei* ve *B. animalis*'e ait bazı probiyotik türlerin gastrointestinal geçiş süresini azalttığını göstermiştir (Çakır, 2003).

Helicobacter pylori enfeksiyonları; kronik gastirit, peptik ülser ve gastrik kanser nedenidir. Probiyotiklerin, *H. pylori* enfeksiyonları üzerine etkisi çeşitli klinik çalışmalarla araştırılmıştır. *L. salivarius*'un, *H. pylori*'nin kolonizasyonunu engellediği ve IL-8 salgılanmasını stimüle ettiği *in vitro* koşullarda saptanmıştır. *H. pylori* gelişimi üzerine probiyotiklerin inhibitör etkisini belirlemek amacıyla *L. casei* Shirota içeren süt test edilmiştir. Üreaz aktivitesinin, kontrol grubuyla (%33) karşılaştırıldığında, probiyotik içeceği tüketen bireylerde %64 oranında azaldığı tespit edilmiştir (Uymaz, 2010)

Laktoz Hidrolaz Aktivitesi: Fermente süt ürünlerinin sağlıkla ilgili en iyi araştırılmış etkisi, ince bağırsakta laktozu parçalayan enzim olan β -galaktosidazın yetersiz aktivitesine sahip kişilerde, laktoz sindiricilerin intolerans belirtilerinin önlenmesidir. Bu etki, esas olarak canlı mikroorganizma içeren fermente süt ürünlerinin, laktoz hidrolizini desteklemek için en sonunda ince bağırsakta serbest bırakılan β -galaktosidaz içermesine dayanmaktadır. Laktoz, β -galaktosidaz tarafından monosakkaritlere parçalandığı için, bu enzimin eksikliğinde laktoz parçalanamaz. Fermente olmayan süt ve ürünlerinin tüketiminden sonra laktozun iyi metabolize edilmemesi sonucu sindirim bozuklukları meydana gelir. İçerisinde *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* bulunan fermente süt ürünleri, önemli miktarda β -D-galaktosidaz enzimi içerdikleri için, laktozun metabolize edilememesine bağlı bağırsak hastalıklarını azaltmaktadır. Yoğurt ve özellikle probiyotik yoğurtla yapılan çalışmalar laktoz emiliminin iyi tolere edildiğini göstermiştir. Sütteki

laktozun bir kısmı probiyotik mikroorganizmalar tarafından fermentasyon sırasında parçalanmaktadır (Çakır, 2003).

2.2.1.3 Diğer Etkileri

Kanser Üzerine Etkisi: Fermente süt ürünlerinden elde edilen mikroorganizmaların ve aynı zamanda orijinal yoğurt kültürlerinin kanser üzerine tedavi edici özelliğine birçok çalışmada değinilmiştir. Çalışmaların çoğu, kolon kanseri üzerine probiyotiklerin etkileri üzerine yürütülmüştür (Calla et al., 1997). Bununla birlikte, diğer kanser türleri için de olumlu etkiler tanımlanmıştır. Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda, kimyasal olarak indüklenen tümörlerin büyümesinin, yoğurt kültürlerinin veya bazı probiyotik mikroorganizma suşlarının enjekte edilmesi ile inhibe edildiği görülmüştür (De Roos and Katan, 2000; Friend et al., 1982). Yapılan başka bir çalışma, Lactobacilli ve özellikle *L. casei* Shirota kullanımının, Japon popülasyonunda mesane kanseri riskini azaltabileceğini göstermektedir (Ohashi et al., 2002).

Bu etkilerin nedeni olarak çeşitli mekanizmalar önerilmiş ve *in vitro/in vivo* olarak araştırılmıştır:

- Laktobasillerin glikopeptitler ve sitotoksik metabolitleri ile tümör büyümesini ve tümör hücrelerinin çoğalmasını inhibe etmesi
- (Pro) kanserojen, mutajenik ve genotoksik maddelerin indirgenmesi (aflatoksinler, nitrozaminler; (Oatley et al., 2000)), pH'nın azalması, kimyasal modifikasyon ve bakterilerin tutunmasındaki azalma (Fujiwara et al., 2001).
- Probiyotiklerin ve probiyotik süt ürünlerinin antimutagenik özellikleri (Horie et al., 2003).
- İmmün sistemin güçlendirilmesi ve tümör nekroz faktörü (TNF α) üretiminin makrofajlar tarafından uyarılması (Aso et al., 1995).

Hipokolesterolaemik ve Kardiyoprotektif Etkiler: Farklı probiyotik bakterilerin safra asidi ve kolesterol içeren ortamda safra asitlerini dekonjüge etme kabiliyeti *in vitro* olarak birçok çalışmada araştırılmıştır. Dekonjüge safra asitleri ile birlikte çöktürme ve bakteri hücresinde adsorpsiyonu ile ortamdaki kolesterol konsantrasyonunun %50 azaltıldığı görülmüştür (Rasic et al., 1992).

Ayrıca, *E. faecium* (Hlivak et al., 2005) ve *L. plantarum* (Naruszewicz et al., 2002)'un kardiyovasküler risk faktörleri üzerine yararlı etkilerini gösteren çalışmaların yanı sıra, birkaç ay boyunca fermente süt ürünleri tüketen kişilerin serumlarında HDL (yüksek dansiteli lipoprotein) konsantrasyonunun yükselmiş olduğu tespit edilmiştir.

Ürogenital enfeksiyonlar: Laktobasiller vajina normal florasının en önemli grubunu oluşturmaktadır. Bu bakterilerin ürettiği bakteriyosin, laktik asit ve hidrojen peroksit ile patojenlerin kolonizasyonuna engel oldukları birçok araştırmacı tarafından vurgulanmıştır (Çakır ve Çakmakçı, 2002; Çakır, 2003). Yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu probiyotik bakterilerin vajina içi uygulamaları şeklinde yapılmış olmasına karşın; ağız yoluyla alınan *L. acidophilus* içeren ürünlerin *Candida albicans* enfeksiyonlarının tekrarlanma oranını azalttığı tespit edilmiştir (Murray, 1998; Çakır, 2003).

2.2.2 Probiyotiklerin taşıması gereken özellikler

2.2.2.1 Asitlik, enzimler ve safra tuzuna tolerans

Probiyotik olarak kullanılacak bir mikroorganizmanın, sindirim sisteminden geçişi sırasında canlı kalabilmesi gerekmektedir. Bu nedenle lizozim, pepsin ve pankreatin başta olmak üzere, enzimlere dayanıklı olması ve midenin gastrik ortamından (pH 1.5-3.0) büyük ölçüde etkilenmemesi gerekmektedir. Probiyotik mikroorganizmaların en önemli seçim kriterlerinden biri olan enzimlere karşı dayanıklılık özelliği sayesinde hücreler mide asitliğinde canlı bağırsağa kadar ulaşabilmektedir (Shah, 2001). Lankaputhra ve Shah (1995)'in yaptığı çalışmada *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* ssp.'ın sadece birkaç suşu asidik fermente gıdalarda ve sindirim sistemindeki safra tuzu konsantrasyonlarında canlı kalabilmiştir. Clark ve ark. (1993) ve Lankaputhra ve Shah (1995) tarafından yapılan çalışmalarda, *B. longum*'un asidik şartlarda ve %4'e kadar varan safra tuzunda canlı kalabildiği belirlenmiştir.

2.2.2.2 Safra Tuzlarını Hidrolize Etme Özellikleri

Probiyotik bakterilerin serum kolesterolünü düşürücü etkisi bağırsaklarda bulunan probiyotik özellikteki bakterilerin safra tuzlarını dekonjugasyona

uğratması ile serum kolesterol seviyelerini düşürmesi ile gerçekleşmektedir (Alp ve Ertürkmen, 2017). Tsai et al. (2013) tarafından yapılan çalışmada, izole edilen farklı türlerdeki probiyotik mikroorganizmaların *in vitro* ortamdaki BSH aktivitesi ve kolesterol dekonjuge etme yetenekleri belirlenmiştir. Çalışma sonunda *P. acidilactici*, *B. adolescentis* ve *L. rhamnosus* ile *L. acidophilus* suşlarının BSH aktiviteleri diğerlerinden yüksek çıkmıştır. *L. rhamnosus*'un 48 saat sonunda %100 oranında trigliserit sekresyonunu inhibe ettiği belirlenmiştir (Alp ve Ertürkmen, 2017).

2.2.2.3 Antibiyotiklere karşı direnç

Fermente ve probiyotik gıdaların üretiminde kullanılan LAB'nin genellikle güvenli mikroorganizmalar oldukları düşünülse de antibiyotik direnç geni bulundurmaları durumunda bu genleri patojenlere veya florada bulunan diğer bakterilere aktarma ihtimalleri önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Bu nedenle gıda sanayinde kullanılacak LAB'nin direnç genleri ve biyogüvenilirlik özellikleri açısından incelenmeleri önemlidir. Özellikle, antibiyotik direnci konusunda en çok kaygıya neden olan antibiyotik direnci vankomisin direncidir (Nami et al., 2015; Demir ve ark., 2019). Örneğin; Enterokok suşlarının başlangıç kültürü veya probiyotik olarak kullanılabilmesi için virülans faktörleri bulunmamalı ve klinik tedavide kullanılan antibiyotiklere karşı duyarlı olmalıdır. Bu sebeplerle, enterokokların virülans genlerini ve antibiyotik direnç profilini değerlendirmek oldukça önemlidir. Başyigit ve ark. (2010) tarafından yapılan çalışmada araştırılan enterokok suşlarının tamamının kloramfenikol ve tetrasikline duyarlı olduğu, suşların %93'ünün penisilin G ve %97'sinin vankomisine duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Demir ve ark., 2019).

2.2.2.4 Hücre yüzeyine tutunma özelliği

Bağırsaktaki epitel ve mukozal yüzeylere probiyotik mikroorganizmaların yapışması, patojenlere karşı antogonistik aktivite, geçici kolonizasyon, immün sistemin aktive edilmesi ve zarar gören mukozanın tamir edilmesi için önemlidir. Probiyotik bakteriler bağırsaktaki tutunma yüzeylerine ulaşmak için midenin asitli ortamından geçebilmelidir. Bağırsağa ulaşan probiyotik bakterilerin ilk temas yüzeyi mukus tabakasıdır. Mukus tabakasına ve epitel yüzeylere probiyotik

mikroorganizmaların kolonize olabilmeleri için yapışmaları gerekmektedir. Yapışmadan sonra bağırsak yüzeyine kolonize olan probiyotikler patojen mikroorganizmalar için bariyer oluşturur. Kolonize olan probiyotikler ise ürettikleri antimikrobiyal maddelerle bağırsak yüzeyini patojenlerin zararlı etkilerinden koruyabilir (Önal ve ark., 2005)

2.2.2.5 Hemolitik aktivite

Probiyotik mikroorganizmaların seçiminde, hemolitik aktivitenin belirlenmesi önemli bir kriterdir. Probiyotik olarak kullanım potansiyeli olan mikroorganizmaların, hemolize neden olmayan γ -hemolitik suşlar olması gerekmektedir (Mourad and Nour-Eddine, 2006). Kolonilerin etrafında, parlak-yeşil zon oluşturan koloniler α -hemolitik, berrak zon oluşturanlar β -hemolitik, zon oluşturmayanlar ise γ -hemolitik olarak değerlendirilir (Maragkoudakis et al., 2006).

2.2.2.6 Kolesterol asimilasyon özellikleri

Probiyotiklerin serum kolesterolünü düşürücü etkilerini açıklamaya yönelik farklı görüşler bulunmaktadır:

En çok kabul gören görüş; probiyotiklerin safra tuzlarını serbest asitlere parçalayarak intestinal sistemden hızlı bir şekilde uzaklaştırıldığını ileri sürmektedir. Probiyotikler safra tuzlarını serbest asitlere parçalayarak intestinal sistemden hızlı bir şekilde uzaklaştırır. Serbest safra tuzları vücuttan atıldığı için, kolesterolden yeni safra asitlerinin sentezi, vücuttaki toplam kolesterol konsantrasyonunu düşürebilmektedir (De Boever et al., 2000).

Mikroorganizmaların kolesterol asimilasyonu ile kolesterolün hücre duvarına tutunması ve probiyotiklerin parçalanması sonucu oluşan kısa zincirli yağ asitlerinin fizyolojik aktiviteleri nedeniyle kolesterol düşürücü etki gözlenmektedir (Begley et al., 2006). Ahire et al., (2012) *L. helveticus* suşlarının kolesterol asimilasyonu üzerine yaptığı çalışmada 42 saat sonunda HPLC ile yapılan analiz sonucunda suşların kolesterolü %100 oranında asimile ettiğini gözlemlemişlerdir.

Bir diğerk görüşe göre; probiyotikler asit üretimi sonucu pH'yı düşürerek, dekonjuge safra tuzları ile kolesterolün presipitasyonuna neden olmaktadır (Laurens-Hattingh and Viljoen, 2001).

2.2.2.7 Proteolitik aktivite

Yoğurt geleneksel olarak *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* ve *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* kullanılarak üretilir ve bu bakteriler, proteolitik tabiatı ile simbiyotik ilişkilerinden dolayı esansiyel amino asitleri üretirler. Bu iki bakteri sütte çok hızlı gelişmelerine karşın *L. acidophilus* ve bifidobakteriler, proteolitik aktivitelerinin eksikliğinden dolayı sütteki gelişmeleri yavaştır. Bu nedenle yoğurt bakterilerinin, fermentasyon süresinin kısaltılması için probiyotik ürünlere katılması doğru bir yaklaşımdır. Yoğurt bakterileri ile karıştırıldığında probiyotik bakterilerin fermentasyon süresi 24 saatte gerçekleşebiliyorken, yoğurt bakterileri için bu süre yaklaşık 4 saattir (Dave and Shah, 1997; Sağdıç ve ark., 2003). Shihata and Shah (2000), *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* ve *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*'un probiyotik bakterilerden (*L. acidophilus* ve bifidobakteriler) daha yüksek proteolitik aktivite gösterdiklerini saptamışlardır. Bu bakımdan probiyotik bakterilerin seçiminde proteolitik aktivite önemlidir.

2.2.2.8 β -D-galaktosidaz aktivitesi

Glikoz ve galaktoz monosakkaritlerinden oluşan laktoz zor metabolize edilir. Laktoz, β -D-galaktosidaz varlığında monosakkaritlerine ayrıldığından, bu enzimin eksikliğinde laktoz metabolize edilemez. Fermente olmayan süt ve ürünlerinin tüketiminden sonra laktoz iyi metabolize edilemediğinde sindirim bozuklukları ortaya çıkar. Yoğurt bakterileri, probiyotik bakterilerden daha fazla β -D-galaktosidaz aktivitesine sahiptir. Yoğurt bakterileri, probiyotik bakterilerle beraber kullanıldığında, probiyotik bakterilerden daha hızlı geliştikleri için, proteolitik ve β -D-galaktosidaz aktiviteleri daha yüksektir (Shah, 2001; Sağdıç ve ark., 2003).

2.2.2.9 Antimikrobiyal aktivite

Bağırsak mikroflorasında bulunan probiyotik bakterilerin çeşitli hastalıklara karşı vücudu koruyucu etkisi bulunduğu bilinmektedir. Probiyotik bakteriler, laktik ve asetik asit gibi organik asitler, hidrojen peroksit ve bakteriyosin üretmektedir. Probiyotik bakterilerin ürettikleri organik asitlerin %90'ını ise laktik ve asetik asit oluşturmakta, az miktarlarda sitrik, hippurik, orotik ve ürik asit gibi diğer asitler üretilmektedir (Lankaputhra and Shah, 1998). Bağırsak kökenli laktobasillerin antimikrobiyal özelliğe sahip olduğu çeşitli araştırmalarla saptanmıştır (Arıcı ve ark., 2004). Sindirim sisteminde bulunan probiyotik bakteriler tarafından üretilen asetik ve laktik asitten dolayı pH'nın düşmesi, patojen bakteriler üzerinde bakterisidal veya bakteriyostatik etki yaratır. Probiyotik bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinler, *Staphylococcus aureus* ve *Clostridium perfringens* gibi Gram (+) bakterilere karşı, *Salmonella Typhimurium* ve *Escherichia coli* gibi Gram (-) bakterilerden daha etkilidir. Organik asitlerle beraber ortamda bulunan hidrojen peroksidin bakterilere karşı tek başına laktik asit veya H_2O_2 'den daha etkili olduğu bildirilmektedir (Lankaputhra and Shah, 1998).

2.3 Fermente Gıdalar

Fermantasyon kelimesi, “mayalanmak” olarak tanımlanan Latince fermentum kelimesinden türetilmiştir. Gıda fermantasyonu uygulaması, dünyadaki sayısız kültürel normlara dayanmakla birlikte, evlerde geleneksel üretimlerden, ticari ve endüstriyel ölçekli pazarlara yayılmıştır (Katz, 2012). Fermantasyonla üretilen gıda ürünleri ve bu ürünlerin eldesinde kullanılan spesifik fermantasyon uygulamaları, mevcut gıda kaynakları, lezzet tercihleri, çevre koşulları ve yeni teknolojik gelişmelere bağlı olarak bir kültürden diğerine değişiklik göstermektedir (Prajapati and Nair, 2008).

Fermente gıdaların tüketiciye sağlık açısından fayda sağladığı uzun yıllardır tartışılmaktadır. Yakın geçmişte yapılan araştırmalarda fermente gıdalar için belirlenen potansiyel sağlık yararlarından bazıları şunlardır (Frias et al., 2017).

2.3.1 Fermente ürünlerin sağlık üzerine yararları

Fermente ürünler biyoaktif peptit kaynaklarıdır: Bioaktif peptitlerin kardiyovasküler hastalık riskinin azalmasında rol alan önemli kaynaklar olduğu bildirilmektedir. Yüksek kan basıncı (hipertansiyon), kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili ölümlerin kontrol altına alınmasında ve küresel sağlığın iyileştirilmesinde kilit bir hedef olarak görülen önemli bir kardiyovasküler risk faktörüdür (WHO, 2014). Antihipertansif ajanlar olarak peptit içeren fermente gıdaların bu konudaki etkinliği farklı araştırmacılar tarafından kanıtlanmıştır. Örneğin, yapılan bir çalışmada fermente edilmiş karabuğday filizlerinden izole edilen peptitler ve fermente edilmiş mavi midye sosunun, spontan hipertansif sıçanlarda kan basıncını düşürücü etki gösterdiği belirlenmiş, ayrıca *Lactobacillus casei* Shirota ve *S. thermophilus* tarafından fermente edilmiş bir süt ürününden izole edilen antitrombotik peptitlerin, *in vitro* olarak trombin aktivitesini inhibe ettiği ve trombozun önlenmesi için umut vaat ettikleri gösterilmiştir (Rojas-Ronquillo et al., 2012)

Fermente ürünlerin bağışıklık sistemini güçlendirdiği bildirilmektedir. Enflamasyon, insan vücudunun yaralanmaya neden olan dış uyaranlara karşı savunma mekanizmasının bir parçasıdır. Enflamasyon, interferon gama (IFN- γ), tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), interlökin 6 (IL-6) ve NO gibi çeşitli proinflatuar mediatörlerin üretimini içerir. İmmün hücreler tarafından proinflatuar mediatörlerin aşırı üretimi, vücut dokusu hasarı ve immün fonksiyon bozukluğu ile sonuçlanır. Kontrolsüz ve anormal enflatuar yanıt sıklıkla kardiyovasküler hastalıklar, metabolik sendrom, obezite ve kanser gibi bir dizi kronik hastalıkla ilişkilendirilmiştir (Montecucco et al., 2013). Bu nedenle, enflamasyonun kontrolü sağlık ve zindeliği korumak için önemlidir. Valyl-prolyl-proline (VPP) peptidinin, stromal vasküler fraksiyonda proinflatuar makrofaj birikiminin inhibe edilmesi yoluyla, yüksek yağlı diyetle beslenen farelerin adipoz dokusu üzerinde antiinflatuar bir etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır (Aihara et al., 2014).

Biyoaktif peptitlerin obesite ve diyabet gibi hastalıkların önlenmesini sağladığı bildirilmektedir. Hücre kültürleri üzerine yapılan çalışmalarda, fermente

gıdalardan elde edilen bazı biyoaktif peptitlerin, potansiyel insülin mimetik etkisini desteklediği belirlenmiştir (Chakrabarti and Wu, 2015).

Fermente ürünlerin sağladığı diğer bir yarar, gastrointestinal sistem florasının düzenlenmesidir. Örneğin fermente sütte bulunan biyoaktif peptitlerin bağırsak florasını korumaya karşı umut verici potansiyeli yapılan çalışmalarda belirlenmiştir. Bu etkilerden sorumlu olan mekanizmalar, goblet hücreleri tarafından Muc2 ve Muc4 gen ekspresyonunun arttırılması ve paneth hücreleri tarafından lizozim ve defensin 5 ekspresyonunun sağlanması yönündedir (Plaisancié et al., 2015). Ana bileşeni, ince bağırsakta epitelin goblet hücreleri tarafından üretilen jel oluşturucu musin olan (Muc2) bağırsak mukusunun da patojen mikroorganizmaların kolonizasyonuna, asidik pH değerine, lümenal proteazlara, mekanik hasara ve potansiyel kanserojenlere karşı önemli koruyucu rol oynadığı bildirilmektedir (Gibson and Muir, 2005).

Fermente ürünlerin, epidemik oranlara ulaşan yaşlanma ile ilişkili ana iskelet hastalığı olarak bilinen osteoporoz gibi kemik hastalıklarının önlenmesinde de etkili olduğu belirtilmektedir (Pietschmann et al., 2009). Yapılan bir çalışmada, fermente süt ürünlerinden izole edilen VPP peptidinin, *in vitro* kemik oluşumunu arttırdığı bildirilmiştir (Narva et al., 2004).

Fermente ürünlerin sağlık üzerine diğer bir yararı, sinir sistemi hastalıklarının önlenmesi üzerinedir. Stresin kilit araçları, sempatik adrenomedüller sistemi (SAM) ve hipotalamus-hipofiz adrenokortikal eksenidir (HPA). Katekolaminlerin SAM'den salınması kalp atış hızını, kan basıncını ve kan glukoz seviyelerini arttırırken, HPA ekseninin aktivasyonu stres adaptasyonunu yoğunlaştırmak için glukokortikoid kortizol salgılar (McEwen, 2008). Aşırı stresin zaman içinde ortaya çıkabilecek kronik kalp rahatsızlıkları ve tansiyona neden olabileceği bildirilmektedir. Bununla birlikte biyoaktif peptit, B vitaminleri ve a-laktalbümin açısından zengin bir süt ürünü olan yoğurdun günlük olarak tüketiminin, yüksek kaygılı bireylerde stresle başa çıkmaya yardımcı olduğu belirlenmiştir (McEwen, 2008).

Fermente ürünler ekzopolisakkarit kaynağıdır: Ekzopolisakkaritlerin antioksidan, antitümör ve kolesterol düşürücü etkileri bulunduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda fermente gıdaların hipokolesterolemik etkisi belirlenmiştir. Ekzopolisakkarit (EPS) üreten *Pediococcus parvulus* ile fermente edilmiş yulaf bazlı bir ürünün tüketimi sonucu kişiler üzerinde hipokolesterolemik etki sağladığı saptanmış, ancak yulaf bazlı bu ürünün bileşenleri farelere uygulandığında aynı sonuç elde edilememiştir. Ayrıca, propile edilmemiş fermente ürünün kolesterol düşürücü etki üretmediği de kaydedilmiştir. Araştırmacılar bu gözlemlere dayanarak hipokolesterolemik etkinin, yulaf, EPS ve *P. parvulus* arasındaki sinerjistik etkiye bağlı olabileceği sonucuna varmışlardır (Mårtensson et al., 2005).

Fermente ürünler çoğu zaman probiyotik mikroorganizmaları içerdiğinden, iyi bir probiyotik kaynağı olarak da kullanılabilir: Başta *Lactobacillus*, *Streptococcus* ve *Leuconostoc* olmak üzere çeşitli LAB cinsleri fermente gıdalarda yaygın olarak bulunmaktadır. Fermente edilmiş gıdaların hangi canlı mikroorganizmaları içerdiği ve bu mikroorganizmaların bağırsak mikroflorası üzerindeki rolünün anlaşılması konusundaki çalışmalar hala yeterli düzeyde değildir.

Uzun yıllar boyunca fermente süt ürünleri, canlı mikroorganizma içeren tek fermente gıda olarak görülmüştür. Ancak özellikle son yıllarda turşu gibi bitkisel fermente gıdaların da faydalı mikroorganizmalar içeren önemli kaynaklar olduğu görülmüştür. Günümüzde hem tüketicilerin hem de araştırmacıların fonksiyonel özelliklere sahip fermente gıdalara ve bu gıdalarda rol alan faydalı mikroorganizmalara, özellikle de probiyotiklere ilgisi gün geçtikçe artmaktadır. Bununla birlikte özellikle de ülkemizde üretilen fermente gıdalar ve bu gıdaların probiyotik potansiyeline yönelik çalışma sayısı oldukça sınırlıdır.

2.3.2 Fermente bitkisel ürünler

Antioksidan, vitamin, diyet lifleri ve minerallerce zengin farklı sebze türleri dünyanın her yerinde salata, turşu, çorba ve garnitür olarak tüketilmektedir. 20. yy'da soğutma, dondurma ve konserve teknikleri gelişme göstermiş olsa da, bu ürünleri korumak adına en pratik yöntemlerden biri olan doğal fermentasyon,

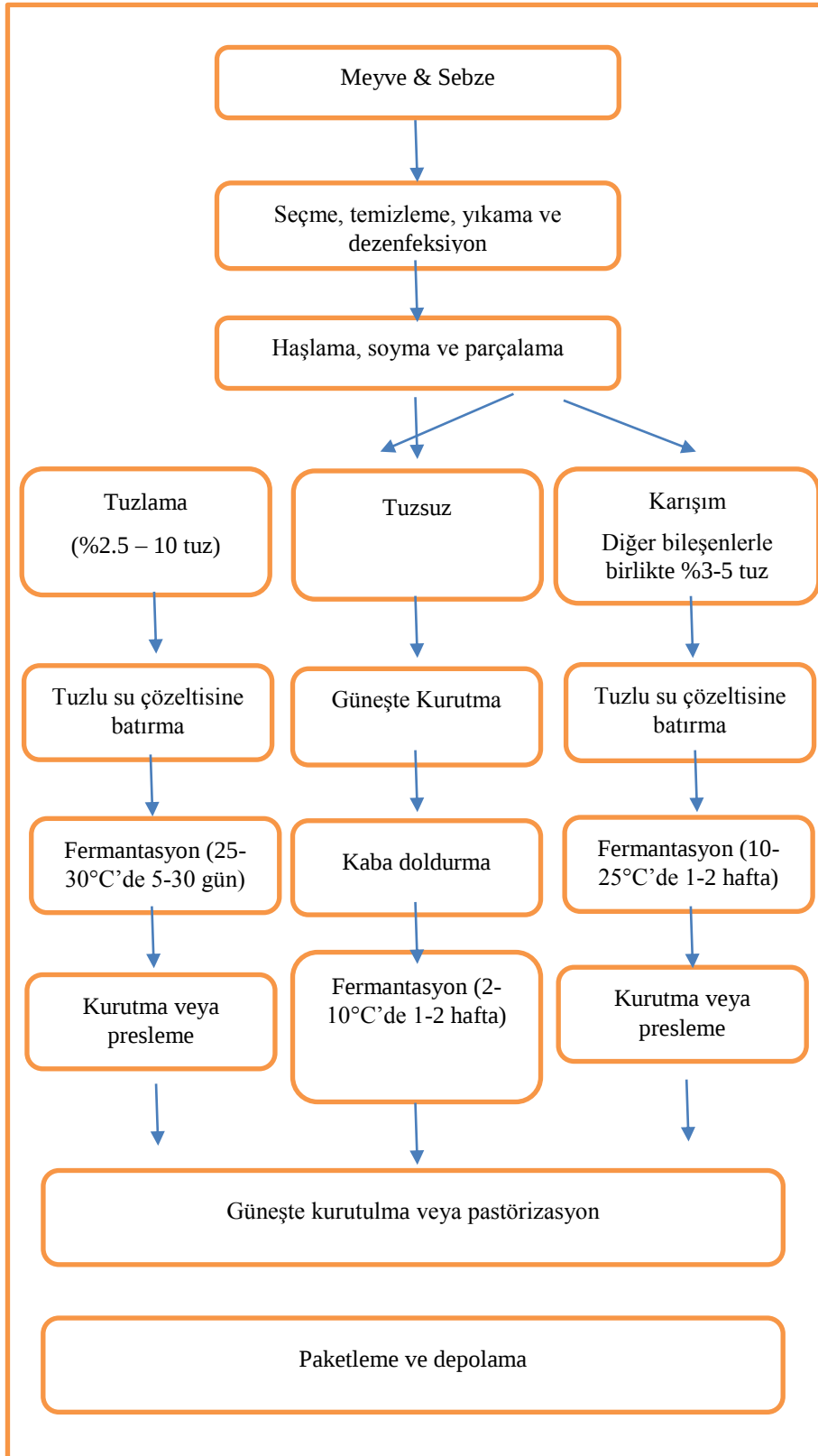
özellikle gelişmemiş ve gelişmekte olan toplumlarda halen yaygın olarak kullanılmaktadır. Birçoğu laktik asit fermantasyonu ile üretilen fermente bitkisel ürünler asidik özelliklere sahip olup, aynı zamanda LAB için önemli kaynaklardır (Tamang, 2010; Karaçıl ve Tek, 2013) (Çizelge 2.2.).

Çizelge 2.2 Fermente bitkisel ürünlerde bulunan başlıca LAB (Battcock and Azam-Ali, 2001).

Homofermentatif	Fakültatif homofermentatif	Obligat heterofermentatif
<i>E. faecium</i>	<i>L. bavaricus</i>	<i>L. brevis</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. buchneri</i>
<i>L. acidophilus</i>	<i>L. coryniformis</i>	<i>L. cellobiosus</i>
<i>L. lactis</i>	<i>L. curvatus</i>	<i>L. confusus</i>
<i>L. delbrueckii</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. coprophilus</i>
<i>L. leichmannii</i>	<i>L. sake</i>	<i>L. fermentatum</i>
<i>L. salivarius</i>		<i>L. sanfrancisco</i>
<i>S. bovis</i>		<i>Leu. dextranicum</i>
<i>S. thermophilus</i>		<i>Leu. mesenteroides</i>
<i>P. acidilactici</i>		<i>Leu. paramesenteroides</i>
<i>P. damnosus</i>		
<i>P. pentocacus</i>		

*L.: Lactobacillus, Leu.: Leuconostoc, S.: Streptococcus, P.: Pediococcus

Çeşitli teknolojik seçenekler arasında LAB ile fermantasyon, sebzelerin raf ömrü, beslenme ve duyuşal özelliklerini korumak ve/veya geliştirmek amacıyla uygulanan basit ve değerli bir biyoteknolojik işlem olarak düşünülebilmektedir (Rodríguez et al., 2009). Meyve ve sebzelerin genel fermantasyon süreci Şekil 2.1’de gösterilmiştir.



Şekil 2.1 Meyve ve sebzelerin genel fermantasyon süreci (Rodríguez et al., 2009)

LAB'nin probiyotik özellikler açısından önemi çoğu bilim insanı tarafından bilinmektedir. Son yıllarda farklı gıdalarda, özellikle de laktik asit fermantasyonu ile üretilen fermente ürünlerde probiyotiklerin tanımlanması üzerine çok sayıda

Çalışma yapıldığı görülmektedir. Fermente süt ürünleri en iyi bilinen probiyotik gıda kaynakları olmasına rağmen yapılan çalışmalar, fermente meyve ve sebze ürünlerinin de probiyotik kaynağı olabileceğini ortaya koymuştur (Granato et al., 2010; Peres et al., 2012).

Buckenhskes ve arkadaşları (1993), fermente sebze ürünlerinin üretimine yönelik talebin artmasını şu şekilde açıklamaktadır:

- Doğal ve biyolojik ürünlere yönelik talebin artması,
- Patojenlerin gelişimini baskı altına alma, ürün hijyen ve güvenilirliğinin yüksek olması,
- Laktik asit bakterilerinin ve amino asitlerin, ham ürünlerin besin değerini arttırması,
- Glukozinolatın istenmeyen tadının nlenmesi,
- Bu tip ürünlerin hazırlanma ve saklanması için daha az enerjinin gerekliliği,
- Hammadde işlenişinin kolaylığı

2.3.3. Turşu

Aktan ve arkadaşlarının (1998) yaptığı tanıma göre; “Turşu, meyve ve sebzelerin belli konsantrasyonlarda tuz içeren salamura veya kendi öz suları içinde, laktik asit bakterileri tarafından fermente edilmesiyle veya dışarıdan ilave edilen asit ve ortamdaki tuzun koruyucu etkisi sonucu dayanıklılık kazandırılan bir üründür”.

Tüm dünyada farklı sebze ürünlerinden farklı yöntemler kullanılmak suretiyle çeşitli turşular üretilmektedir. Turşu retiminde floranın doğal fermantasyon süresince değişmesi nedeniyle fermantasyon birincil fermantasyon, ikincil fermantasyon ve fermantasyon sonrası olmak üzere farklı aşamalardan meydana gelmektedir. Hammaddenin salamura içerisine konulmasıyla birlikte

hızlı bir şekilde mayalar ile Gram (+) ve Gram (-) bakteriler gelişim göstermektedir. Ortamda başlangıç pH değeri 5.5 seviyesindedir ve mevcut fermente edilebilir şekerlerden glikoz ve fruktoz, LAB'leri, için uygun substrat konumundadır (Fleming et al., 1987; Tokatlı ve ark., 2015). Aerobik spor oluşturan mikroorganizmalardan *Enterobacteriaceae* üyeleri de aynı substrat için rekabetçi durumundadır. Bu aşamanın sonunda, pH değerinin düşmesiyle LAB'leri üstün konuma geçer ve birincil fermantasyon başlar. Bu aşamada yaygın olarak laktik asit üreten beş bakteri türünün aktif olduğu ve gelişimlerine göre muhtemel sıralamanın; *E. faecalis*, *Leu. mesenteroides*, *P. cerevisiae*, *L. brevis* ve *L. plantarum* şeklinde olduğu bildirilmektedir (Tokatlı ve ark., 2015). İlerleyen aşamada tuzun etkisiyle birlikte, LAB'lerinden *Leu. mesenteroides*, *P. pentosaceus* ve *L. plantarum* türleri, toplam asidin üreticileri olarak ortamda baskın konuma geçmektedirler (Tokatlı ve ark., 2015).

Turşu fermantasyonunu gerçekleştiren başlıca *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* cinslerine ait LAB'leri sebzelerde düşük seviyelerde yer almaktadır. Farklı sebze örneklerinde *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Escherichia* ve *Bacillus* cinslerinin toplam popülasyonu 10^7 kob/g gibi yüksek bir seviyedeysen, LAB'leri yaklaşık 10^3 kob/g seviyesindedir (Hutkins 2006; Tokatlı ve ark., 2015). LAB'leri dışında hammadde florasında yer alan diğer mikroorganizmalardan mayalar da birincil fermantasyon aşamasında aktiftirler. Mayalar birincil fermantasyon aşamasında ortamda fermente edilebilir şeker kalması durumunda ikincil fermantasyon aşamasında da yer alırlar (Tokatlı ve ark., 2015).

Leu. mesenteroides, başta lahana turşusu olmak üzere diğer birçok turşu fermantasyonunda önemli rol oynamakta ve ürünlerde istenen laktik asit fermantasyonunu başlatmaktadır. Oldukça yüksek tuz ve şeker konsantrasyonlarını (%50 şekere kadar) tolere edebilmesi açısından diğer LAB'lerinden farklılık gösteren *Leu. mesenteroides*, aynı zamanda farklı sıcaklıklarda da gelişebildiğinden sebze ve ürünlerinden sıklıkla izole edilmektedir. Ortam pH değerini hızla düşüren ve aynı zamanda karbondioksit de üreten bu mikroorganizma, üründe istenmeyen diğer mikroorganizmaların gelişimini engellemektedir. Üretilen karbondioksit oksijenin yerine geçerek

ortamı anaerobik hale getirmekte ve ilerleyen aşamada laktobasil türlerinin gelişmesine olanak sağlamaktadır. Oksijenin ortamdan uzaklaştırılması aynı zamanda sebzelerin renginin korunmasına da yardımcı olmaktadır (Battcock and Azam-Ali, 1998).

2.3.4 Sebze fermentasyonunun probiyotik ile ilişkilendirildiği çalışmalar

Son yıllarda probiyotik potansiyeli olan suşların fermente gıda ürünlerinden izole edilip tanımlanmasına yönelik çalışmalar hızla artmaktadır. Özellikle Asya'da sebzelerin uzun süreli muhafazası amacıyla yaygın şekilde spontan fermentasyon ile turşu üretimi yapılmaktadır (Çizelge 2.1). Tayvan'da, lahana turşusu popüler bir ürün olup üretimi bölgeden bölgeye değişim göstermektedir. Normal olarak ürünlerin NaCl konsantrasyonu %10 ve son pH değerleri 3.5 ila 4.0 arasındadır. LAB'lerinin, çeşitli fermente edilmiş taze sebzeler de dahil olmak üzere sağlıklı gıdaların muhafaza edilmesinde ve üretiminde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Ji et al., 2007). Bazı araştırmacılar, sebze turşularında LAB'lerini tanımlamışlar ve en sık izole edilen türlerin *Leu. mesenteroides*, *P. pentosaceus*, *L. brevis* ve *L. plantarum* olduğunu belirlemişlerdir (Chiu et al., 2008). Yapılan diğer bir çalışmada da sebze fermentasyonlarında en yaygın bulunan türler *Leu. mesenteroides*, *L. brevis*, *P. pentosaceus*, *L. plantarum*, *L. citreum* ve *L. paraplantarum* olarak belirlenmiştir (Rodríguez et al., 2009).

Çizelge 2.3 Asya ülkelerinde üretilen fermente meyve- sebze ürünlerinin mikroflorası

Ürün İsmi	Ülke	Sebze içeriği	Diğer içerikler	Mikroorganizma	Referans
Ca muoi	Vietnam	Patlıcan		<i>L. fermentum</i> <i>L. pentosus</i> <i>L. brevis</i>	Nguyen et al., 2013
Khalpi	Nepal	Salatalık		<i>L. plantarum</i> <i>P. pentosaceus</i>	Tamang, 2019

Çizelge 2.3 Asya ülkelerinde üretilen fermente meyve- sebze ürünlerinin mikroflorası (devamı)

Ürün İsmi	Ülke	Sebze içeriği	Diğer içerikler	Mikroorganizma	Referans
Kimchi	Kore	Lahana, turp, çeşitli sebzeler	Sarımsak, kırmızı biber, yeşil soğan, zencefil ve tuz	<i>L. mesenteroides</i> <i>L. brevis</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. sakei</i>	Lee et al., 2005
Paocai	Çin	Lahana, kereviz, salatalık ve turp	Zencefil, tuz, şeker, acı kırmızı biber	<i>L. pentosus</i> , <i>L. plantarum</i> <i>L. mesenteroides</i> <i>L. brevis</i> <i>L. lactis</i> <i>L. fermentum</i>	Yan et al., 2008
Sunki	Japonya	Otaki-şalgam yaprakları	Yabani elma	<i>L. plantarum</i> <i>L. brevis</i> <i>P. pentosaceus</i> <i>Bacillus coagulans</i>	Battcock and Azam-Ali, 2001
Tempoyak	Malezya	Duriyan (Durio zibethinus)	Tuz	<i>L. brevis</i> <i>L. mesenteroides</i> <i>L. mali</i> <i>L. fermentum</i>	Leisner et al., 2001
Yan-jiang	Tayvan	Zencefil	Erik, tuz	<i>L. sakei</i> <i>L. lactis subsp. lactis</i> <i>W. cibaria</i> <i>L. plantarum</i>	Chang et al., 2011

Benzer LAB'si türleri (*L. plantarum*, *L. brevis*, *L. pentosus* ve *Leuconostoc* spp.) çoğunlukla salatalıkların spontan fermentasyonu sırasında tanımlanmıştır (Rodríguez et al., 2009). *Leuconostoc* ve *Lactobacillus* cinsleri fermentasyonun başlarında baskın iken, ilerleyen aşamalarda *Lactobacillus* ve *Pediococcus* baskın hale gelmektedir (Rodríguez et al., 2009).

Kış salatası, farklı sebzelerden üretilen bir tür turşu olup, özellikle İran/Horasan'da tüketilmektedir. Spontan fermentasyon işlemi çoğunlukla LAB'leri tarafından gerçekleştirilmektedir. Saeedi ve arkadaşları (2014) tarafından yapılan çalışmada, kış salatası fermentasyonunda yer alan LAB'leri, fermentasyon süresince farklı zaman aralıklarında izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Çalışma kapsamında kırk sekiz adet izolat tespit edilmiş ve bu izolatların tanımlanması 16SrRNA gen dizilemesi ile yapılmıştır. Çalışma sonucunda, *Pediococcus* (%51.1), *Lactobacillus* (%26.7), *Weissella* (%11.1), *Enterococcus* (%6.7) ve *Leuconostoc* (%4.4) dahil olmak üzere toplam sekiz cins tanımlanmış, fermentasyonunun erken dönemlerinde *W. cibaria* ve *L. plantarum* baskın iken, fermentasyonun ilerleyen dönemlerde *P. pentosaceus*'un baskın hale geldiği bildirilmiştir.

2017 yılında Japonya'da yapılan bir çalışmada pirinç kepeği turşusu ve Kimchi'den izole edilen LAB'lerinin ipekböceklerinde doğal bağışıklığı uyarıcı aktivitesi değerlendirilmiştir. İpekböceği kas kontraksiyon testinin sonuçlarına dayanarak oldukça aktif LAB türü olan *L. paraplantarum* 11-1 seçilmiş ve bu suşun *Pseudomonas aeruginosa* patojenitesine karşı tolerans gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışma ile *P. aeruginosa* enfeksiyonuna karşı *L. paraplantarum* 11-1'in probiyotik etkisi ilk kez ortaya konmuş ve bu suşun, doğal bağışıklığın kazandırılmasında iyi bir probiyotik kaynak olabileceği sonucuna varılmıştır.

Bhanwar ve arkadaşları (2013) tarafından yapılan çalışmada, α -amilaz ve β -galaktosidazı birlikte üreten potansiyel bir probiyotik suş tanımlanmıştır. Çalışmada turşu örneklerinden 63 izolat elde edilmiş ve bu izolatlar hidrolaz üretim kapasiteleri açısından test edilmiştir. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*'in, 48 saatlik bir sürede maksimum hidrolaz aktivitesi (α -amilaz (36.9 U/ml) ve β -galaktosidaz (42.6 U/ml)) gösterdiği, asidik, alkali ve proteolitik enzimler, safra stresi gibi gastrointestinal koşullara karşı toleranslı olduğu belirlenmiş, izolatın ayrıca enterik gıda kaynaklı patojenlere karşı antagonistik etkisi (*Salmonella* Typhimurium, *E. coli* 0157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* ve *Aeromonas hydrophila*) de tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, turşudan izole edilen *L. lactis* subsp. *lactis*'in probiyotik özelliklere sahip olduğunu

göstermiş ve gelecekte probiyotik gıda geliştirmek üzere starter olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Monika ve arkadaşları (2017) tarafından yapılan bir araştırmada, Himachal Pradesh geleneksel turşusundan toplam 15 adet LAB'si (*E. faecalis* (7), *L. plantarum* (3), *P. pentosaceus* (2), *Leu. mesenteroides* (1), *L. lactis* (1) ve *Enterococcus* sp. (1)) izole edilmiş ve bu izolatların probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amacı ile antimikrobiyal etkinlik, antibiyotik duyarlılığı, ekzopolisakkarit üretimi, hemolitik etkinlik, β -galaktozidaz aktivitesi, fitaz aktivitesi, proteolitik aktivite, β -glukozidaz aktivitesi, amilaz aktivitesi testleri uygulanmıştır. Çalışmada sonucunda izolatların, hemolitik aktivite göstermediği, ekzopolisakkarit ürettiği, antimikrobiyal aktivite gösterdiği, ayrıca antibiyotik duyarlılığına ve β -galaktosidaz, β -glukozidaz, proteaz aktivitesine ve amilaz aktivitelerine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Tokatlı ve arkadaşları (2015) tarafından yapılan çalışmada, farklı hammaddelerden üretilmiş turşu ve salamura örneklerinden elde edilen izolatlar probiyotik özellikler açısından incelenmiştir. İzolatlara pH 2.5'de gelişebilme, safra tuzuna dayanıklılık, safra tuzlarını dekonjüge etme, pepsin ve pankreatin varlığında gelişebilme, antibiyotiklere direnç, kolesterol asimilasyon özelliklerinin belirlenmesi, hücre yüzey hidrofobisite özelliğinin belirlenmesi testleri uygulanmıştır. Çalışma sonucunda, 39 izolattan 25'inin (21 *L. plantarum*, 11 *P. ethanolidurans* ve 7 *L. brevis*) pH 2.5'de canlı kaldığı, özellikle *L. plantarum* ve *L. brevis* türlerinin pH 2.5'de canlılıklarını daha iyi koruyabildiği, ancak incelenen probiyotik özelliklerin tamamına sahip izolatın bulunmadığı belirtilmiştir.

Zielinska ve arkadaşları (2015) tarafından yapılan bir diğer çalışmada, geleneksel fermente lahana ve salatalık turşusundan izolasyon yapılmış ve elde edilen izolatların probiyotik özellikleri, gastrointestinal koşullara direnç, safra tuzlarının yüksek konsantrasyonuna direnç, safra tuzu hidrolizi (BSH), %0.4 (h/h) fenol'e dayanıklılık, hidrokarbonlara yapışma, güvenlik değerlendirmesi açısından test edilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen 38 izolattan 14'ü, *Lactobacillus* spp. olarak tanımlanmıştır. İzolatların %26'sının gastrointestinal koşullar altında

hayatta kaldığı, %10'unun pH 3.5 ve 2.5'te ve %100'ünün pH 1.5'te canlılığını yitirdiği, %81-94'ünün %0.2 safra tuzunda, %59-94'ünün %2 ve %4 safra tuzunda canlı kaldığı ve ayrıca tüm izolatların %0.4 fenol direnç gösterdiği belirlenmiştir. Çalışma kapsamında *L. johnsonii* K4 ve *L. rhamnosus* K3 olarak tanımlanan suşların, %60'ın üzerinde hidrofobik özellik gösterdiği bildirilmiştir.

Wang ve arkadaşlarının (2010) yaptığı çalışmada, Tayvan'a özgü lahana turşusundan elde edilen izolatların probiyotik özelliklerini belirlemek üzere Gram boyama, katalaz testi, simüle mide suyuna tolerans, safra tuzu toleransı, *in vitro* yapışma, β -galaktozidaz aktivitesi, antimikrobiyal aktivite ve antibiyotiklere duyarlılık testleri yapılmıştır. Tüm bu testlerin sonucunda mide suyu ve safra tuzlarına karşı direnç gösteren *L. reuteri* F03, *L. paracasei* F08, *L. rhamnosus* F14, *L. plantarum* C06 ve *L. acidophilus* C11 olarak tanımlanan beş *Lactobacillus* izolatı, probiyotik özellikler açısından incelenmiştir. İzolatların tümü antibakteriyel aktivite ve Caco-2 hücrelerine yapışma kabiliyeti gösterirken çoğu izolat aminoglikozidlere ve vankomisine direnç, ampisilin, eritromisin ve penisiline duyarlılık göstermiştir. Ayrıca *L. paracasei* F08 ve *L. acidophilus* C11'in, en yüksek β -galaktosidaz aktivitesine sahip suşlar olduğu tespit edilmiştir.

3.MATERYAL VE METOT

3.1.Materyal

Geleneksel yöntemlerle evlerde üretilen ve fermantasyon aşamasını tamamlayan farklı turşu örnekleri laboratuvara getirildikten sonra en hızlı şekilde analize alınmıştır. Çalışma amacıyla farklı yerlerden toplanan turşu örneklerine ait bilgiler Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Analize alınan turşu örnekleri

Kod	Turşu Örneği	İçeriği	Örneğin alındığı yer
A	 	Şalgam	İzmir, Tire
B	 	Salatalık, Yeşil Biber	İzmir, Tire
C		Kırmızı Biber	İzmir, Tire

Çizelge 3.1. Analize alınan turşu örnekleri (devamı)

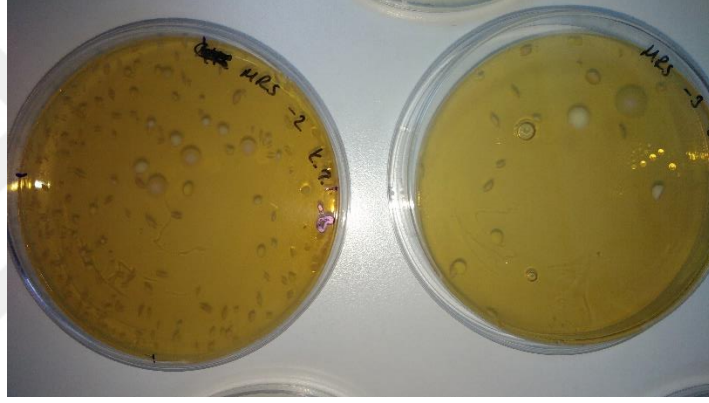
Kod	Turşu Örneği	İçeriği	Örneğin alındığı yer
D		Karışık Turşu Beyaz lahana, Salatalık, Biber	İzmir, Konak
E		Karışık Turşu Salatalık, Yeşil Biber	İzmir, Konak
F		Domates Turşusu Domates, Yeşil Biber	Manisa, Akhisar

Çizelge 3.1. Analize alınan turşu örnekleri (devamı)

Kod	Turşu Örneği	İçeriği	Örneğin alındığı yer
G		Sauerkraut	Beyaz lahana İzmir, Tire
H		Sauerkraut	Beyaz lahana İzmir, Konak
I		Fasulye Turşusu	Taze Fasulye İzmir, Bornova
J		Bamya Turşusu	Bamya İzmir, Bornova

3.1.1.Laktik asit bakterilerlerinin izolasyonu

Laktik asit bakterisi sayımı amacıyla, 25 g örnek (sebze ve suyu) 225 ml %0.1'lik peptonlu suya (PW, pH 6.3 ± 0.2 , Oxoid Ltd. Basignstoke, Hampshire, England, L37) aktarılmış ve stomacher'da (Stomacher Lab-Blender 400, Seward Medical, London, UK) homojenize edildikten sonra desimal dilüsyonlar hazırlanmıştır. Uygun dilüsyonlardan *Lactobacillus* türlerinin izolasyonu için Man-Rogosa and Sharp Agar'a (MRS, pH 6.2 ± 0.2 , Oxoid-CM361) dökme plak yöntemine göre paralel ekimler yapılmış, petriler 30°C 'de 3-5 gün inkübe edilmiş ve inkübasyon süresi sonunda laktik asit bakterisi sayımı yapılmıştır (Bulut, 2003).



Şekil 3.1 Turşu örneklerine ait petri görüntüleri

Petrilerde gelişen koloniler saf kültür elde etmek üzere MRS Broth tüplerine ekilmiştir. Petriler 30°C 'de 48 saat inkübe edilmiş, süre sonunda gelişen kolonilerden yatık MRS Agar besiyerine öze ile ekim yapılarak 30°C 'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra Gram boyama talimatları doğrultusunda hazırlanan ve boyanan preparatlar mikroskop altında incelenmiştir (Harrigan and McCance, 1976). Gram (+) kültürler MRS Broth tüplerine ekilmiş, 30°C 'de 48 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra gelişen kültürler %30 gliserol, %70 besiyeri içeren eppendorf tüplerine 1/1 oranında ilave edilerek -18°C 'de muhafaza edilmiştir.

3.2. Kimyasal Analizler

3.2.1 pH

Turşu örneklerinin pH değerleri, pH metre (Nel Mod 821) ile belirlenmiştir (AOAC, 2007).

3.2.2 Toplam asitlik

Toplam asitlik titrimetrik yöntemle tayin edilmiş olup, sonuçlar yüzde laktik asit cinsinden ifade edilmiştir (AOAC, 2007). 1 ml örnek üzerine 40 mL saf su ve 2-3 damla %1'lik fenolfitaleyn (Merck, Germany) indikatörü ilave edilmiş ve 0.01 N NaOH (Merck, Germany) çözeltisiyle hafif pembe renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Harcanan NaOH miktarı kaydedilmiş ve iki paralelin ortalaması alınarak, sonuçlar aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$N \times V \times F \times mEq \times 100$$

$$\% \text{ Toplam asitlik} = \frac{\text{---}}{G}$$

N: NaOH normalitesi (0.1 N)

V: Harcanan (0.1N) NaOH miktarı (ml)

F: NaOH faktörü

mEq: Laktik asidin mili ekivalen ağırlığı (g) (0.09g)

G: Alınan örnek miktarı (g veya ml)

3.2.3 Tuz

Örneklerin tuz miktarı, Mohr yöntemi esas alınarak belirlenmiştir (Kirk and Sawyer, 1991). Homojen hale getirilmiş 10 g örnek üzerine 1 ml K_2CrO_4

eklenmiş ve 0.1 N AgNO₃ ile kiremit kırmızısı renge ulaşana dek titrasyon yapılmıştır. Alınan süzüntü miktarı kadar saf su ile aynı işlemlerle kör (şahit) deneme yapılmış ve sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$1 \text{ ml } 0.1 \text{ N AgNO}_3 = 0.00585 \text{ g NaCl}$$

$$\% \text{Tuz (g)} = [(0.00585 \times V) / \text{ml}] \times \text{SF} \times 100$$

$$V = \text{Harcanan AgNO}_3 \text{ çözeltisinin hacmi (ml)}$$

$$N = \text{Ayarlanan AgNO}_3 \text{ çözeltisinin derişimi}$$

$$m = \text{Alınan numune miktarı (g)}$$

$$\text{SF} = \text{Seyreltme faktörü}$$

3.3. Mikrobiyolojik Analizler

3.3.1 Mikrobiyolojik sayımlar ve izolasyon

Turşu örneklerinin mikrobiyolojik durumunu belirlemek üzere örneklerde öncelikle laktik asit bakterisi, asetik asit bakterisi ve küf-maya sayımları yapılmıştır. Mikrobiyolojik analiz aşamasında örnekler steril stomacher poşetlerine alınmış, örneğin 1. dilüsyonu %0.1 Peptonlu Su (PW) kullanılarak hazırlanıp Stomacher'da (Stomacher Lab-Blender 400, Seward Medical, London, UK) homojen hale getirilmiştir. Daha sonra elde edilen gıda homojenatının diğer dilüsyonları hazırlanmış ve uygun dilüsyonlardan, petrilere paralel ekimler yapılmıştır.

3.3.1.1 Laktik asit bakterisi sayım ve izolasyonu

Laktik asit bakterilerini izole etmek için uygun dilüsyonlardan hazırlanan Man-Rogosa ve Sharpe Agar'a (MRS, pH 6.2 ± 0.2, Oxoid-CM361) çift tabakalı ekim tekniği kullanılarak ekim yapılmıştır. Daha sonra tüm petriler 30°C'de 3-5 gün inkübasyona bırakılmıştır (Sharpe et al., 1966). Her petriden koloni sayısının

karekökü kadar koloni seçilmiş ve böylece toplamda 114 izolat elde edilmiştir. Tüm izolatlar, MRS Agar'a çizilerek saflık açısından kontrol edilmiştir. Uzun süreli depolama amacıyla izolatlar %15 (h/h) gliserol stoğa alınmış ve -20 ° C'de muhafaza edilmiştir.

3.3.1.2 Asetik asit bakterisi sayımı

Uygun dilüsyonlardan Glucose Yeast Extract Calcium Carbonate Agar (GYC, %10 glikoz, %1 maya ekstraktı, %2 kalsiyum karbonat, %1.5 agar, pH 6.8 $\pm$ 0.2) besiyerine yayma plak yöntemine göre ekim yapılmış ve petriler 30°C'de 5-10 gün inkübe edilmiştir (De Vero et al., 2006).

3.3.1.3 Küf ve maya sayımı

Uygun dilüsyonlardan %10'luk tartarik asitle asitlendirilmiş Potato Dextrose Agar (PDA, pH 5.6 $\pm$ 0.2, Oxoid) besiyerine dökme plak yöntemine göre ekim yapılmış ve petriler 25°C'de 3-5 gün inkübe edilmiştir (FDA-BAM, 2001a).

3.4. Laktik Asit Bakterisi İzolatlarının Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi

3.4.1. Gram boyama

Sıvı kültürden yatık MRS Agar tüplerine öze ile ekimi yapılan izolatlar 30°C'de 48 saat inkübe edilmiş, elde edilen taze kültürün Gram reaksiyonunu belirlemek üzere, Gram boyama talimatları doğrultusunda preparatlar hazırlanmış ve mikroskop altında incelenmiştir (Harrigan and McCance, 1976).

Gram pozitif ve katalaz negatif özellik gösteren izolatlar potansiyel laktik asit bakterisi olarak kabul edilmiştir. Bu izolatlar (114) ayrıca fenotipik ve genotipik analizler ile karakterize edilmiştir.

3.4.2.Farklı pH değerlerinde gelişimin belirlenmesi

Taze kültürlerden pH değeri 2, 3 ve 4'ye ayarlanan MRS Broth besiyerlerine öze ile ekim yapılmış ve tüpler 30°C'de 96 saat inkübe edilmiştir. Tüplerde bulanıklık oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir (Papamanoli et al., 2003; G-Allegria et al., 2004).

3.4.3.Farklı sıcaklıklarda gelişimin belirlenmesi

İzolatlar MRS Broth besiyerlerine öze ile inoküle edilmiş ve ekim yapılan tüpler 10, 25 ve 45°C olmak üzere üç farklı sıcaklıkta inkübe edilmiştir. Gelişme varlığı bulanıklık oluşumu ile değerlendirilmiştir (Hébert et al., 2000).

3.4.4. Safra tuzlarına toleransın belirlenmesi

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

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

(N_i = log KOB/ml 4 saatlik inkübasyon sonrası, N_x = log KOB/ml başlangıç miktarı) (Zielińska et al., 2014).

3.4.5 Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimin belirlenmesi

Geliştirilen taze kültürlerden %1.5 ve %10 NaCl içeren MRS besiyerine ekim yapılmış ve tüplerdeki bulanıklık pozitif olarak değerlendirilmiştir (Adnan ve Tan, 2007).

3.4.6 Antimikrobiyal aktivite

İzolatların antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi amacıyla disk difüzyon yönteminden yararlanılmıştır (Wootton, 2013). Çalışmada test kültürü olarak *Listeria monocytogenes* ATCC 13932, *Staphylococcus aureus* 6538P, *Escherichia coli* ATCC 43888, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43895, *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311 ve *Bacillus cereus* No 8 kullanılmıştır. Gliserol stok olarak muhafaza edilen test kültürlerinin aktivasyonu amacıyla kültürler öncelikle Tryptic Soy Broth (TSB, pH 7.3±0.2, Oxoid) besiyerine transfer edilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bu işlem iki kez tekrarlandıktan sonra elde edilen taze kültürler Plate Count Agar (PCA, pH 7.0±0.2, Oxoid) besiyerine yayılmıştır. Diskler taze LAB izolatları ile muamele edilerek test kültürlerinin yayıldığı petriye yerleştirilmiş ve 30°C'de 48 saat inkübe edilen petrilere zon oluşumu kayıt altına alınmıştır.

3.4.7 %0.4 (h/h) fenol'e dayanıklılık

Geliştirilmiş taze kültürler, %0.4 fenol içeren MRS sıvı besiyerine inoküle edildikten hemen sonra ve 24 saat inkübasyon sonrasında, MRS Agar petrilere yayma plak yöntemine göre ekilmiş ve petrilere 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra canlı hücre sayımları yapılmıştır (Zielińska et al., 2014).

3.4.8 Pepsin ve pankreatin varlığında gelişimin belirlenmesi

Pepsin varlığında gelişimin belirlenmesi amacıyla taze kültürler, içerisinde %1 oranında FTS (%0.85 NaCl, 3 mg/mL pepsin, pH 2.5) çözeltisi bulunan ortama inoküle edilmiş ve tüpler 30°C'de 4 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon öncesi ve sonrası yayma plak yöntemine göre petrilere ekim yapılmış ve 30°C'de 48 saat inkübasyon sonrası yapılan sayımlarla kültürlerin canlılık düzeyleri belirlenmiştir (Musikasang et al., 2009; Tokatlı ve ark., 2015).

İzolatların pankreatin varlığında canlılıklarını belirlemek üzere %1 oranında FTS (%0.85 NaCl, %0.3 safra tuzu, 1 mg/mL pankreatin, pH 8) çözeltisi içeren ortama taze kültür inokulasyonu yapılmış ve tüpler 30°C'de 6 saat inkübe

edilmiştir. İnkübasyon öncesi ve sonrası yayma plak yöntemine göre petrilere ekim yapılmış ve 30°C'de 48 saat inkübasyon sonrası yapılan sayımlarla kültürlerin canlılık düzeyleri belirlenmiştir (Musikasang et al. 2009; Tokatlı ve ark., 2015).

3.4.9 Antibiyotiklere karşı direncin belirlenmesi

İzolatların antibiyotiklere karşı direncini belirlemek üzere disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. İzolatların chloramphenicol (C, 30µg, Oxoid), ampicillin (AMP, 10µg, Oxoid), erythromycin (E, 15µg, Oxoid), gentamicin (CN, 10µg, Oxoid), kanamycin (K, 30µg, Oxoid) antibiyotiklerine karşı direnci test edilmiştir. Geliştirilen taze kültürler MRS Agar besiyerlerine yayılmış ve ardından antibiyotik diskleri besiyeri üzerine yerleştirilmiştir. 30°C'de 48 saat inkübasyon sonrası petrilere oluşan zonların çapları ölçülmüştür (Tambekar and Bhutada, 2010).

3.4.10 Hemolitik aktivite

Bakteri izolatlarının hemolitik aktivitesini belirlemek üzere kültürler MRS Broth tüplerinde geliştirilmiş ve Columbia agar+5% sheep blood (Biomérieux) besiyerine çizme plak yöntemine göre ekim yapılmış, ardından petrilere 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Monika ve ark., 2017).

İnkübasyon sonunda gelişme tiplerine göre şu şekilde değerlendirme yapılmıştır:

-Beta Hemolitik; kanlı agar petrilere geliştiğinde kolonilerinin etrafında eritrositlerin tam olarak eritilmesine bağlı olarak şeffaf zonlar oluşur.

-Alfa Hemolitik; kanlı agar petrilere geliştiğinde kolonilerinin etrafında eritrositlerin tam olarak eritilmemesi sonucu yeşilimsi bir bölge oluşur.

- Gama Hemolitik (Non Hemolitik); kanlı agar petrilere geliştiğinde koloni etrafında herhangi bir hemoliz oluşmaz.

3.4.11 Enzim aktivitesinin belirlenmesi

3.4.11.1 Proteolitik aktivite

Proteolitik aktivitenin belirlenmesi amacıyla 5 ml steril skim milk (%10'luk) besiyerine, taze kültürden %1 oranında inokülasyon yapılmış ve tüpler 30°C'de 42 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda örnekler 1 ml destile su ve 10 ml 0.72 N Triklorasetik Asit (TCA) ilave edilerek karıştırılmış ve 10 dakika bekletildikten sonra örnekler Whatman 1 filtre kağıdından süzölmüştür. Filtratlardan 5 ml alınıp üzerine 10 ml Na₂CO₃, Na₄P₂O₇ çözeltisinden ilave edilerek karıştırılmış, ardından 3 ml fenol ayıracı eklenerek mavi renk oluşana kadar sürekli karıştırma işlemi uygulanmıştır. Bu işlem sonunda örnekler 4500 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüj edilmiş ve santrifüj sonunda üstte kalan berrak mavi kısım alınarak spektrofotometrede 650 nm dalga boyunda OD ölçümleri yapılmıştır. Örneklerin proteolitik aktiviteleri standarda göre hesaplanmıştır. Proteolitik aktivitelerin tespiti için, oluşan aminoasitlere eşdeğer olarak tirozin aminoasiti esas alınmış ve hesaplama buna göre yapılmıştır (Şimşek ve ark., 2006; Ertekin, 2007)

Proteolitik aktivite standart kurve eldesi: 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.8, 0.10, 0.12 mg/ml tirozin içerecek şekilde hazırlanmış, 5 ml steril skim milk (%10'luk) besiyerine, metotta belirtilen aynı işlemler uygulanarak standart kurve çizilmiştir.

Proteolitik aktivitenin tespitinde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

Fenol ayıracı: 1 kısım Folin Ciocalteus çözeltisi, 2 kısım suyla karıştırılarak her seferinde taze olarak hazırlanmıştır.

Triklorasetik asit (TCA): 0.72 N TCA hazırlanmıştır.

Na₂CO₃, Na₄P₂O₇: 75 gr Na₂CO₃ ve 10 gr Na₄P₂O₇ destile suda çözölerek 500 ml'ye destile suyla tamamlanmıştır.

Tirozin ana stok çözeltisinin hazırlanması: 0.1 g tirozin tartılmış ve 250 ml destile su içerisinde çözülmüştür. Tirozin zor çözünen bir madde olduğu için öncelikle 200 ml kadar destile su ile hafif hafif ısıtılarak (45-50°C) çözülmüş, ardından 250 ml'ye tamamlanarak iyice karıştırılmıştır. Tirozin eriyince renksiz, berrak bir hal almıştır.

Ana stoktan tirozin standartlarının hazırlanması: Ana stok tirozin çözeltisinden 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10 ve 0.12 mg tirozin/ml konsantrasyonlu standartlar aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır:

ST1 (0.01 mg tirozin/ml) 5 ml skim-milk besiyerine ana stoktan 125 μ l ilave edilmiştir.

ST2 (0.02 mg tirozin/ml) 5 ml skim-milk besiyerine ana stoktan 250 μ l ilave edilmiştir.

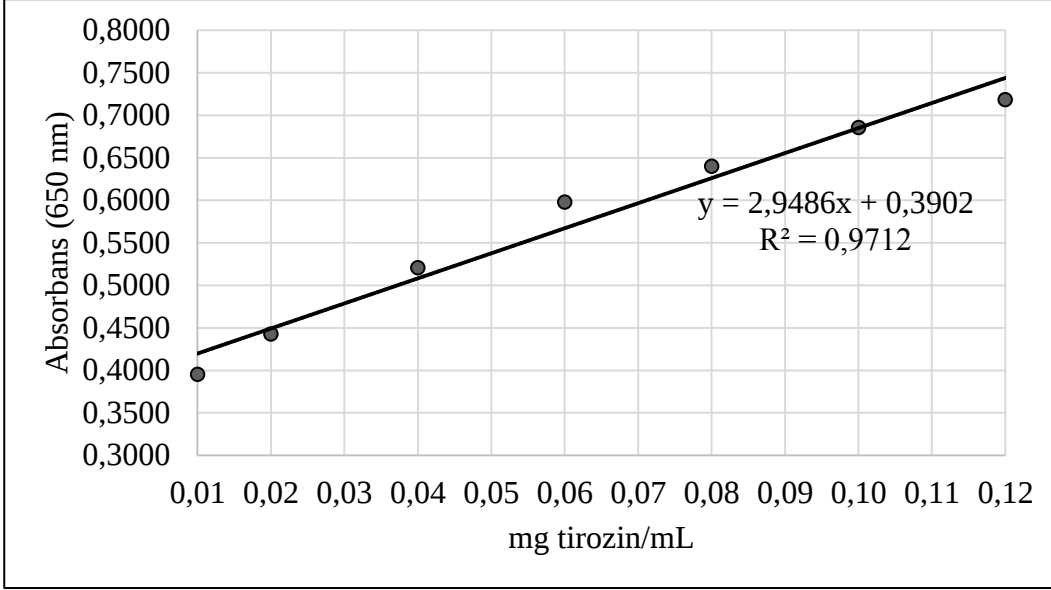
ST3 (0.04 mg tirozin/ml) 5 ml skim-milk besiyerine ana stoktan 500 μ l ilave edilmiştir.

ST4 (0.06 mg tirozin/ml) 5 ml skim-milk besiyerine ana stoktan 750 μ l ilave edilmiştir.

ST5 (0.08 mg tirozin/ml) 5 ml skim-milk besiyerine ana stoktan 1000 μ l ilave edilmiştir.

ST6 (0.10 mg tirozin/ml) 5 ml skim-milk besiyerine ana stoktan 1250 μ l ilave edilmiştir.

ST7: (0.12 mg tirozin/ml) 5 ml skim-milk besiyerine ana stoktan 1500 μ l ilave edilmiştir.



Şekil 3.2. Tirozin standart eğrisi

3.4.11.2 β -Galaktosidaz aktivitesi

Laktozlu MRS Broth besiyerinde geliştirilen kültürden bir öze dolusu alınmış ve 0.25 ml fizyolojik suda süspanse edilmiştir. Süspansiyonun üzerine 0.25 ml Ortho Nitrofenil-D-Galaktopronosid (ONPG) peptonlu besiyeri ilave edilerek optimum sıcaklıkta (30°C'de) 3-4 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda tüplerde sarı rengin meydana gelmesi pozitif, renk değişikliğinin olmaması ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Hébert et al., 2000).

3.4.12 Probiyotik özellik gösteren izolatların genotipik olarak tanımlanması

Probiyotik özellikleri belirlenen mikroorganizmalardan temsili olarak seçilen izolatlar genotipik tanımlama yapılmıştır. İzolatların genotipik tanımlaması hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir.

3.4.12.1 DNA izolasyonu

Bakterilerden DNA izolasyonu Bacteria Genomic DNA Purification Kit (Genemark) ile gerçekleştirilmiştir. Sıvı besiyerindeki bakterilerin bir kısmı alınarak 14000g'de 2 dakika santrifüj edilmiştir. Sonrasında ise 25µl lizozim ile 37°C'de inkübe edilmiştir. Daha sonra izolasyon işlemi kitin prosedürüne göre devam ettirilmiştir. Elüsyon 100µl elüsyon tamponu içerisinde yapılmıştır.

3.4.12.2 Konvansiyonel polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

PCR işlemi Bio Rad T100 Thermal Cycler cihazında yapılmıştır. Primerler bakterilerin ribozomal RNA bölgelerini çoğaltması için uygun dizilerdir. Bakteri türüne bağlı olarak yaklaşık olarak 1400bp uzunluğunda ürün vermektedir (Çizelge 3.2)(Çizelge 3.3).

Çizelge 3.2 Konvansiyonel PCR Miks Miktarları

Reaksiyon Karisimi	Miktar
10X Buffer	4 ul
0.5 mM dNTP	4 ul
10 uM Forward Primer	0.8 ul
10 uM Reverse Primer	0.8 ul
Template DNA	3 ul
GeneTaq DNA Polymerase	0.25 ul
dH2O	27.15 ul

Çizelge3.3 PCR termal profil

95°C 5 dk	
95°C 30 sn	
58°C 30 sn	40 döngü
72°C 1 dk	
72°C 5 dk	

3.4.12.3 Jel elektroforezi

Primerler bakterilerin ribozomal RNA bölgelerini çoğaltması sonrası elde edilen proteinler, %1 agaroz jelde SYBR Gold nukleik asit boyası (Tibo) ile yürütülmüş ve oluşan protein bantları görüntülenerek moleküler büyüklükleri hesaplanmıştır.

Tür düzeyindeki tanımlamalar kesin olarak 16S rRNA dizi analizleri ile ortaya konulmuş ve sekansların Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) veritabanında yüksek benzerlik gösteren türler ile karşılaştırılmasıyla identifikasyon oranları ortaya konmuştur. İzolatlar arasındaki benzerlik Mega7 programıyla oluşturulan filogenetik ağaç ile belirlenmiştir.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Turşu Örneklerinin Fizikokimyasal Özellikleri

4.1.1 pH

Çalışma kapsamında toplanan turşu örneklerinin pH değerlerinin 2.80 ile 4.10 arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 Turşu örneklerinin pH değeri

Kod	pH
A	3.64±0.11
B	3.57±0.16
C	4.10±0.00
D	3.31±0.07
E	3.35±0.07
F	3.37±0.05
G	3.79±0.06
H	3.57±0.16
I	3.35±0.05
J	2.80±0.00

Turşu örnekleri pH değerleri açısından karşılaştırıldığında, bamya turşusunun en düşük pH değerine sahip olduğu, kırmızı biber turşusunun ise en yüksek pH değerine sahip örnek olduğu tespit edilmiştir.

Lahana turşusu fermentasyonunun ilk aşamasında pH değerinin 5.5 seviyesinde olduğu, başlangıçta *Leu. mesenteroides* baskın konumdayken ilerleyen aşamada pH değerinin 4'ün altına düştüğü, *Leuconostoc* popülasyonundaki azalma ile diğer LAB'lerinin ortamda baskın hale geldiği

(özellikle, *L. plantarum* ve *L. brevis*) ve fermentasyonun sona ermesi ile birlikte pH değerinin 3.4 - 3.6 seviyesine düştüğü bildirilmektedir (Hutkins, 2006).

4.1.2 Toplam asitlik

Turşu örneklerinin toplam asitlik miktarlarının laktik asit cinsinden 0.30–1.18 g/100 ml arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 Turşu örneklerinin toplam asitliği

Kod	Toplam asitlik (g/100 ml)
A	0.34±0.01
B	0.30±0.04
C	0.44±0.01
D	0.39±0.00
E	0.31±0.01
F	0.62±0.02
G	0.40±0.01
H	0.32±0.05
I	0.95±0.00
J	1.18±0.06

Turşu örnekleri asitlik değerleri açısından karşılaştırıldığında en yüksek asitlik değerinin bamyı turşusunda, en düşük asitlik değerinin ise karışık turşu örneğinde olduğu tespit edilmiştir.

Lahana turşusunun fermentasyon sürecinde heterolaktik veya gaz faz olarak adlandırılan birinci aşamada, tuza toleranslı ve düşük sıcaklıklarda (15°C - 18°C) gelişebilen *Leu. mesenteroides*'in baskın olduğu, bu mikroorganizmanın gelişimi ile oluşan asidik ortamın (laktik asit olarak %0.6 - %0.8), sadece laktik olmayan rekabetçi florayı inhibe etmekle kalmayıp, aynı zamanda diğer LAB'lerinin

gelişimi de desteklediği, ancak asit konsantrasyonu %1.0'e yaklaştığında, *Leu. mesenteroides*'in kendiliğinden inhibe olduğu bildirilmektedir. Fermantasyonun bir sonraki aşaması olan hemolaktik fazda ise *Leuconostoc* popülasyonundaki azalma ile diğer LAB'lerinin baskın hale geldiği bildirilmektedir (Özellikle, *L. plantarum* ve *L. brevis*). Son olarak, asitlik %1.6'ya yaklaştığında ve pH 4.0'ün altına düştüğünde, ortamda sadece aside toleranslı *L. plantarum* canlılığını sürdürebilmektedir. Turşunun asitliği yaklaşık %1.7 olduğunda fermantasyonun genellikle tamamlandığı kabul edilmektedir (Hutkins, 2006).

Genel olarak farklı turşularda toplam asitlik değerinin laktik asit cinsinden %0.6 – %1.2 aralığında olduğu bildirilmektedir (Hutkins, 2006). Bu çalışma kapsamında incelenen turşu örneklerinin laktik asit cinsinden toplam asitlik değerlerinde (0.30–1.18 g/100 ml) literatürde verilen değerlere paralellik göstermektedir.

Tokatlı ve arkadaşlarının (2015) yaptığı çalışmada turşu örneklerinin laktik asit cinsinden toplam asitlik değerleri 0,11-1,11 g/100 mL arasında belirlenmiştir. Susilowati ve arkadaşlarının (2018) yaptığı diğer bir çalışmada ise zencefil turşusu örneklerinin toplam asitlik değerleri laktik asit cinsinden 0.50 – 0.93 g/100 ml arasında bulunmuştur.

4.1.3 Tuz

Çalışma kapsamında incelenen turşu örneklerinin tuz miktarının %2.34 ile %4.2 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Örnekler içerisinde en düşük tuz konsantrasyonu domates turşusuna (F) ait iken en yüksek tuz konsantrasyonu bamya turşusuna (J) aittir.

Çizelge 4.3 Turşu örneklerinin %tuz miktarı

Kod	%Tuz (g)
A	2.45±0.15
B	3.66±0.04
C	2.34±0.08
D	2.37±0.04
E	2.49±0.21
F	2.34±0.08
G	2.41±0.00
H	3.60±0.13
I	1.52±0.17
J	4.20±0.17

Tuz, turşu fermentasyonu sırasında önemli görevleri yerine getirmektedir. Tuz, ürüne arzu edilen bir tat vermenin yanı sıra dokuların yumuşamasını önleyerek gevrek dokuyu korumaya yardımcı olmaktadır. Bunun dışında sauerkraut turşusunda ideal koşullarda %2.25 oranında bulunan tuz, laktik olmayan mikroorganizmaların çoğunun gelişimini engelleyen seçici koşullar sağlar. Sauerkraut yapımında tuzun lahana ile karıştırılmasından kısa bir süre sonra, basit ozmoz nedeniyle su, bitki dokusunun iç kısmından dış ortama dağılmaya başlar. Oluşan tuzlu su, şeker ve suyla dağılan diğer çözünmüş besinler içerir. Dolayısıyla bu su fazı, mikrobiyal aktivitede önemli işlev görmektedir.

Tuz oranı %5'ten daha az olan turşularda baskın olarak *Leu. mesenteroides*'in gelişimi gözlenmektedir. Düşük tuz oranlarındaki turşularda ise ayrıca koliform, *Bacillus*, *Pseudomonas* ve *Flavobacterium* dahil olmak üzere doğal floranın istenmeyen üyelerinin gelişimi gözlenebilmektedir. %5-%8 arasındaki tuz konsantrasyonlarında, *Leuconostoc* gelişimi inhibe edilir ve bunun yerini *Pediococcus* sp. ve *L. plantarum* alır.

Tokatlı ve arkadaşlarının (2015) yaptığı çalışmada turşu örneklerinin tuz konsantrasyonları 1.34-6.94 g/100 mL arasında belirlenmiştir. Bu değer bizim çalışmamızda kullandığımız turşu örneklerinin % tuz değerleri aralığı ile kıyaslandığında oldukça yüksektir. Benzer şekilde Susilowati ve arkadaşlarının (2018) yaptığı bir diğer çalışmada ise zencefil turşu örneklerinin tuz konsantrasyonları %2.5 - %7.5 arasında belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalara ve literatürde kabul edilen verilere bakıldığında bu çalışmada incelenen turşu örneklerinin tuz konsantrasyonlarının kabul edilebilir değerlerde olduğu görülmektedir.

4.2 Turşu Örneklerinin Mikrobiyolojik Özellikleri

Turşu örneklerine ait LAB, AAB ve maya sayıları, Çizelge 4.4'te verilmiştir. F, I ve J örnekleri dışındaki tüm örneklerde, 30°C'lik inkübasyon sonunda MRS petrilerinde koloni gelişimi gözlenmiştir (Çizelge 4.4). Bu sonuç, bu üç turşu örneğinde mezofilik LAB cinslerinin bulunmadığını veya varsa bile bu mikroorganizmaların MRS besiyerinde gelişemediklerini göstermektedir.

Çizelge 4.4 Turşu örneklerinde mikrobiyolojik sayım sonuçları

Turşu Örnekleri	LAB (kob/g)	AAB (kob/g)	Maya (kob/g)
A	8.04x10 ⁵ ±0.24	4.05x10 ² ±0.14	<2
B	7.41x10 ³ ±0.68	2.30x10 ² ±0.07	3.54x10 ² ±0.17
C	8.00x10 ⁵ ±0.83	5.20x10 ³ ±0.26	4.45x10 ² ±0.11
D	8.12x10 ⁴ ±0.09	<2	3.77x10 ² ±0.29
E	6.48x10 ⁶ ±1.27	<2	4.88x10 ² ±0.37
F	<2	<2	4.65x10 ² ±0.28
G	8.25x10 ⁵ ±0.43	<2	<2
H	8.14x10 ⁵ ±0.35	5.09x10 ³ ±0.44	<2
I	<2	3.07x10 ² ±0.27	<2
J	<2	<2	<2

4.3 Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu

MRS Agar'da yapılan ekim sonucunda petride gelişen koloni sayısının karakökü kadar koloni tanımlama amacıyla seçilmiştir. Seçilen koloniler ilk aşamada saflık kontrolünün yapılması amacıyla tek koloni düşürme tekniği kullanılarak çizme plak yöntemine göre MRS agar üzerine çizilmiştir. Burada tek düşen kolonilere Gram boyama ve katalaz testi uygulanmış, Gram pozitif ve katalaz negatif olan izolatlar potansiyel LAB izolatı olarak stoğa alınmıştır. Örnek bazında bakıldığında A kodlu şalgam turşusundan 22 izolat, B kodlu karışık turşu örneğinden 15 izolat, C kodlu kırmızı biber turşusundan 15 izolat, D ve E kodlu karışık turşu örneklerinden sırasıyla 17 ve 6 izolat, G ve H kodlu Sauerkraut örneklerinden sırasıyla 9 ve 30 izolat olmak üzere toplam 114 izolat potansiyel LAB'si olarak değerlendirilmiştir F, I ve J kodlu domates, fasulye ve bamya turşularından ise LAB izolatı elde edilememiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5 İzolat sayısı ve izolasyon kaynakları

Kod	Turşu Örneği	Elde Edilen İzolat Sayısı
A	Şalgam Turşusu	22
B	Karışık Turşu	15
C	Kırmızı Biber Turşusu	15
D	Karışık Turşu	17
E	Karışık Turşu	6
F	Domates Turşusu	0
G	Sauerkraut	9
H	Sauerkraut	30
I	Fasulye Turşusu	0
J	Bamya Turşusu	0

4.4 İzolatların Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi

Çalışma kapsamında elde edilen toplam 114 izolatın probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla izolatlara farklı pH, sıcaklık ve tuz değerlerinde gelişim, safra tuzuna tolerans, antimikrobiyal aktivite, %0.4 (h/h) fenol'e dayanıklılık, pepsin ve pankreatin varlığında gelişim, antibiyotiklere karşı direnç, hemolitik aktivite, proteolitik aktivite ve β -Galaktosidaz aktivitesi analizleri uygulanmıştır.

4.4.1 Farklı pH değerlerinde gelişim

Ortamin pH değeri mikroorganizma gelişimini önemli derecede etkileyen faktörlerdendir. Probiyotikler, özellikle mide asitliği gibi düşük pH değerlerinde canlılığını sürdürebilen mikroorganizmalardır. Bu nedenle çalışma kapsamında izolatların farklı pH değerlerinde gelişimi test edilmiştir. İzolatlar pH değeri 2.3 ve 4 olarak ayarlanan MRS sıvı besiyerlerine ekilmiş ve inokülasyon sonunda tüplerde bulanıklık oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.6). Toplam 114 izolattan sadece üç adedi (BL11, DL1 ve DL15) tüm pH değerlerinde gelişim gösterirken, 65 adet izolat pH 3 değerinde, 95 adet izolat pH 4 değerinde gelişim göstermiştir.

Çizelge 4.6 İzolatların farklı pH değerlerinde gelişimi

İzolat Kodu	pH						İzolat Kodu	pH					
	48 saat sonra			96 saat sonra				48 saat sonra			96 saat sonra		
	2	3	4	2	3	4		2	3	4	2	3	4
AL1	-	-	+	-	-	+	DL6	-	-	-	-	-	-
AL2	-	+	+	-	+	+	DL7	-	+	+	-	+	+
AL3	-	+	+	-	+	+	DL8	-	-	-	-	-	-
AL4	-	+	+	-	+	+	DL9	-	-	+	-	+	+
AL5	-	+	+	-	+	+	DL10	-	-	+	-	+	+
AL6	-	-	+	-	+	+	DL11	-	-	+	-	-	+
AL7	-	+	+	-	+	+	DL12	-	-	+	-	-	+
AL8	-	+	+	-	+	+	DL13	-	-	+	-	-	+
AL9	-	+	+	-	+	+	DL14	-	-	+	-	-	+
AL10	-	-	+	-	+	+	DL15	+	+	+	+	+	+
AL11	-	+	+	-	+	+	DL16	-	-	+	-	-	+
AL12	-	+	+	-	+	+	DL17	-	+	+	-	+	+

Çizelge 4.6 İzolatların farklı pH değerlerinde gelişimi (devamı)

İzolat Kodu	pH						İzolat Kodu	pH					
	48 saat sonra			96 saat sonra				48 saat sonra			96 saat sonra		
	2	3	4	2	3	4		2	3	4	2	3	4
AL13	-	+	+	-	+	+	EL1	-	-	-	-	-	-
AL14	-	+	+	-	+	+	EL2	-	+	+	-	+	+
AL15	-	+	-	-	+	-	EL3	-	+	+	-	+	+
AL16	-	+	+	-	+	+	EL4	-	+	+	-	+	+
AL17	-	+	+	-	+	+	EL5	-	+	+	-	+	+
AL18	-	+	-	-	+	-	EL8	-	-	+	-	+	+
AL19	-	+	+	-	+	+	GL1	-	+	+	-	+	+
AL20	-	+	+	-	+	+	GL3	-	-	+	-	-	+
AL22	-	-	-	-	-	-	GL4	-	-	-	-	-	-
AL25	-	+	+	-	+	+	GL6	-	-	+	-	-	+
BL1	-	+	+	-	+	+	GL7	-	-	+	-	-	+
BL3	-	+	+	-	+	+	GL9	-	-	-	-	-	-
BL4	-	+	+	-	+	+	GL11	-	-	+	-	-	+
BL5	-	+	+	-	+	+	GL12	-	-	+	-	-	+
BL6	-	+	+	-	+	+	GL13	-	-	+	-	-	+
BL8	-	+	+	-	+	+	HL1	-	-	+	-	-	+
BL9B	-	+	-	-	+	-	HL2	-	-	+	-	+	+
BL9	-	-	-	-	-	-	HL3	-	-	+	-	-	+
BL10	-	+	+	-	+	+	HL4	-	-	-	-	-	-
BL11	+	+	+	+	+	+	HL6	-	-	-	-	-	-
BL12	-	+	+	-	+	+	HL7	-	+	+	-	+	+
BL13	-	+	+	-	+	+	HL8	-	-	-	-	-	-
BL14	-	+	+	-	+	+	HL9	-	-	-	-	-	-
BL16	-	+	+	-	+	+	HL10	-	-	+	-	+	+
BL17	-	+	+	-	+	+	HL11	-	-	+	-	+	+
CL1	-	+	+	-	+	+	HL12	-	+	+	-	+	+
CL2	-	+	+	-	+	+	HL13	-	+	+	-	+	+
CL5S	-	+	+	-	+	+	HL14	-	-	+	-	+	+
CL6	-	-	-	-	-	-	HL15	-	-	-	-	-	-
CL7	-	+	+	-	+	+	HL16	-	-	+	-	+	+
CL8	-	-	-	-	-	-	HL17	-	-	+	-	-	+
CL10	-	+	+	-	+	+	HL18	-	-	+	-	-	+
CL12	-	-	+	-	-	+	HL21	-	-	+	-	-	+
CL13	-	-	+	-	+	+	HL22	-	-	-	-	-	-
CL14	-	-	+	-	-	+	HL23	-	-	+	-	-	+
CL15	-	-	-	-	-	-	HL24	-	-	+	-	-	+
CL16	-	-	+	-	-	+	HL25	-	-	+	-	-	+
CL17	-	+	+	-	+	+	HL26	-	-	+	-	-	+
CL18	-	-	-	-	-	-	HL27	-	-	-	-	-	-
CL19	-	-	-	-	-	-	HL28	-	-	+	-	-	+
DL1	+	+	+	+	+	+	HL29	-	-	+	-	+	+
DL2	-	+	+	-	+	+	HL30	-	-	+	-	-	+
DL3	-	-	+	-	+	+	HL31	-	-	+	-	-	+
DL4	-	+	+	-	+	+	HL32	-	-	+	-	-	+
DL5	-	-	-	-	-	-	HL33	-	-	+	-	-	+

Bazı araştırmacılar, farklı turşu örneklerinden izole ettikleri LAB'nin probiyotik özelliklerini belirlemek amacıyla, bu izolatların farklı pH değerlerinde gelişimini incelemişlerdir. G-Allegria et al. (2004) tarafından yürütülen çalışmada turşudan izole edilen *L. plantarum*'un pH 3.2, 3.3 ve 3.6'de gelişme gösterdiği, Boricha et al. (2019) tarafından yapılan çalışmada ise turşudan izole edilen *Lactobacillus* suşlarının pH 3 değerinde 6.2-7.7 log kob/mL seviyesinde gelişim gösterdiği ortaya koyulmuştur.

Yapılan diğer bir çalışmada, Hindistan'ın geleneksel turşusundan 15 adet LAB izole edilmiş ve izolatların pH 3.5, 6.5 ve 8.5 değerlerinde gelişimi test edilmiştir. Çalışma sonucunda tüm izolatların pH 6.5 ve 8.5 değerlerinde gelişim gösterdiği, bununla birlikte sadece 7 izolatın pH 3.5'de gelişebildiği belirlenmiştir (Monika et al., 2017).

4.4.3 Farklı sıcaklıklarda gelişim

İzolatların 10, 25 ve 45°C olmak üzere üç farklı sıcaklıkta gelişim özellikleri incelenmiştir. Toplam 114 izolattan sadece 20 adedi 10°C'de gelişim gösterirken, izolatların çoğu 25°C'de canlılığını sürdürmüş, bununla birlikte hiçbir izolat 45 °C'de gelişim göstermemiştir (Çizelge 4.7).

Şimşek (2003) tarafından yapılan çalışmada, turşudan izole edilen 3 adet *L. plantarum* izolatının da 15°C'de gelişebildiği, sadece 1 adedinin ise 45°C'de gelişim gösterebildiği belirlenmiştir.

Yapılan diğer bir çalışmada, Hindistan'a özgü geleneksel turşudan izole edilen 15 adet LAB'sinin 15°C, 30°C ve 45°C'de canlılığı test edilmiş, tüm izolatların 15°C ve 30°C'de gelişim gösterdiği, ancak sadece 7 izolatın 45°C'de canlılığını sürdürdüğü tespit edilmiştir (Monika et al., 2017).

Çizelge 4.7. İzolatların farklı sıcaklık değerlerinde gelişimi

İzolat Kodu	SICAKLIK						İzolat Kodu	SICAKLIK					
	48 saat sonra			96 saat sonra				48 saat sonra			96 saat sonra		
	10°C	25°C	45°C	10°C	25°C	45°C		10°C	25°C	45°C	10°C	25°C	45°C
AL1	-	+	-	-	+	-	DL6	-	-	-	-	-	-
AL2	-	-	-	-	-	-	DL7	-	+	-	-	+	-
AL3	-	-	-	-	-	-	DL8	-	+	-	-	+	-
AL4	-	-	-	-	-	-	DL9	-	+	-	+	+	-
AL5	-	-	-	-	-	-	DL10	-	+	-	+	+	-
AL6	-	-	-	-	-	-	DL11	-	+	-	+	+	-
AL7	-	-	-	-	-	-	DL12	-	+	-	+	+	-
AL8	-	-	-	-	-	-	DL13	-	+	-	+	+	-
AL9	-	+	-	-	+	-	DL14	-	+	-	+	+	-
AL10	-	-	-	-	-	-	DL15	-	+	-	+	+	-
AL11	-	-	-	-	-	-	DL16	-	+	-	+	+	-
AL12	-	-	-	-	-	-	DL17	-	+	-	+	+	-
AL13	-	+	-	-	+	-	EL1	-	+	-	-	+	-
AL14	-	+	-	-	+	-	EL2	-	-	-	-	-	-
AL15	-	-	-	-	-	-	EL3	-	+	-	-	+	-
AL16	-	+	-	-	+	-	EL4	-	+	-	-	+	-
AL17	-	-	-	-	-	-	EL5	-	+	-	-	+	-
AL18	-	+	-	-	+	-	EL8	-	+	-	-	+	-
AL19	-	-	-	-	-	-	GL1	-	+	-	-	+	-
AL20	-	-	-	-	-	-	GL3	-	+	-	+	+	-
AL22	-	+	-	-	+	-	GL4	-	-	-	-	+	-
AL25	-	-	-	-	-	-	GL6	-	+	-	-	+	-
BL1	-	-	-	-	-	-	GL7	-	+	-	+	+	-
BL3	-	-	-	-	-	-	GL9	-	-	-	-	-	-
BL4	-	-	-	-	-	-	GL11	-	+	-	+	+	-
BL5	-	-	-	-	-	-	GL12	-	+	-	-	+	-
BL6	-	-	-	-	-	-	GL13	-	+	-	+	+	-
BL8	-	-	-	-	-	-	HL1	-	+	-	-	+	-
BL9B	-	+	-	+	+	-	HL2	-	+	-	-	+	-

Çizelge 4.7. İzolatların farklı sıcaklık değerlerinde gelişimi (devamı)

İzolat Kodu	SICAKLIK						İzolat Kodu	SICAKLIK					
	48 saat sonra			96 saat sonra				48 saat sonra			96 saat sonra		
	10°C	25°C	45°C	10°C	25°C	45°C		10°C	25°C	45°C	10°C	25°C	45°C
BL9	-	-	-	-	-	-	HL3	-	+	-	-	+	-
BL10	-	-	-	-	-	-	HL4	-	+	-	-	+	-
BL11	-	-	-	-	-	-	HL6	-	+	-	-	+	-
BL12	-	-	-	-	-	-	HL7	-	+	-	-	+	-
BL13	-	-	-	-	-	-	HL8	-	-	-	-	-	-
BL14	-	-	-	-	-	-	HL9	-	-	-	-	-	-
BL16	-	-	-	-	-	-	HL10	-	-	-	-	-	-
BL17	-	-	-	-	-	-	HL11	-	-	-	-	-	-
CL1	-	-	-	-	-	-	HL12	-	-	-	-	-	-
CL2	-	+	-	-	+	-	HL13	-	-	-	-	-	-
CL5S	-	+	-	-	+	-	HL14	-	-	-	-	-	-
CL6	-	-	-	-	-	-	HL15	-	-	-	-	-	-
CL7	-	-	-	-	-	-	HL16	-	-	-	-	+	-
CL8	-	+	-	-	+	-	HL17	-	-	-	-	-	-
CL10	-	+	-	-	+	-	HL18	-	-	-	-	-	-
CL12	-	+	-	+	+	-	HL21	-	+	-	-	+	-
CL13	-	+	-	+	+	-	HL22	-	-	-	-	-	-
CL14	-	+	-	+	+	-	HL23	-	+	-	-	+	-
CL15	-	+	-	-	+	-	HL24	-	+	-	-	+	-
CL16	-	+	-	-	+	-	HL25	-	+	-	-	+	-
CL17	-	+	-	-	+	-	HL26	-	+	-	-	+	-
CL18	-	+	-	-	+	-	HL27	-	-	-	-	-	-
CL19	-	-	-	-	-	-	HL28	-	+	-	-	+	-
DL1	-	+	-	-	+	-	HL29	-	+	-	-	+	-
DL2	-	+	-	+	+	-	HL30	-	+	-	-	+	-
DL3	-	+	-	+	+	-	HL31	-	+	-	-	+	-
DL4	-	+	-	+	+	-	HL32	-	+	-	-	+	-
DL5	-	+	-	-	+	-	HL33	-	+	-	-	+	-

4.4.4 Safra tuzlarına tolerans

Safra asidi, safra kesesinde oniki parmak bağırsağından konjuge formda salgılanan canlıdaki kolesterolden üretilmektedir. LAB, safra asitleri toksisitesine karşı koruma sağlayan çeşitli derecelerde safra tuzu hidroliz (BSH) aktivitesine sahiptirler. Konjuge formdaki safra asitleri hücreye girmekte, protonlanmakta ve

dekonjuge forma dönüşmektedirler. Bu işlem, BSH pozitif aktiviteye sahip organizmalarda daha aktiftir (Boricha et al., 2019).

Bu çalışma kapsamında elde edilen izolatların safra tuzlarına toleransının belirlenmesinde %0.3 ve %1 oranlarında safra tuzu varlığı esas alınmıştır. Analiz sonuçları, mevcut izolatların tamamının her iki konsantrasyona da tolerans gösterdiğini, bununla birlikte %0.3 safra tuzu içeren besiyerinde gelişimin daha hızlı olduğunu ortaya koymuştur.

Canlılık düzeyi;

$Ni/Nx \times 100$ formülüyle hesaplanmıştır.

($Ni = \log \text{KOB/ml}$ 4 saatlik inkübasyon sonrası, $Nx = \log \text{KOB/ml}$ başlangıç miktarı).

Bu formüle göre elde edilen sonuçlar Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8 İzolatların safra tuzu varlığında gelişimi

İzolat Kodu	Safra Tuzu		İzolat Kodu	Safra Tuzu	
	%			%	
	0.30%	1%		0.30%	1%
AL1	-	102.12	DL6	-	-
AL2	103.56	105.21	DL7	101.93	99.16
AL3	103.89	100.6	DL8	-	-
AL4	106.14	104.09	DL9	96.65	-
AL5	95.86	104.43	DL10	100.46	108.47
AL6	104.96	103.03	DL11	-	104.58
AL7	110.54	103.75	DL12	140.75	-
AL8	105.79	101.33	DL13	123.81	99.26
AL9	107.78	99.92	DL14	125.6	-
AL10	107.19	103.81	DL15	124.27	-
AL11	107.87	102.72	DL16	160.45	101.27
AL12	108.46	101.32	DL17	-	99.03
AL13	-	105.96	EL1	-	-
AL14	101.29	-	EL2	150.97	105.45
AL15	100.97	101.61	EL3	146.24	100.73
AL16	106.43	104.72	EL4	136.71	105.39
AL17	103.44	100.57	EL5	144.84	100.08

Çizelge 4.8 İzolatların safra tuzu varlığında gelişimi (devamı)

İzolat Kodu	Safra Tuzu		İzolat Kodu	Safra Tuzu	
	%			%	
	0.30%	1%		0.30%	1%
AL18	-	-	EL8	-	103.83
AL19	105.59	99.69	GL1	132.5	102.23
AL20	-	-	GL3	168.73	92.55
AL22	-	-	GL4	-	-
AL25	104.94	102.56	GL6	159.45	87.91
BL1	99.9	101.83	GL7	162.44	95.29
BL3	102.71	107.95	GL9	-	-
BL4	103.91	107.23	GL11	154.61	98.98
BL5	104.65	104.62	GL12	-	100.36
BL6	107.18	-	GL13	134.63	98.74
BL8	102.27	104.81	HL1	143.8	-
BL9B	102.91	106.61	HL2	-	102.08
BL9	107.22	103.66	HL3	143.58	93.92
BL10	104.76	108.88	HL4	-	-
BL11	110.11	105.62	HL6	-	-
BL12	108.1	108.92	HL7	133.55	102.17
BL13	102.24	101.87	HL8	-	-
BL14	-	104.47	HL9	-	100.5
BL16	106.34	102.33	HL10	155.43	102.07
BL17	-	99.29	HL11	98.68	104.48
CL1	104.34	101.74	HL12	127.57	-
CL2	-	101.89	HL13	-	101.53
CL5S	102.68	112.83	HL14	135.21	100.98
CL6	-	-	HL15	-	-
CL7	105.45	104.73	HL16	-	-
CL8	-	-	HL17	132.04	101.86
CL10	107.22	104.11	HL18	141.45	100.34
CL12	110.64	-	HL21	144.19	94.37
CL13	104.37	100.59	HL22	-	-
CL14	107.15	-	HL23	131.79	99.84
CL15	-	-	HL24	140.82	95.9
CL16	109.9	106.8	HL25	-	97.62
CL17	107.09	102.28	HL26	-	101.44
CL18	-	-	HL27	-	-
CL19	-	-	HL28	-	99.67
DL1	-	108.37	HL29	-	-
DL2	104.14	104.72	HL30	137.04	101.23
DL3	100.13	107.13	HL31	-	97.7
DL4	106.84	104.18	HL32	139.76	99.65
DL5	140.45	100.27	HL33	-	101.61

Ragul ve arkadaşları (2017) yaptığı çalışmada salamura turşudan izole ettikleri LAB'nin %0.5 ve %1'lik safra tuzu varlığındaki gelişimini izlemişlerdir. Tüm izolatların canlı kalma oranı, % 0.5 safra tuzunda daha yüksek olmuştur. %1 safra tuzu içeren besiyerinde, %0.5 safra tuzu içeren besiyerinden yaklaşık 1 log kob/ml daha az canlılık oranı saptanmıştır.

Rao ve arkadaşlarının (2019) Çin'de yürüttüğü bir çalışmada ise geleneksel olarak üretilen turşudan iki farklı LAB izole edilmiş ve izolatların %0.1, % 0.3 ve %0.5 safra tuzu varlığında gelişimleri incelenmiştir. Gastrointestinal koşullar olarak bilinen %0.1 ve %0.3 safra tuzu varlığında izolatların canlılığını sürdürdüğü, ancak, *L. plantarum* AT4'ün %0.5 safra tuzunda canlılığını sürdürürken *L. plantarum* AT282'in %0.5 safra tuzu varlığında gelişimini sürdürse de sayısının azaldığı tespit edilmiştir.

4.4.5.Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim

Tuz toleransı, LAB tarafından fermentasyonunun hızla başlamasına ve böylece asit üretimine olanak sağlamakta, ayrıca tuza tolerans göstermeyen rekabetçi flora üzerinde de baskılayıcı etki göstermektedir. *Leuconostoc* cinsi, yüksek tuz konsantrasyonunu iyi tolere edebildiğinden çoğunlukla laktik asit fermentasyonunun başlatıcısı olarak kabul edilmektedir (Tokatlı ve ark., 2015).

Çalışma kapsamında elde edilen izolatların farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimi %1.5 ve %10 NaCl içeren besiyerlerinde incelenmiştir. Analiz sonuçları, tüm izolatların %1.5 NaCl içeren besiyerinde canlılığını sürdürdüğünü, %10 NaCl içeren besiyerinde ise 73 adet izolatın canlılığını sürdürebildiğini ortaya koymuştur (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9 İzolatların farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimi

İzolat Kodu	TUZ				İzolat Kodu	TUZ			
	48 saat sonra		96 saat sonra			48 saat sonra		96 saat sonra	
	1.50%	10%	1.50%	10%		1.50%	10%	1.50%	10%
AL1	+	-	+	-	DL6	-	-	+	-
AL2	+	+	+	+	DL7	+	+	+	+
AL3	+	+	+	+	DL8	-	-	+	-
AL4	+	+	+	+	DL9	+	-	+	+
AL5	+	+	+	+	DL10	+	-	+	+
AL6	+	+	+	+	DL11	+	-	+	-
AL7	+	+	+	+	DL12	+	-	+	+
AL8	+	+	+	+	DL13	+	-	+	+
AL9	+	+	+	+	DL14	+	-	+	+
AL10	+	+	+	+	DL15	+	+	+	+
AL11	+	+	+	+	DL16	+	-	+	-
AL12	+	+	+	+	DL17	+	-	+	+
AL13	+	+	+	+	EL1	-	-	+	-
AL14	+	+	+	+	EL2	+	-	+	-
AL15	-	-	+	-	EL3	+	-	+	+
AL16	+	+	+	+	EL4	+	+	+	+
AL17	+	+	+	+	EL5	+	+	+	+
AL18	-	-	+	-	EL8	+	+	+	+
AL19	+	+	+	+	GL1	+	-	+	+
AL20	+	+	+	+	GL3	+	-	+	-
AL22	-	-	+	-	GL4	-	-	+	-
AL25	+	+	+	+	GL6	+	-	+	-
BL1	+	+	+	+	GL7	+	-	+	-
BL3	+	+	+	+	GL9	-	-	+	-
BL4	+	+	+	+	GL11	+	-	+	-
BL5	+	+	+	+	GL12	+	-	+	-
BL6	+	+	+	+	GL13	+	-	+	-
BL8	+	+	+	+	HL1	+	-	+	-
BL9B	-	-	+	-	HL2	+	-	+	+
BL9	-	-	+	-	HL3	+	-	+	-
BL10	+	+	+	+	HL4	-	-	+	-
BL11	+	+	+	+	HL6	-	-	+	-
BL12	+	+	+	+	HL7	+	+	+	+
BL13	+	+	+	+	HL8	-	-	+	-
BL14	+	+	+	+	HL9	-	-	+	-
BL16	+	+	+	+	HL10	+	+	+	+
BL17	+	+	+	+	HL11	+	+	+	+
CL1	+	+	+	+	HL12	+	+	+	+
CL2	+	+	+	+	HL13	+	+	+	+
CL5S	+	+	+	+	HL14	+	+	+	+

Çizelge 4.9 İzolatların farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimi (devamı)

İzolat Kodu	TUZ				İzolat Kodu	TUZ			
	48 saat sonra		96 saat sonra			48 saat sonra		96 saat sonra	
	1.50%	10%	1.50%	10%		1.50%	10%	1.50%	10%
CL6	-	-	+	-	HL15	-	-	+	-
CL7	+	+	+	+	HL16	+	+	+	+
CL8	-	-	+	-	HL17	+	-	+	-
CL10	+	+	+	+	HL18	+	-	+	-
CL12	+	-	+	-	HL21	+	-	+	-
CL13	+	-	+	-	HL22	-	-	+	-
CL14	+	-	+	-	HL23	+	-	+	+
CL15	-	-	+	-	HL24	+	-	+	-
CL16	+	-	+	-	HL25	+	-	+	+
CL17	+	+	+	+	HL26	+	-	+	+
CL18	-	-	+	-	HL27	-	-	+	-
DL1	+	+	+	+	HL29	+	-	+	+
DL2	+	+	+	+	HL30	+	-	+	-
DL3	+	+	+	+	HL31	+	-	+	+
DL4	+	+	+	+	HL32	+	-	+	+
DL5	-	-	+	-	HL33	+	-	+	-

Boricha ve arkadaşlarının (2019) yaptığı çalışmada turşudan izole edilen *Lactobacillus* suşlarının %6 NaCl içeren besiyerinde 5.8-7.1 log kob/ml seviyesinde gelişebildiği belirlenmiştir.

Monika ve arkadaşları (2017) tarafından yapılan bir çalışmada ise turşudan izole edilen 15 adet LAB'nin %1.5, %2.5, %5, %6.5, %8.5 ve %10 NaCl varlığında gelişimi test edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, tüm izolatların çeşitli derecelerde %1.5 ve %2.5 NaCl içeren besiyerlerinde gelişim gösterdiğini, %5 NaCl içeren besiyerinde 10 izolatın, %6.5 NaCl içeren besiyerinde 9 izolatın ve %8.5 NaCl içeren besiyerinde 3 izolatın gelişim gösterdiğini, ancak %10 NaCl içeren besiyerinde hiçbir izolatın gelişemediğini ortaya koymuştur.

4.4.6 Antimikrobiyal aktivite

Farklı turşu örneklerinden elde edilen izolatların antimikrobiyal aktivitesini belirlemek üzere disk difüzyon yönteminden yararlanılmıştır. Toplam 114 izolatın 86'sı değişen zon çaplarında antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Çizelge 4.10).

Zon çapları *S. aureus* 6538P için 7 ile 14 mm, *E. coli* O157: H7 ATCC 43895 için 7 ile 13 mm, *E. coli* ATCC 43888 için 7 ile 15 mm, *S. Typhimurium* ATCC 13311 için 7 ile 9 mm ve *B. cereus* No 8 için 8 ile 20 mm arasında değişim göstermiştir. *B. cereus* üzerine sadece dört izolat (CL12, CL14, CL17 ve GL6) antimikrobiyal etki göstermiş, *B. cereus*'a karşı en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi ise 20 mm zon çapı oluşumuna neden olan CL14 göstermiştir. En düşük antimikrobiyal etki, toplam 33 izolat ile *S. Typhimurium* üzerinde gözlenirken en yüksek antimikrobiyal etki 65 izolat ile *S. aureus* üzerinde gözlenmiştir. Toplam 19 izolat (AL4, AL13, AL14, AL15, AL16, AL17, AL22, BL1, BL10, BL11, BL13, CL8, DL4, DL6, EL2, EL5, EL8, HL8, HL9) dört test kültürü üzerinde de (*S. aureus* 6538P, *E. coli* ATCC 43888, *E. coli* O157:H7 ATCC 43895, *S. Typhimurium* ATCC 13311) antimikrobiyal etki göstermiştir. Bununla birlikte incelenen izolatlar arasında *L. monocytogenes* üzerinde antimikrobiyal aktivite gösteren bir izolata rastlanmamıştır.

Çizelge 4.10 İzolatların antimikrobiyal aktiviteleri

İzolat Kodu	Antimikrobiyal Aktivite						İzolat Kodu	Antimikrobiyal Aktivite					
	Zon Çapı (mm)							Zon Çapı (mm)					
	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. Typhmuri</i> um	<i>B. cereus</i>		<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. Typhmuri</i> um	<i>B. cereus</i>
AL1	-	-	-	-	-	-	DL6	-	9	10	10	7	-
AL2	-	8	8	-	-	-	DL7	-	-	-	-	-	-
AL3	-	8	12	-	-	-	DL8	-	-	-	-	-	-
AL4	-	11	11	8	8	-	DL9	-	7	9	-	7	-
AL5	-	12	-	8	8	-	DL10	-	7	8	-	-	-
AL6	-	-	-	-	-	-	DL11	-	7	8	-	7	-
AL7	-	14	-	9	7	-	DL12	-	-	8	-	-	-
AL8	-	-	-	-	-	-	DL13	-	-	-	-	-	-
AL9	-	8	10	7	-	-	DL14	-	7	-	-	-	-
AL10	-	-	11	8	-	-	DL15	-	8	-	-	-	-
AL11	-	7	-	8	7	-	DL16	-	-	-	-	-	-
AL12	-	8	-	8	-	-	DL17	-	8	-	-	-	-
AL13	-	8	10	8	8	-	EL1	-	-	-	-	-	-
AL14	-	8	10	9	9	-	EL2	-	9	13	9	8	-

Çizelge 4.10 İzolatların antimikrobiyal aktiviteleri (devamı)

İzolat Kodu	Antimikrobiyal Aktivite						İzolat Kodu	Antimikrobiyal Aktivite					
	Zon Çapı (mm)							Zon Çapı (mm)					
	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. Typhmuri</i>	<i>B. cereus</i>		<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. Typhmuri</i>	<i>B. cereus</i>
AL15	-	9	10	9	7	-	EL3	-	10	8	10	-	-
AL16	-	10	12	10	7	-	EL4	-	11	-	11	7	-
AL17	-	12	10	13	7	-	EL5	-	9	10	8	7	-
AL18	-	14	-	-	-	-	EL8	-	9	9	8	8	-
AL19	-	9	-	8	7	-	GL1	-	8	13	-	8	-
AL20	-	10	-	9	7	-	GL3	-	-	8	-	-	-
AL22	-	8	8	8	9	-	GL4	-	8	10	-	-	-
AL25	-	9	-	7	-	-	GL6	-	-	8	-	-	8
BL1	-	9	8	-	7	7	GL7	-	-	-	-	-	-
BL3	-	-	8	8	7	-	GL9	-	-	-	-	-	-
BL4	-	-	9	8	7	-	GL11	-	7	-	-	-	-
BL5	-	7	-	-	-	-	GL12	-	7	-	-	-	-
BL6	-	8	-	-	-	-	GL13	-	8	10	8	-	-
BL8	-	8	8	9	-	-	HL1	-	-	-	8	-	-
BL9B	-	-	-	-	-	-	HL2	-	-	-	-	-	-
BL9	-	8	-	-	7	-	HL3	-	-	-	7	-	-
BL10	-	10	8	8	7	-	HL4	-	8	10	8	-	-
BL11	-	8	8	8	7	-	HL6	-	-	7	-	-	-
BL12	-	-	8	8	-	-	HL7	-	-	7	-	-	-
BL13	-	10	8	8	8	-	HL8	-	9	10	8	8	-
BL14	-	-	-	-	-	-	HL9	-	9	10	8	8	-
BL16	-	8	-	-	-	-	HL10	-	8	10	8	-	-
BL17	-	9	8	9	-	-	HL11	-	9	8	7	-	-
CL1	-	-	8	-	-	-	HL12	-	8	10	-	-	-
CL2	-	9	7	8	-	-	HL13	-	-	-	-	-	-
CL5S	-	8	7	7	-	-	HL14	-	-	-	-	-	-
CL6	-	9	7	8	-	-	HL15	-	-	-	-	-	-
CL7	-	8	8	-	-	-	HL16	-	-	-	-	-	-
CL8	-	10	10	8	8	-	HL17	-	-	-	-	-	-
CL10	-	-	-	-	-	-	HL18	-	8	-	-	-	-
CL12	-	-	-	-	-	14	HL21	-	8	7	-	-	-
CL13	-	-	-	-	-	-	HL22	-	-	9	-	-	-
CL14	-	-	-	-	7	20	HL23	-	-	8	-	-	-
CL15	-	-	-	-	-	-	HL24	-	-	-	-	-	-
CL16	-	8	9	9	-	-	HL25	-	-	15	-	-	-
CL17	-	11	10	9	-	8	HL26	-	-	8	-	-	-
CL18	-	8	8	8	-	-	HL27	-	9	8	-	-	-
CL19	-	-	-	-	-	-	HL28	-	-	-	-	-	-

Çizelge 4.10 İzolatların antimikrobiyal aktiviteleri (devamı)

İzolat Kodu	Antimikrobiyal Aktivite						İzolat Kodu	Antimikrobiyal Aktivite					
	Zon Çapı (mm)							Zon Çapı (mm)					
	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. Typhmurium</i>	<i>B. cereus</i>		<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. Typhmurium</i>	<i>B. cereus</i>
DL1	-	8	-	-	-	-	HL29	-	-	8	7	-	-
DL2	-	8	10	-	7	-	HL30	-	-	-	7	-	-
DL3	-	-	8	-	-	-	HL31	-	-	-	-	-	-
DL4	-	7	10	8	7	-	HL32	-	-	-	-	-	-
DL5	-	-	-	-	-	-	HL33	-	-	-	-	-	-

Sharaf ve arkadaşlarının (2011) yaptığı çalışmada anne sütü, hayvan sütü (eşek, inek, deve) ve turşudan toplamda 71 LAB izole edilmiştir. İzolatların *Lactobacillus* (14 suş), *Pediococcus* ve *Lactococcus* (her biri 8 suş), *Streptococcus* (6 suş) ve *Leuconostoc* (4 suş) cinslerine ait olduğu belirlenmiştir. 71 izolattan 40'ı *S. aureus*, *E. coli* ve *Candida albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. En yüksek aktivite *S. salivarius*, *L. lactis*, *P. pentosaceus* ve *L. plantarum* ile sağlanmıştır. Zon çaplarına bakıldığında; anne sütünden elde edilen izolatlarda 1 mm-3 mm aralığı, hayvan sütünden elde edilen izolatlarda 1mm – 4 mm aralığı, turşudan elde edilen izolatlarda ise 2mm – 4mm aralığında ölçümler alınmıştır.

Cizeikiene ve arkadaşları (2013) tarafından yapılan diğer bir çalışmada, fermente gıdalardan izole edilen LAB suşlarının farklı seviyelerde antimikrobiyal aktivite gösterdiği agar difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Çalışma kapsamında *P. pentosaceus* KTU05-10, *P. pentosaceus* KTU05-9, *P. pentosaceus* KTU05-8, *P. acidilactici* KTU05-7 ve *L. sakei* KTU05-6 LAB izole edilmiştir. En yüksek aktiviteyi *P. pentosaceus* KTU05-10 izolatu, *Pseudomonas cepacia* 7.2 (zon çapı 27.5 mm) üzerinde göstermiştir, bununla birlikte *S. aureus* ATCC 25923 ve *L. monocytogenes* 1.5 üzerinde hiçbir izolat antimikrobiyal etki göstermemiştir.

23 test kültüründen 20'si üzerinde antimikrobiyal etki gösteren LAB'si, *P. acidilactici* KTU05-7 (zon çapı 7.8 mm – 18.8 mm) olmuştur.

4.4.7 % 0.4 (h/h) fenol'e dayanıklılık

Fenoller, beslenme yoluyla alınan veya vücut tarafından üretilen proteinlerden kaynaklanan amino asitlerin, sindirim sisteminde bazı bakteriler tarafından deaminasyonu sonucu oluşabilmektedir. Oluşan bu fenolik bileşenlerin özellikle *Lactobacillus* türleri üzerine inhibe edici etkisi olabileceği belirtilmektedir (Xanthopoulos, 2000).

Çalışma kapsamında elde edilen izolatların fenole dayanıklılıklarını belirlemek üzere izolatlar, içerisinde %0.4 (h/h) oranında fenol bulunan besiyerine (besiyeri adı) inoküle edilmiş, başlangıçta (0. saat) ve 24 saat bekletme sonrasında alınan inokulümlar MRS Agar besiyerine yayma plak yöntemiyle ekilmiştir ve sonuçlar log kob/ml olarak verilmiştir (Çizelge 4.11). Analiz sonuçları, toplam 16 izolatın 24 saat sonunda canlılıklarını sürdürdüğünü ortaya koymuştur. A15 izolatı başlangıç değerine kıyasla %12 oranında artış göstererek en iyi sonucu vermiştir. DL13 izolatı ise diğer izolatlara göre canlılık değerinde en fazla azalmayı (%24.4 oranında azalma) göstermiştir.

Çizelge 4.11 İzolatların fenol varlığında gelişimi

İzolat Kodu	Fenol Varlığında Gelişim		İzolat Kodu	Fenol Varlığında Gelişim	
	log(kob/ml)			log(kob/ml)	
	0. saat	4. saat		0. saat	4. saat
AL1	<2	<2	DL6	8.78	8.53
AL2	8.41	8.08	DL7	8.32	8.23
AL3	8.16	7.48	DL8	<2	<2
AL4	8.36	8.64	DL9	7.78	6.3
AL5	8.59	9.59	DL10	8	<2
AL6	8.7	9.1	DL11	8.49	<2
AL7	8.36	7.48	DL12	8	<2
AL8	8.61	8.26	DL13	8.28	6.26
AL9	8.65	8.69	DL14	<2	<2
AL10	8.94	8.38	DL15	8.18	<2

Çizelge 4.11 İzolatların fenol varlığında gelişimi (devamı)

İzolat Kodu	Fenol Varlığında Gelişim		İzolat Kodu	Fenol Varlığında Gelişim	
	log(kob/ml)			log(kob/ml)	
	0. saat	4. saat		0. saat	4. saat
AL11	8.87	7.9	DL16	8.36	<2
AL12	8.62	8	DL17	8.18	<2
AL13	8.6	7.95	EL1	<2	<2
AL14	8.32	8.3	EL2	<2	7
AL15	8.73	8.77	EL3	<2	<2
AL16	8.61	7.48	EL4	*	7.3
AL17	8.7	7.6	EL5	<2	<2
AL18	8.65	7.48	EL8	<2	<2
AL19	8.58	7.95	GL1	<2	<2
AL20	8.34	8.62	GL3	<2	<2
AL22	*	7.85	GL4	<2	<2
AL25	8.61	8.34	GL6	7	<2
BL1	8.49	8.59	GL7	<2	<2
BL3	8.43	<2	GL9	<2	<2
BL4	8.36	8.68	GL11	<2	<2
BL5	8.26	8.45	GL12	*	6.6
BL6	8.04	8.56	GL13	8.93	8.23
BL8	8.56	8.28	HL1	<2	<2
BL9B	*	8.63	HL2	<2	<2
BL9	8.63	<2	HL3	<2	<2
BL10	8.26	8.7	HL4	*	6
BL11	8.61	<2	HL6	<2	<2
BL12	*	8.83	HL7	*	5.6
BL13	8.79	8.63	HL8	8.45	7
BL14	8.34	8.51	HL9	<2	7
BL16	*	8.08	HL10	<2	<2
BL17	8.26	8.45	HL11	7.48	7.3
CL1	8.23	8.18	HL12	7.6	6.9
CL2	8.64	9.62	HL13	7	6.48
CL5S	8.43	<2	HL14	7.48	<2
CL6	8.36	8.71	HL15	<2	<2
CL7	8.81	9.53	HL16	<2	<2
CL8	9.29	8.6	HL17	<2	<2
CL10	9.06	9.66	HL18	8.43	7
CL12	*	8.65	HL21	7.9	<2
CL13	<2	<2	HL22	8.28	<2
CL14	<2	<2	HL23	8.11	<2
CL15	<2	<2	HL24	8.36	<2

Çizelge 4.11 İzolatların fenol varlığında gelişimi (devamı)

İzolat Kodu	Fenol Varlığında Gelişim		İzolat Kodu	Fenol Varlığında Gelişim	
	log(kob/ml)			log(kob/ml)	
	0. saat	4. saat		0. saat	4. saat
CL16	9.01	8.32	HL25	7.85	<2
CL17	9.41	8.18	HL26	8.4	<2
CL18	9.45	8.15	HL27	8.47	8.43
CL19	*	8	HL28	8.68	<2
DL1	8.78	7.85	HL29	8.57	<2
DL2	8.54	8.11	HL30	7.9	<2
DL3	8.89	0	HL31	7.85	<2
DL4	8.43	7.3	HL32	8.23	<2
DL5	*	9.01	HL33	7	<2

"*" Sayılamayacak kadar çok olanları ifade eder.

Zielińska et al. (2014) tarafından yapılan çalışmada, lahana ve salatalık turşusundan elde edilen izolatların fenole dayanıklılıkları incelenmiş, %0.4 fenol varlığında *L. johnsonii* K4, *L. casei* O16, *L. casei* O18, *L. rhamnosus* K3 ve *L. plantarum* K1 izolatlarının diğer izolatlara oranla daha iyi gelişim gösterdiği belirlenmiştir.

Boricha et al. (2019) yaptığı çalışmada, turşu örneklerinden izole edilen izolatların probiyotik özelliklerini belirlemek üzere fenol dayanıklılık testi uygulanmış, çalışma kapsamında elde edilen *Lactobacillus* izolatlarının %0.6 fenol içeren besiyerinde 6.2-7.7 log kob/ml seviyesinde gelişim gösterdiği tespit edilmiştir.

4.4.8. Pepsin ve pankreatin varlığında gelişim

Mide sıvısı 0.8-1.0 mg/mL pepsin içermekte, söz konusu enzim gıdalarda bulunan proteinleri peptitlere indirgemektedir (Chen et al., 2011). Pankreatin, pankreasın ekzokrin hücrelerinin sentezlediği amilaz, lipaz ve proteaz gibi enzimlerin ortak adıdır. Sindirim kanalı dışında bulunsun da, sindirim işlemine ve sindirim kanalındaki organların çalışmasına yardımcı olan organlar arasında pankreas da bulunmaktadır. Pankreasın asiner hücreleri sindirim enzimlerinin

yapımından ve salgılanmasından sorumludur. Pankreas, sindirimle ilgili salgılarını virsung kanalı aracılığı ile onikiparmak bağırsağında bulunan ampulla vateriye salgılamaktadır. Pankreasın dış salgısında tripsinojen, kimotripsinojen, amilaz ve lipaz gibi enzimler bulunmaktadır (Chen et al., 2011).

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

Bu çalışmada farklı turşu örneklerinden elde edilen izolatların pepsin ve pankreatin varlığında gelişimini belirlemek üzere, pepsin ve pankreatin içeren besiyerlerine ekim yapılmış, pepsin için 4 saat, pankreatin için 6 saat bekletme sonunda sayım almak üzere MRS Agar petrilerine ekim gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları, 4 saat sonunda 33 izolatın pepsin varlığında gelişimini sürdürdüğünü ortaya koymuştur (Çizelge 4.12). Başlangıç sayısı 6.30 log kob/ml olan HL28 izolatının sayısı 4 saatlik pepsin varlığında 7.22 log kob/ml seviyesine ulaşmış ve bu izolat, 31 izolat arasında, pepsin varlığında en fazla gelişim gösteren izolat (%14.6 artış) olmuştur. Bununla birlikte pepsin varlığında gelişim gösterse de sayısında en fazla azalma gözlenen izolatın HL29 (%19.8 azalma) olduğu tespit edilmiştir.

İzolatların 36'sının pankreatin varlığında 6 saat sonunda canlılığını sürdürdüğü belirlenmiştir (Çizelge 4.12). GL3 ve HL12 izolatları pankreatin varlığında en fazla gelişen izolatlar olarak belirlenmiştir. Diğer izolatlar üzerinde pankreatinin inhibe edici etkisi oldukça düşük seyretmiştir. Canlılık oranında en fazla azalma DL3 izolatında (%35.6 azalma) görülmüştür.

Çizelge 4.12. İzolatların pepsin ve pankreatin varlığında gelişimi

İzolat Kodu	Pankreatin varlığında gelişim		Pepsin varlığında gelişim		İzolat Kodu	Pankreatin varlığında gelişim		Pepsin varlığında gelişim	
	log(kob/ml)		log(kob/ml)			log(kob/ml)		log(kob/ml)	
	0. saat	6. saat	0. saat	4. saat		0. saat	6. saat	0. saat	4. saat
AL1	5.85	4.3	7.12	<2	DL6	<2	<2	6.76	<2
AL2	3.7	4.48	7.25	6.82	DL7	6.58	7.07	5.71	<2
AL3	6.92	6.39	<2	<2	DL8	*	7.07	*	6.97
AL4	6.49	6.67	7.38	6.92	DL9	*	7.2	7.11	6.37
AL5	6.8	6.5	7.31	7.08	DL10	6.76	6.72	7.08	<2
AL6	5.38	<2	6.8	6.15	DL11	6.78	6.82	7.46	<2
AL7	6.98	6.62	*	7.38	DL12	6.81	7.03	7.3	<2
AL8	6.66	<2	7.2	7.42	DL13	7.17	6.57	7.32	7.19
AL9	6.53	6.17	7.78	7.15	DL14	6.64	<2	7.42	7.32
AL10	6.45	6.4	6.9	7.32	DL15	6.16	<2	7.52	7.06
AL11	6.45	6.31	7.1	7.47	DL16	6.55	6.76	*	6.97
AL12	6.54	6.38	7.05	7.2	DL17	5.99	<2	7.28	7.64
AL13	6.58	6.57	7.13	6.84	EL1	6.65	<2	7.41	<2
AL14	6.24	5.99	7.31	7.35	EL2	6.24	7.21	7.18	7.21
AL15	6.35	6.08	6.98	6.46	EL3	4.3	3.85	7.29	6.47
AL16	6.35	6.58	6.96	6.61	EL4	4.95	4.78	7.47	6.91
AL17	6.47	6.17	7.23	<2	EL5	*	6.61	7.03	6.85
AL18	4.9	4.3	<2	<2	EL8	7.21	6.75	7.03	7.24
AL19	6.4	6.87	<2	<2	GL1	<2	<2	6.77	6.67
AL20	6.58	6.33	7.14	7.02	GL3	4	5.67	6.68	6.86
AL22	*	6.44	7.31	6.92	GL4	<2	<2	6.98	7
AL25	6.33	6.33	7.11	6.84	GL6	6.02	4.78	6.77	6.41
BL1	7	7.34	7.4	7.24	GL7	5.96	<2	6.71	6.8
BL3	7.46	7.3	*	7.3	GL9	7.09	<2	6.89	7.17
BL4	4.48	4.3	7.3	<2	GL11	0	<2	<2	<2
BL5	6.65	7.31	6.73	<2	GL12	6.62	<2	<2	<2
BL6	6.67	7.23	7.34	6.97	GL13	6.18	<2	<2	<2
BL8	6.94	7.36	7.26	7.3	HL1	6.23	6.45	6.66	<2
BL9B	6.69	7.18	6.42	6.79	HL2	<2	<2	6.93	5.83
BL9	5.6	5.85	7.21	7.23	HL3	5.81	<2	7.32	6.85
BL10	6.96	7.24	7.22	7.33	HL4	6.58	6.47	6.8	6.3
BL11	<2	<2	<2	<2	HL6	<2	<2	6.41	<2
BL12	7.3	7.33	7.05	6.76	HL7	7.21	6.96	7.15	6.77
BL13	7.32	7.26	7.1	6.61	HL8	6.76	<2	7.13	7.19
BL14	6.4	6.9	6.62	<2	HL9	6.67	6.37	7.25	6.48
BL16	4.2	4.3	7.3	6.49	HL10	6.49	<2	6.84	7.05
BL17	6.94	7	7.27	<2	HL11	4.78	<2	7.27	7.28

Çizelge 4.12. İzolatların pepsin ve pankreatin varlığında gelişimi (devamı)

İzolat Kodu	Pankreatin varlığında gelişim		Pepsin varlığında gelişim		İzolat Kodu	Pankreatin varlığında gelişim		Pepsin varlığında gelişim	
	log(kob/ml)		log(kob/ml)			log(kob/ml)		log(kob/ml)	
	0. saat	6. saat	0. saat	4. saat		0. saat	6. saat	0. saat	4. saat
CL1	6.09	6.11	6.89	6.18	HL12	3.7	5.3	6.67	6.97
CL2	<2	<2	6.67	6.46	HL13	6.67	6.75	7.18	7.04
CL5S	5.65	5.64	7.02	6.51	HL14	6.75	5.2	6.9	4.3
CL6	*	6.14	6.69	6.46	HL15	5.92	6	6.86	7.04
CL7	6.69	6.98	6.74	7.02	HL16	6.6	6.15	<2	<2
CL8	6.63	6.51	6.2	6.91	HL17	6.46	7.81	5.18	5.46
CL10	5.97	6.74	6.2	6.71	HL18	6.29	7.17	6.77	6.81
CL12	5.98	6.04	6.67	6.32	HL21	6.84	6.12	6.33	6.77
CL13	6.84	6.46	6.72	6.45	HL22	6.57	6.51	*	6.3
CL14	*	7.06	6.71	6.23	HL23	6.71	<2	<2	<2
CL15	<2	<2	<2	<2	HL24	5.99	5.73	6.38	6.58
CL16	6.69	6.43	6.65	6.77	HL25	4.85	5.45	6.08	0
CL17	6.72	6.72	6.79	6.53	HL26	6.78	6.09	6.64	6.81
CL18	5.48	6.04	6.62	6.41	HL27	7.27	<2	6.9	6.84
CL19	6.85	6.56	7	6.45	HL28	6.74	<2	6.3	7.22
DL1	4	<2	6.97	7.13	HL29	6.66	7	7.32	5.87
DL2	6.38	6.61	7.05	7.08	HL30	*	6.13	6.92	5.62
DL3	6.52	4.3	6.96	<2	HL31	5.45	5.69	7.09	6.3
DL4	7.25	6.94	*	7.56	HL32	7.27	6.8	7.46	<2
DL5	<2	<2	6.9	6.54	HL33	6.66	5.69	6.69	5.83

"*" Sayılamayacak kadar çok olanları ifade eder.

Tokatlı (2015) tarafından yapılan çalışmada, çeşitli turşulardan izole edilen LAB'lerinin pepsin varlığında canlılıkları incelenmiş, toplam 21 izolattan 17'sinin 4 saatlik inkübasyon sonucunda sayılarının 6 logaritmik birimin üzerinde olduğu, 4 suşun ise canlılıklarını tamamen kaybettiği belirlenmiştir. Bununla birlikte sadece 12 izolatın pankreatin varlığında gelişim gösterdiği, ancak bu izolatların sayılarında önemli ölçüde düşüş meydana geldiği tespit edilmiştir.

4.4.9. Antibiyotiklere karşı direnç

Fermente ve probiyotik gıdaların üretiminde kullanılan LAB'nin genellikle güvenli mikroorganizmalar oldukları düşünülse de, antibiyotik direnç

geni bulundurmaları durumunda, bu genleri patojenlere veya florada bulunan diğer bakterilere aktarma ihtimalleri önemli bir tehdit oluşturmaktadır.

Çalışmada elde edilen izolatların chloramphenicol (C), ampicillin (AMP), erythromycin (E), gentamicin (CN), kanamycin (K) antibiyotiklerine karşı direnci disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir (Çizelge 4.13). Mevcut izolatların hiçbirisi kanamycin'e direnç göstermemiş, gentamicin'e karşı sadece 6 izolat (GL1, GL12, GL13, HL1, HL29 ve HL32) direnç göstermiştir.

Bunun dışında hiçbir antibiyotiğe karşı direnç göstermeyen sekiz izolat (BL5, BL13, DL6, DL8, HL7, HL13, HL22 ve HL31) tespit edilmiştir.

Bağırsakta bulunan yararlı bakterilerin antibiyotik direnç genini patojen bakterilere aktarabildiği uzun yıllardır bilinmektedir. Probiyotik olarak kullanılacak laktik asit bakterilerinin güvenli mikroorganizmalar olmaları istenmektedir. B nedenle gıda sanayiinde farklı amaçlarla kullanılacak laktik asit bakterilerinin antibiyotik direnç genlerini taşınamalarına özen gösterilmelidir.

Çizelge 4.13. İzolatların antibiyotiklere karşı direnci

İzolat Kodu	Antibiyotiğe karşı direnç					İzolat Kodu	Antibiyotiğe karşı direnç				
	Zon ölçümü (mm)						Zon ölçümü (mm)				
	AMP	E	K	C	CN		AMP	E	K	C	CN
AL1	40	10	-	30	-	DL6	-	-	-	-	-
AL2	30	20	-	24	-	DL7	24	28	-	20	-
AL3	28	24	-	20	-	DL8	-	-	-	-	-
AL4	30	17	-	20	-	DL9	30	25	-	21	-
AL5	35	20	-	20	-	DL10	24	20	-	21	-
AL6	-	18	-	20	-	DL11	26	20	-	20	-
AL7	30	20	-	20	-	DL12	24	25	-	24	-
AL8	24	20	-	18	-	DL13	30	12	-	10	-
AL9	21	23	-	18	-	DL14	17	18	-	19	-
AL10	20	20	-	21	-	DL15	30	28	-	27	-
AL11	28	19	-	22	-	DL16	-	18	-	16	-
AL12	30	10	-	10	-	DL17	26	23	-	18	-
AL13	10	10	-	-	-	EL1	20	18	-	18	-
AL14	10	10	-	15	-	EL2	-	20	-	12	-
AL15	-	16	-	20	-	EL3	24	19	-	23	-

Çizelge 4.13. İzolatların antibiyotiklere karşı direnci (devamı)

İzolat Kodu	Antibiyotiğe karşı direnç					İzolat Kodu	Antibiyotiğe karşı direnç				
	Zon ölçümü (mm)						Zon ölçümü (mm)				
	AMP	F	K	C	CN		AMP	F	K	C	CN
AL16	30	20	-	16	-	EL4	27	22	-	18	-
AL17	35	20	-	20	-	EL5	26	22	-	14	-
AL18	36	22	-	35	-	EL8	10	20	-	-	-
AL19	30	20	-	19	-	GL1	30	28	-	-	8
AL20	20	20	-	16	-	GL3	26	30	-	30	-
AL22	16	20	-	22	-	GL4	20	30	-	30	-
AL25	30	18	-	20	-	GL6	28	32	-	-	-
BL1	20	18	-	20	-	GL7	20	30	-	30	-
BL3	20	20	-	20	-	GL9	30	30	-	30	-
BL4	16	20	-	24	-	GL11	16	30	-	30	-
BL5	-	-	-	-	-	GL12	12	37	-	34	14
BL6	20	18	-	28	-	GL13	22	27	-	24	12
BL8	12	10	-	12	-	HL1	-	18	-	22	12
BL9B	10	10	-	14	-	HL2	-	24	-	22	-
BL9	24	16	-	20	-	HL3	-	28	-	22	-
BL10	16	20	-	16	-	HL4	-	25	-	23	-
BL11	20	20	-	20	-	HL6	-	20	-	20	-
BL12	20	20	-	20	-	HL7	-	-	-	-	-
BL13	-	-	-	-	-	HL8	25	20	-	21	-
BL14	20	21	-	24	-	HL9	26	22	-	20	-
BL16	30	22	-	25	-	HL10	26	20	-	19	-
BL17	20	22	-	24	-	HL11	14	14	-	12	-
CL1	21	25	-	24	-	HL12	12	10	-	18	-
CL2	16	20	-	15	-	HL13	-	-	-	-	-
CL5S	23	16	-	20	-	HL14	20	22	-	24	-
CL6	28	12	-	-	-	HL15	22	25	-	23	-
CL7	27	20	-	30	-	HL16	X	26	-	30	-
CL8	24	23	-	20	-	HL17	15	21	-	15	-
CL10	25	20	-	32	-	HL18	30	15	-	25	-
CL12	37	20	-	25	-	HL21	24	26	-	30	-
CL13	30	21	-	30	-	HL22	-	-	-	-	-
CL14	26	25	-	30	-	HL23	20	10	-	30	-
CL15	31	20	-	20	-	HL24	10	12	-	20	-
CL16	24	23	-	20	-	HL25	X	18	-	22	-
CL17	12	22	-	20	-	HL26	26	16	-	28	-
CL18	26	20	-	25	-	HL27	-	18	-	28	-
CL19	16	10	-	30	-	HL28	28	24	-	22	-
DL1	18	22	-	25	-	HL29	20	25	-	20	11
DL2	27	18	-	-	-	HL30	23	22	-	28	-
DL3	22	20	-	23	-	HL31	-	-	-	-	-
DL4	27	21	-	22	-	HL32	X	29	-	26	12
DL5	-	20	-	20	-	HL33	24	17	-	22	-

4.4.10. Hemolitik aktivite

Bir probiyotik suşun seçiminde güvenlik ön şartı olarak izolatta hemolitik aktivitenin olmaması gerekmektedir. Bu nedenle çalışma kapsamında mevcut izolatların hemolitik aktiviteleri incelenmiş (Çizelge 4.14) ve hiçbir izolatın hemolitik aktivite göstermediği tespit edilmiştir (γ hemolitik).

Çizelge 4.14. İzolatların hemolitik aktivitesi

NO	Hemolitik aktivite	NO	Hemolitik aktivite
AL1	γ	DL6	γ
AL2	γ	DL7	γ
AL3	γ	DL8	γ
AL4	γ	DL9	γ
AL5	γ	DL10	γ
AL6	γ	DL11	γ
AL7	γ	DL12	γ
AL8	γ	DL13	γ
AL9	γ	DL14	γ
AL10	γ	DL15	γ
AL11	γ	DL16	γ
AL12	γ	DL17	γ
AL13	γ	EL1	γ
AL14	γ	EL2	γ
AL15	γ	EL3	γ
AL16	γ	EL4	γ
AL17	γ	EL5	γ
AL18	γ	EL8	γ
AL19	γ	GL1	γ
AL20	γ	GL3	γ
AL22	γ	GL4	γ
AL25	γ	GL6	γ
BL1	γ	GL7	γ
BL3	γ	GL9	γ
BL4	γ	GL11	γ
BL5	γ	GL12	γ
BL6	γ	GL13	γ
BL8	γ	HL1	γ
BL9B	γ	HL2	γ
BL9	γ	HL3	γ
BL10	γ	HL4	γ
BL11	γ	HL6	γ
BL12	γ	HL7	γ
BL13	γ	HL8	γ
BL14	γ	HL9	γ
BL16	γ	HL10	γ

Çizelge 4.14. İzolatların hemolitik aktivitesi (devamı)

NO	Hemolitik aktivite	NO	Hemolitik aktivite
BL17	Y	HL11	Y
CL1	Y	HL12	Y
CL2	Y	HL13	Y
CL5S	Y	HL14	Y
CL6	Y	HL15	Y
CL7	Y	HL16	Y
CL8	Y	HL17	Y
CL10	Y	HL18	Y
CL12	Y	HL21	Y
CL13	Y	HL22	Y
CL14	Y	HL23	Y
CL15	Y	HL24	Y
CL16	Y	HL25	Y
CL17	Y	HL26	Y
CL18	Y	HL27	Y
CL19	Y	HL28	Y
DL1	Y	HL29	Y
DL2	Y	HL30	Y
DL3	Y	HL31	Y
DL4	Y	HL32	Y
DL5	Y	HL33	Y

Monika ve arkadaşlarının (2017) yaptığı çalışmada Hindistan’da üretilen geleneksel turşudan 15 adet LAB izole edilmiş ve izolatların hemolitik aktiviteleri incelenmiştir. LAB izolatlarının hiçbirisi Columbia koyun kanlı agar üzerinde α ve β hemolitik aktivite göstermemiştir.

Maragkoudakis ve arkadaşlarının (2006) sütte izole ettiği *L. paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactobacillus* spp. ve *L. casei* türleri için de benzer gözlemler yapılmıştır. Tüm izolatlar γ hemolitik olarak saptanmıştır (hemoliz yok).

4.4.11 Enzim aktivitesinin belirlenmesi

4.4.11.1 Proteolitik aktivite

50 $\mu\text{g/ml}$ tirozin üzerinde proteolitik aktivite içeren mikroorganizmalar, oluşturdukları yüksek miktardaki protein kalıntıları ve aminoasitler nedeniyle acı bir tadın gelişmesine yol açtığından, fermente süt endüstrisinde kullanımı tercih

edilmemektedir (Özkalp, 2006). Bununla birlikte LAB'lerinin proteolitik aktivite açısından zayıf oldukları bildirilmektedir (Kılıç, 2001).

Çalışma kapsamında incelenen izolatlar üzerine yapılan önceki analizler doğrultusunda aynı özellikleri sergileyen izolatları temsil eden izolatlar seçilerek 39 izolata proteolitik aktivite testi uygulanmıştır. İzolatların proteolitik aktivite değerlerinin 1.8 µg/ml tirozin ile 126.2 µg/ml tirozin arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.15). Genel bir değerlendirme yapıldığında, 18 adet izolatta proteolitik aktivite değerlerinin 50 µg/ml tirozin üzerinde olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.15 İzolatların proteolitik aktivitesi

Proteolitik aktivite		Proteolitik aktivite	
NO	µg/mL tirozin	NO	µg/mL tirozin
AL2	40.5	CL14	31.2
AL5	1.8	CL17	39.7
AL7	59.6	CL18	54.2
AL9	18.8	DL4	53.9
AL11	51.5	DL9	5.4
AL14	56.2	DL13	50.4
AL15	54.6	DL16	25.3
AL17	48.2	DL17	27.3
BL1	3.3	EL2	126.2
BL4	53	EL3	93.1
BL6	44.6	EL5	46.6
BL10	48.3	GL1	32.6
BL13	52.7	GL3	33.3
BL16	99	GL9	52.9
BL17	23.7	HL4	70.8
CL2	37.3		
CL7	50.2	HL9	29.7
CL8	62.1	HL11	50.4
CL10	47.9	HL14	12.8
CL12	47.8	HL28	89.1

Monika et al. (2017) yaptığı çalışmada, Hindistan'ın geleneksel turşusundan elde edilen 15 izolattan 14'ünün 0.11-3.64 U/mg protein arasında değişen değerlerde proteolitik aktivite gösterdiğini bildirmiştir. En yüksek aktivite *E. faecalis* PKL-3 (3.64 U/mg protein), ardından *E. faecalis* PKL-24 (3.35 U/mg protein) ve en düşük *E. faecalis* PKL-27'de (0.11 U/mg protein) ölçülmüştür.

4.4.11.2 β -galaktosidaz aktivitesi

Laktoz intoleransı temel olarak laktozu glikoz ve galaktoza hidrolize eden β -galaktosidaz enziminin eksikliğinden kaynaklanmaktadır (Harrington ve Mayberry, 2008). Bununla birlikte probiyotik suşların laktozu metabolize ederek özellikle laktoz intoleransı olan konakçılar için büyük fayda sağladıkları bilinmektedir. Bu nedenle β -galaktosidaz üreticisi probiyotik suşlar ile fermente edilmiş gıda ürünleri laktoz intoleransı tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır (Vasiljevic and Jelen, 2001).

Çalışma kapsamında analize alınan izolatlardan 4 saatlik inkübasyon sonucunda sadece 4 izolat (AL4, BL17, CL19, HL14) β -galaktosidaz aktivitesi göstermiştir.

Boricha ve arkadaşlarının (2019) yaptığı çalışmada, turşudan izole edilen tüm izolatlar arasında *L. pentosus* CHIG suşunun yüksek β -galaktosidaz aktivitesi gösterdiği, ancak *L. rhamnosus* V2M ve GG suşlarının, MRS ortamında ana karbon kaynağı olarak laktozu kullanmasından dolayı çok düşük β -galaktosidaz aktivitesi gösterdiği bildirilmiştir.

Monika et al. (2017) yaptığı çalışmada, Hindistan'ın geleneksel turşusundan elde edilen 15 izolatın 12'sinin çeşitli derecelerde (0.01–0.07 U/mg) β -galaktosidaz aktivitesi gösterdiği, tüm izolatlar arasında en yüksek β -galaktosidaz aktivitesi gösteren izolatın ise *P. pentosaceus* PKL-17 (0.07 U/mg olduğu tespit edilmiştir.

4.4.12. Probiyotik özellik gösteren izolatların genotipik olarak tanımlanması

Çalışma kapsamında analiz örneklerinden izole edilip probiyotik özellikler açısından incelen izolatların, uygulanan testlere vermiş oldukları cevaplar değerlendirilmiş ve benzer özellik gösteren izolatlar gruplandırıldıktan sonra her grubu temsil eden izolatlar seçilmiştir (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. İzolatların temsil ettiği gruplar

	Örnek	Temsili Olarak Seçilen İzolatlar	Grupta Yer Alan Diğer İzolatlar
A	ŞALGAM TURŞUSU	AL4	AL2, AL5, AL7, AL8, AL9, AL22
		AL14	AL10, AL11, AL12, AL13, AL15, AL16, AL17, AL20, AL25
B	KARIŞIK TURŞU	BL1	BL3, BL4, BL5, BL6
		BL8	BL10, BL11, BL12, BL13, BL14
		BL16	BL17
C	BİBER TURŞUSU	CL7	CL1, CL6, CL8
		CL14	CL2, CL12, CL13, CL16, CL18, CL19
		CL17	CL10
D	KARIŞIK TURŞU	DL2	DL1, DL3, DL6, DL11, DL14
		DL9	DL4, DL7, DL12, DL15, DL16, DL17
G	SAUERKRAUT	GL3	GL1, GL2, GL4, GL5, GL7
		GL12	GL6, GL9, GL10, GL11, GL13
H	SAUERKRAUT	HL4	HL1, HL2, HL12, HL18, HL21, HL22, HL28, HL29, HL30
		HL14	HL3, HL7, HL8, HL9, HL11, HL15, HL16, HL17, HL26, HL27
		HL24	HL6, HL9, HL10, HL25, HL31, HL32, HL33

Temsili seçilen izolatların probiyotik özellik belirlemeye yönelik yapılan testler üzerinde sergilediği sonuçlar Çizelge 4.17’de belirtilmiştir.

Çizelge 4.17. Temsili seçilen izolatların probiyotik özellik belirlemeye yönelik yapılan testler üzerinde sergilediği sonuçlar

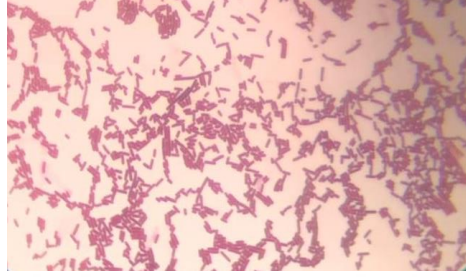
İzolat Kodu	Farklı pH Değerlerinde Gelişim			Farklı Sıcaklıklarda Gelişim			Safra Tuzuna Tolerans		Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişim		Antimikrobiyal Aktivite Zon Çapı (mm)						Fenol Varlığında Gelişim		Pankreatin varlığında gelişim		Pepsin varlığında gelişim		Antibiyotiğe karşı direnç					Hemolitik Aktivite	Proteolitik Aktivite
	96 saat sonra			96 saat sonra			%		96 saat sonra		<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. Typhmuriun</i>	<i>B. cereus</i>	log(kob/ml)		log(kob/ml)		log(kob/ml)		Zon ölçümü (mm)						
	2	3	4	10°C	25°C	45°C	%0.3	1%	%1.5	10%							0. saat	4. saat	0. saat	6. saat	0. saat	4. saat	AMP	E	K	C	CN		
AL4	-	+	+	-	-	-	106.14	104.09	+	+	-	11	11	8	8	-	8.36	8.64	6.49	6.67	7.38	6.92	30	17	-	20	-	Y	
AL14	-	+	+	-	+	-	101.29	-	+	+	-	8	10	9	9	-	8.32	8.3	6.24	5.99	7.31	7.35	10	10	-	15	-	Y	56.2
BL1	-	+	+	-	-	-	99.9	101.83	+	+	-	9	8	-	7	7	8.49	8.59	7	7.34	7.4	7.24	20	18	-	20	-	Y	3.3
BL8	-	+	+	-	-	-	102.27	104.81	+	+	-	8	8	9	-	-	8.56	8.28	6.94	7.36	7.26	7.3	12	10	-	12	-	Y	
BL16	-	+	+	-	-	-	106.34	102.33	+	+	-	8	-	-	-	-	*	8.08	4.2	4.3	7.3	6.49	30	22	-	25	-	Y	99
CL7	-	+	+	-	-	-	105.45	104.73	+	+	-	8	8	-	-	-	8.81	9.53	6.69	6.98	6.74	7.02	27	20	-	30	-	Y	50.2
CL14	-	-	+	-	+	+	107.15	-	+	-	-	-	-	-	7	20	<2	<2	*	7.06	6.71	6.23	26	25	-	30	-	Y	31.2
CL17	-	+	+	-	+	-	107.09	102.28	+	+	-	11	10	9	-	8	9.41	8.18	6.72	6.72	6.79	6.53	12	22	-	20	-	Y	39.7

Çizelge 4.17. Temsili seçilen izolatların probiyotik özellik belirlemeye yönelik yapılan testler üzerinde sergilediği sonuçlar (devamı)

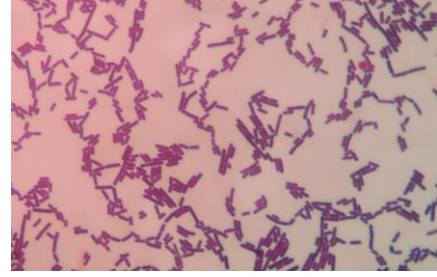
İzolat Kodu	Farklı pH Değerlerinde Gelişim			Farklı Sıcaklıklarda Gelişim			Safla Tuzuna Tolerans		Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişim		Antimikrobiyal Aktivite Zon Çapı (mm)						Fenol Varlığında Gelişim		Pankreatin varlığında gelişim		Pepsin varlığında gelişim		Antibiyotiğe karşı direnç					Hemolitik Aktivite	Proteolitik Aktivite
	96 saat sonra			96 saat sonra			%		96 saat sonra		<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>S. Typhmuriurium</i>	<i>B. cereus</i>	log(kob/ml)		log(kob/ml)		log(kob/ml)		Zon ölçümü (mm)						
	2	3	4	10°C	25°C	45°C	%0.3	1%	%1.5	10%							0. saat	4. saat	0. saat	6. saat	0. saat	4. saat	AMP	E	K	C	CN		
DL2	-	+	+	+	+	-	104.14	104.72	+	+	-	8	10	-	7	-	8.54	8.11	6.38	6.61	7.05	7.08	27	18	-	-	-	Y	
DL9	-	+	+	+	+	-	96.65	-	+	+	-	7	9	-	7	-	7.78	6.3	*	7.2	7.11	6.37	30	25	-	21	-	Y	5.4
GL3	-	-	+	+	+	-	168.73	92.55	+	-	-	-	8	-	-	-	<2	<2	4	5.67	6.68	6.86	26	30	-	30	-	Y	33.3
GL12	-	-	+	-	+	-	-	100.36	+	-	-	7	-	-	-	-	<2	6.6	6.62	<2	*	<2	12	37	-	34	14	Y	
HL4	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	8	10	8	-	-	*	6	6.58	6.47	6.8	6.3	-	25	-	23	-	Y	70.8
HL14	-	+	+	-	-	-	135.21	100.98	+	+	-	-	-	-	-	-	7.48	<2	6.75	5.2	6.9	4.3	20	22	-	24	-	Y	12.8
HL24	-	-	+	-	+	-	140.82	95.9	+	-	-	-	-	-	-	-	8.36	<2	5.99	5.73	6.38	6.58	10	12	-	20	-	Y	

*1 Sayılamayacak kadar çok olanları ifade eder.

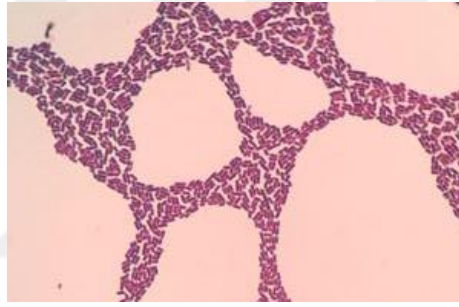
Uygulanan testler ışığında probiyotik özellikte olduğu belirlenen izolatları temsilen toplam 15 adet izolat seçilmiş ve moleküler düzeyde tanımlanmıştır. Elde edilen sonuçlar, bu izolatların *L. plantarum*, *L. brevis*, *P. parvulus* ve *L. parabuchneri* olmak üzere dört farklı türe ait olduğunu ortaya koymuştur. Bu türlere ait mikroskop görüntüleri aşağıda yer almaktadır (Şekil 4.1):



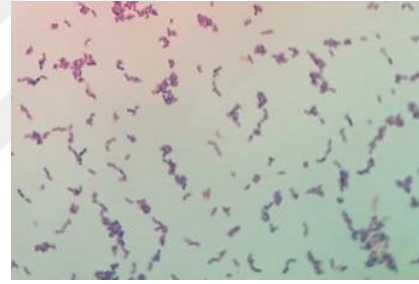
Lactobacillus brevis



Lactobacillus plantarum



Pediococcus parvulus



Lactobacillus parabuchneri

Şekil 4.1 İzolatların mikroskopik görüntüleri

Probiyotik özellikleri belirlenen izolatları temsilen seçilen toplam 15 adet izolata ait moleküler tanımlama sonuçları Çizelge 4.18’de verilmiştir.

Çizelge 4.18 İzolatların moleküler tanı sonuçları

Örnek	Kodu	Filogenetik ağaçta kodu	Bakteri İsmi	İdentifikasyon Oranı (%)
A ŞALGAM TURŞUSU	AL4	T1	<i>L. plantarum</i>	99.91
	AL14	T2	<i>L. plantarum</i>	100
B KARIŞIK TURŞU	BL1	T3	<i>L. plantarum</i>	99.7
	BL8	T4	<i>L. plantarum</i>	100
	BL16	T5	<i>L. plantarum</i>	100

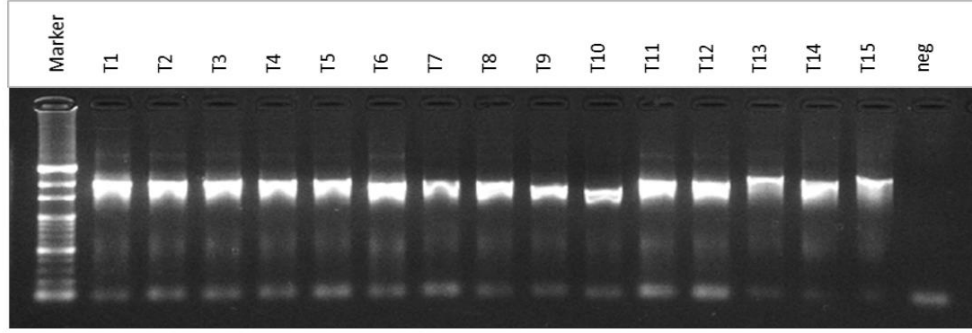
Çizelge 4.18 İzolatların moleküler tanı sonuçları (devamı)

Örnek	Kodu	Filogenetik ağaçta kodu	Bakteri İsmi	İdentifikasyon Oranı (%)
C BİBER	CL7	T6	<i>L. brevis</i>	99.91
TURŞUSU	CL14	T7	.*	
	CL17	T8	<i>L. brevis</i>	99.6
D KARIŞIK	DL2	T9	<i>P. parvulus</i>	100
TURŞU	DL9	T10	<i>P. parvulus</i>	100
G SAUERKRAUT	GL3	T11	<i>L. parabuchneri</i>	100
	GL12	T12	<i>L. parabuchneri</i>	100
H SAUERKRAUT	HL4	T13	<i>L. plantarum</i>	99.77
	HL14	T14	<i>P. parvulus</i>	100
	HL24	T15	<i>P. parvulus</i>	100

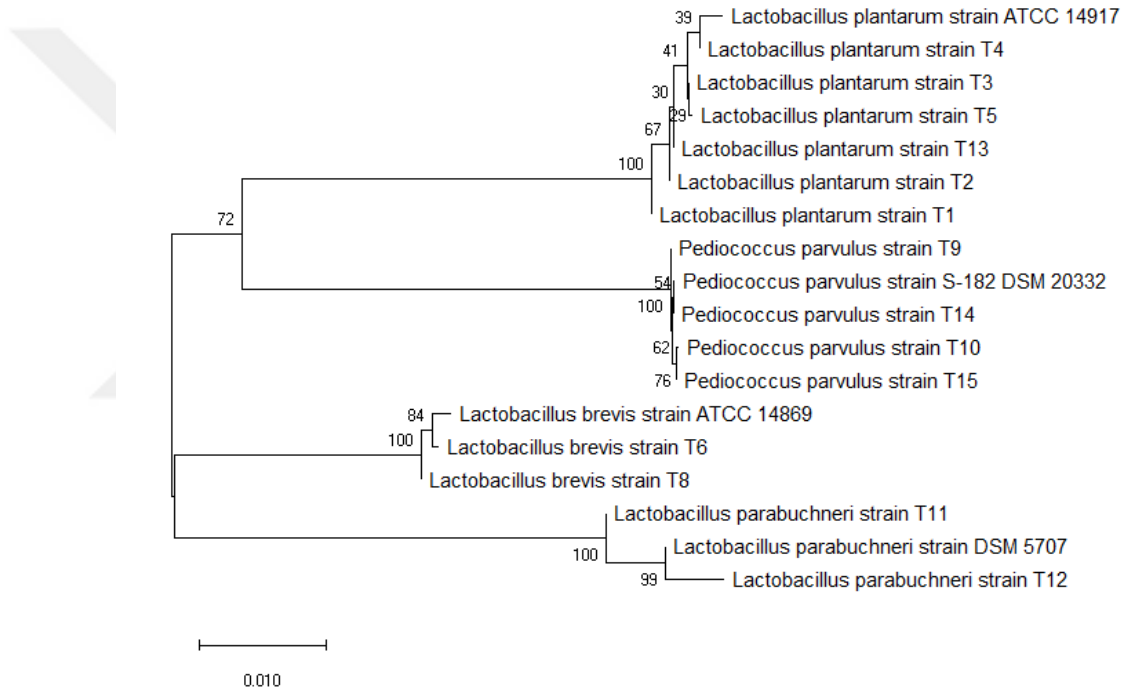
*Tanımlanamamıştır.

Elde edilen sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, *L. plantarum*'un A, B ve H örnekleri olmak üzere üç analiz örneğinde, *P. parvulus*'un D ve H örneklerinde bulunduğu, *L. parabuchneri* ve *L. brevis*'in ise sırasıyla G ve C örneklerine spesifik olarak sadece bu örneklerde bulunduğu tespit edilmiştir.

Primerler, bakterilerin ribozomal RNA bölgelerinin çoğaltması sonrası elde edilen proteinler, jelde yürütülmüş ve oluşan protein bantları görüntülenerek moleküler büyüklükleri hesaplanmıştır. Agoroz jel görüntüleri incelendiğinde, AL4 (T1), AL14 (T2), BL1 (T3), BL8 (T4), BL16 (T5), HL4 (T13) arasındaki benzerlik, GL3 (T11), GL12 (T12) arasındaki benzerlik, DL2 (T9), HL14 (T14) ve HL24 (T15) arasındaki benzerlikler görülmektedir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. İzolatların 16S rRNA PCR ürünlerinin agoroz jeldeki görünüşleri



Şekil 4.3 İzolatların DNA dizilerine bağlı olarak oluşturulmuş filogenetik ağaç

İzolatlar arasındaki benzerlik Mega7 programıyla oluşturulan filogenetik ağaç ile ortaya konmuştur (Şekil 4.3). Ağaç içerisine ATCC(Amerika) (*L. plantarum* strain ATCC 14917, *L. brevis* strain ATCC 14869) ve DSMZ (Almanya) (*P. Parvulus* strain S-182 DSM 20332, *L. parabuchneri* strain DSM 5707) kültür koleksiyonlarına ait türler de yerleştirmiş ve böylece benzerlikler daha açık gözlenmiştir.

5. SONUÇ

İzmir ili ve çevresinde geleneksel yöntemlerle üretilen turşuların probiyotik özelliklerini belirlemek amacı ile yedi farklı üreticiden temin edilen örneklerde öncelikle mikrobiyolojik sayımlar yapılmış, ardından örneklerden izole edilen LAB'lerinin probiyotik özelliklerini belirlemek üzere bu izolatlara farklı testler uygulanmış ve son olarak probiyotik özellikleri belirlenen izolatlar moleküler düzeyde tanımlanmıştır.

Turşu örneklerinin kimyasal özelliklerini belirlemek üzere örneklerle pH, asitlik ve tuz analizleri uygulanmıştır. Örneklerin pH değerlerinin 2.80 ile 4.10 arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuç, örneklerden izole edilen mikroorganizmaların probiyotik özellik göstergesi olan düşük pH'da canlılığını sürdürme kriterini karşıladığını göstermektedir. Turşu örneklerinin toplam asitlik miktarlarının laktik asit cinsinden, 0.30–1.18 g/100 ml arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca, örneklerin tuz miktarının %2.34 ile %4.2 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir.

Turşularda mikrobiyolojik durumu belirlemek üzere LAB, AAB ve maya sayımları yapılmıştır. F, I ve J örnekleri dışındaki tüm örneklerde 30°C'lik inkübasyon sonunda MRS petrilerinden sayım alınmıştır. İncelenen örneğe bağlı olarak LAB sayım sonuçlarının 7.41×10^3 – 6.48×10^6 kob/g aralığında değişim gösterdiği, en yüksek sayım sonucunun karışık turşu (E) örneğinde, en düşük sayım sonucunun karışık turşu (B) örneğinde olduğu tespit edilmiştir. AAB sayım sonuçlarının 2.30×10^2 – 5.20×10^3 kob/g aralığında değişim gösterdiği, en yüksek sayım sonucunun kırmızı biber turşusu (C) örneğinde, en düşük sayım sonucunun karışık turşu (B) örneğinde olduğu tespit edilmiştir. Maya sayılarının ise 3.54×10^2 – 4.88×10^2 kob/g aralığında değişim gösterdiği, en yüksek sayının karışık turşu (E) örneğinde, en düşük sayının ise karışık turşu (B) örneğinde olduğu tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında elde edilen toplam 114 adet LAB izolatının probiyotik potansiyelini belirlemek üzere farklı pH değerlerinde gelişme, farklı sıcaklıklarda gelişme, safra tuzlarına tolerans, farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme, pepsin

ve pankreatin varlığında gelişme, antibiyotiklere karşı direnç, hemolitik aktivite, antimikrobiyal aktivite, fenole dayanıklılık ve enzim aktivitesinin belirlenmesi analizleri uygulanmıştır.

İzolatlar farklı pH değerlerinde gelişim açısından incelendiğinde, toplam 114 izolattan 65'inin pH 3'te ve 95'inin pH 4'te canlılığını sürdürdüğü, bununla birlikte sadece 3 izolatın (BL11, DL1 ve DL15) pH 2'de gelişebildiği tespit edilmiştir.

Farklı sıcaklıklarda gelişim özellikleri incelenen izolatlardan çoğunluğunun 25°C'de gelişebildiği (AL2-3-4-5-6-7-8-10-11-12-15-17-19-20-25, BL1-3-4-5-6-8-10-11-12-13-14-16-17, CL1-6-7, EL2, GL9, HL8-9-10-11-12-13-14-15-17-18-22-27 hariç), 20 adedinin 10°C'de de gelişim gösterdiği, ancak hiçbir izolatın 45 °C'de canlılığını sürdüremediği tespit edilmiştir.

Tüm izolatların %1.5 NaCl içeren besiyerinde canlılığını sürdürdüğü, %10 NaCl içeren besiyerinde 73 izolatın (AL1-15-18-22, BL9B-9, CL8-12-13-14-16-18-19, DL5-6-8-11-16, EL2, GL2-3-4-5-6-7-9-10-11-12-13, HL1-3-15-17-18-21-22-24-27-30-33 hariç) canlılığını sürdüremediği belirlenmiştir.

İzolatların %0.3 safra tuzu içeren besiyerinde hızlı, %1 safra tuzu içeren besiyerinde ise yavaş da olsa gelişebildiği tespit edilmiştir.

İzolatların antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirildiğinde; 20 izolatın (AL4, AL13, AL14, AL15, AL16, AL17, AL22, BL1, BL10, BL11, BL13, CL8, CL17, DL4, DL6, EL2, EL5, EL8, HL8, HL9) 4 test kültürü (*S. aureus* 6538P, *E. coli* ATCC 43888, *E. coli* O157:H7 ATCC 43895, *S. Typhimurium* ATCC 13311) üzerinde de antimikrobiyal etki gösterdiği görülmüştür. Bununla birlikte hiçbir izolat *L. monocytogenes* üzerinde antimikrobiyal aktivite göstermemiş, sadece dört izolat (CL12, CL14, CL17 ve GL6) *B. cereus* üzerinde antimikrobiyal etki göstermiştir.

Toplam 16 izolatın (AL4, AL5, AL6, AL9, AL20, BL1, BL4, BL5, BL6, BL10, BL14, BL17, CL2, CL6, CL7, CL10) %0.4 fenol varlığında, 24 saat

sonunda gelişim gösterdiği tespit edilmiştir. En fazla gelişimi AL5 (%12 oranında artış ile) gösterirken, en düşük gelişimi DL13 (%24.4 oranında azalma ile) göstermiştir.

Pankreatin varlığında 6 saat sonunda 36 izolatın (AL2, AL4, AL 16, AL19, AL25, BL1, BL5, BL6, BL8, BL9B, BL9, BL10, BL12, BL14, BL16, BL17, CL1, CL7, CL8, CL10, CL12, CL18, DL2, DL7, DL11, DL12, DL16, EL2, GL3, HL1, HL12, HL13, HL15, HL17, HL18, HL29) gelişim göstermeye devam ettiği, pepsin varlığında gelişim analizinde ise 4 saatin sonunda 31 izolatın (AL8-10-11-12-14, BL8-9B-9-10, CL7-8-10-16, DL1-2-17, EL2-8, GL3-7-9, HL8-10-11-12-15-17-18-21-24-26) gelişim gösterdiği belirlenmiştir.

İzolatlara uygulanan antibiyotik duyarlılık testinde hiçbir izolatın kanamycin üzerinde direnç göstermediği, gentamicine karşı direnç gösteren izolatların yalnızca; GL1, GL12, GL13, HL1, HL29 ve HL32 olduğu ve hiçbir antibiyotiğe karşı direnç göstermeyen izolatların ise; BL5, BL13, DL6, DL8, HL7, HL13, HL22 ve HL31 olduğu belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen hiçbir izolat hemolitik aktivite göstermemiştir (γ hemolitik). İzolatların proteolitik aktivite değerleri incelendiğinde, en düşük değerin AL5 (0.0018 mg tirozin/ml), en yüksek değerin EL2 (0.1262 mg tirozin/ml) izolatında olduğu, 4 saatlik inkübasyon sonucunda AL4, BL17, CL19, HL14'ün β -galaktosidaz aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir.

Uygulanan analizlerle probiyotik özellik gösterdiği düşünülen izolatları temsilen seçilen 15 izolat moleküler düzeyde tanımlanmış ve sonuçlar bu izolatların *L. plantarum*, *L. brevis*, *P. parvulus* ve *L. parabuchneri* türlerine ait olduğunu ortaya koymuştur.

Farklı turşularda yürütülen önceki çalışmalar kapsamında *L. plantarum* ve *L. brevis*'in tanımlanan izolatlar arasında yer aldığı, ancak *P. parvulus* ve *L. parabuchneri*'nin nadiren tespit edildiği görülmektedir. Çalışma kapsamında belirlenen türlerin probiyotik özellikler gösteriyor olması, özellikle bu izolatlar kullanılarak yapılacak kontrollü şartlardaki gıda üretimine olanak

sağlayabilecektir. Bu anlamda çalışma kapsamında elde edilen sonuçların da endüstrisine önemli katkı sağlanacağı düşünülmektedir. Bununla birlikte izolatların *in vivo* testlerle ileri seviyede incelenmesi gerektiği düşünülmektedir.



KAYNAKLAR DİZİNİ

- Adnan, A.F.M. and Tan, I.K.**, 2007, Isolation of lactic acid bacteria from Malaysian foods and assessment of the isolates for industrial potential, *Bioresource Technology*, 98, 1380-1385 pp.
- Ahire, J., Bhat, A., Thakare, J.M., Pawar, P.B., Zope, D.G., Jain, R.M. and Chaudhari, B.L.**, 2012, Cholesterol Assimilation and Biotransformation by *Lactobacillus helveticus*, *Biotechnology Letters* 34, 103–107pp.
- Aihara, K., Osaka, M. and Yoshida, M.**, 2014, Oral administration of the milk casein-derived tripeptide Val-Pro-Pro attenuates high-fat diet-induced adipose tissue inflammation in mice, *British Journal of Nutrition* 112, 513–519pp.
- Aktan, N., Yucel, U. and Kalkan, H.**, 1998, Tursu teknolojisi, Ege Üniversitesi Ege Meslek Yüksek Okulu Yayınları, İzmir, 23, 138s.
- Alp, D. ve Ertürkmen, P.**, 2017, Probiyotik Olarak Kullanılan *Lactobacillus* spp. Suşlarının Kolesterol Düşürücü Etkileri ve Olası Mekanizmalar, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 8(1), 108-113pp.
- AOAC**, 2007, Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 18th edition, *AOAC International*, 326 p.
- Arıcı, M., Bilgin, B., Sağdıç, O. and Özdemir, C.**, 2004, Some characteristics of *Lactobacillus* isolates from infant faeces, *Food Microbiology*, 21, 19-24pp.
- Aso, Y., Akazan, H., Kotake, T., Tsukamoto, T., Imai, K. and Maito, S.**, 1995, Preventive effect of *Lactobacillus casei* preparation on the recurrence of superficial bladder cancer in a double-blind trial, *European Urology*, 27, 104–109pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Başıyigit K.G. and Karahan A.G.,** 2010, Identification of lactic acid bacteria isolated from the fecal samples of healthy humans and patients with dyspepsia and determination of their pH, bile and antibiotic tolerance properties, *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 18, 220-229pp.
- Battcock, M., and Azam-Ali, S.,** 2001, Fermented Fruits and Vegetables: A Global Perspective, 134.
- Battcock, M. and Azam-Ali, S.,** 1998, Fermented Fruits And Vegetables. A *Global Perspective*. FAO, Rome, Italy.
- Begley, M., Hill, C. and Gahan, C.G.M.,** 2006, Bile Salt Hydrolase Activity in Probiotics, *Applied and Environmental Microbiology*, 72(3), 1729–1738pp.
- Bhanwar, S., Singh, A. and Ganguli, A.,** 2014, Probiotic characterization of potential hydrolases producing *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* isolated from pickled yam, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 65(1), 53–61 pp.
- Boricha, Aarti A., Satyamitra L. Shekh, Sheetal P. Pithva, Padma S. Ambalam. and Bharatkumar Rajiv Manuel Vyas,** 2019, In Vitro Evaluation of Probiotic Properties of *Lactobacillus* Species of Food and Human Origin, 106,201–8pp.
- Buckenhüskes, H.J.,** 1993. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as starter cultures for various food commodities, *FEMS Microbiology Reviews*, 12(1-3), 253-271 pp.
- Bulut, Ç.,** 2003, Isolation and molecular characterization of lactic acid bacteria from cheese, MSc Thesis, İzmir Institute of Technology, 40p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Calla, A., Rao, D.R., Chawan, C.B. and Shackelford, I.,** 1997, Bifidobacterium longum and lactulose suppress azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats, *Carcinogenesis*, 18, 517–521pp.
- Chakrabarti, S. and Wu, J.,** 2015, Milk-derived tripeptides IPP (Ile-Pro-Pro) and VPP (Val-Pro-Pro) promote adipocyte differentiation and inhibit inflammation in 3T3-F442A cells, *PLoS One* 10, 1–15pp.
- Chang, C.H., Chen, Y.S. and Yanagida, F.,** 2011, Isolation and characterisation of lactic acid bacteria from yan-jiang (fermented ginger), a traditional fermented food in Taiwan, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91,10, 1746–1750 pp.
- Chiu, H.H., Tsai, C.C., Hsih, H.Y. and Tsen. H.Y.,** 2008, Screening from pickled vegetables the potential probiotic strains of lactic acid bacteria able to inhibit the Salmonella invasion in mice, *Journal of Applied Microbiology*, 104, 60512.
- Cizeikiene, D., Juodeikiene, G., Paskevicius, A. and Bartkiene, E.,** 2013, Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against pathogenic and spoilage microorganism isolated from food and their control in wheat bread, *Food Control*, 31(2), 539–545 pp.
- Clark, P.A., Cotton, L.N. and Martin, J.H.,** 1993, Selection of Bifidobacteria for use as dietary adjuncts in cultured dairy foods: II. Tolerance to simulated pH of human stomachs, *Cultured dairy products journal*, 28, 11-14pp.
- Çakır, İ. ve Çakmakçı, M.L.** 2002, Probiyotik teknolojisi ve Türkiye'deki durumu, Türkiye 7. Gıda Kongresi Kitabı, Ankara Üniversitesi Basımevi, 889, 179-187pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Çakır, İ.**, 2003, Laktobasillus ve Bifidobakterlerde Bazı Probiyotik Özelliklerin Belirlenmesi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 84s.
- Dave, R.I. and Shah, N.P.**, 1997, Viability of yogurt and probiotic bacteria in yogurts made from commercial starter culture, *International Dairy Journal*, 7, 31-41pp.
- Davidson P.M. and Hoover D.G.**, 1993, Antimicrobial Components from Lactic Acid Bacteria, Salminen, S. and von Wright, a. (ed): Lactic Acid Bacteria, 127 p.
- De Boever, P., Wouters, R., Verschaeve, L., Berckmans, P., Schoeters, G. and Verstraete, W.**, 2000, Protective effect of the bile salt hydrolase-active Lactobacillus reuteri against bile salt cytotoxicity, *Applied Microbiology and Biotechnology*, (53), 709-714 pp.
- De Boever, P., Wouters, R., Verschaeve, L., Berckmans, P., Schoeters, G. and Verstraete, W.**, 2000, Protective effect of the bile salt hydrolase-active Lactobacillus reuteri against bile salt cytotoxicity, *Applied Microbiology and Biotechnology*, (53), 709-714 pp.
- De Roos, N. and Katan, M.**, 2000, Effects of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism, and carcinogenesis: a review of papers published between 1988 and 1998. *Am J Clin Nutr* 71:405–411 pp.
- De Vero, L., Gala, E., Gullo, M., Solieri, L., Landi, S. and Giudici, P.**, 2006, Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) analysis to evaluate acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar, *Food Microbiology*. 23, 809-813 pp.
- Demir,E., Kılıç, G.B. and Özbacı, D.**, 2019, Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 7(4), 639-645pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Ertekin,** 2017, Farklı Gıdalardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Nümerik Taksonomisi, Yüksek lisans tezi, Pamukkale Üniversitesi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 161s.
- FDA-BAM (Food and Drug Administration-Bacteriological Analytical Manual),** 2001a, “Aerobic plate count”. Accepted: 25 Temmuz 2017.
- Fleming, H.P., Andersson, R.E. and Daeschel, M.A.,** 1987, Microbial ecology of fermenting plant materials, *FEMS Microbiology Reviews*. 46, 357- 367 pp.
- Fox, M.W.,** 1990, Transgenic Animals: Ethical and Animal Welfare Concerns, In: Wheale P, McNally R (eds) *The Bio-Revolution: Cornucopia or Pandora’s Box*. Pluto Press, London, 31–54pp.
- Frias, J., Martinez-Villaluenga, C. and Peñas, E.,** 2017, Fermented foods in health and disease prevention, 49-59 pp.
- Friend, B.A., Farmer, R.E. and Shahani, K.M.,** 1982, Effect of feeding and intraperitoneal implantation of yoghurt culture cells on Ehrlich ascites tumor. *Milchwiss*, 37, 708–710pp.
- Fujiwara, S., Seto, Y., Kimura, A., Hashiba, H.,** 2001, Establishment of orallyadministered *Lactobacillus gasseri* SBT2055SR in the gastrointestinal tract of humans and its influence on intestinal microflora and metabolism, *Journal of Applied Microbiology* 90, 343–352pp.
- G-Allegria, E., Lopez, I., Ruiz, I.J., Saenz, J., Fernandez, E., Zarazaga, M., Dizy, M.,Torres, C. and 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 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Gibson, P.R. and Muir, J.G.**, 2005, Reinforcing the mucus: a new therapeutic approach for ulcerative colitis? *Gut* 54, 900–903pp.
- Goma, G.**, 2008, Advances in Biochemical Engineering, *Springer Verlag*, Berlin, Vol.61.
- Granato, D., Branco, G.F., Nazzaro, F., Cruz, A.G. and Faria, J.A.F.**, 2010. Functional foods and nondairy probiotic food development: trends, concepts, and products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 9, 292-302pp.
- Harrigan, W.F. and McCance, M.E.**, 1976, Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology, *Academic Press*, London, 19-20 pp.
- Hébert, E.M., Raya, R.R., Tailliez, P. and De Giori, G.S.**, 2000, Characterization of natural Isolates of *Lactobacillus* strains to be used as starter cultures in dairy fermentation, *International Journal of Food Microbiology*. 59, 19-27 pp.
- Hlivak, P., Odraska, J., Ferencik, M., Ebringer, L., Jahnova, E. and Mikes, Z.**, 2005, One-year application of probiotic strain *Enterococcus faecium* M-74 decreases serum cholesterol levels. *Bratislava Medical Journal*, 106, 67–72pp.
- Horie, H., Zeisig, M., Hirayama, K., Midtvedt, T., Moller, L. and Rafter, J.**, 2003, Probiotic mixture decreases DNA adduct formation in colonic epithelium induced by the food mutagen 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole in a human-flora associated mouse model, *European Journal of Cancer Prevention*, 12, 101–107pp.
- Hutkins, R.W.**, 2006, Microbiology and technology of fermented foods. *Blackwell Publishing*, Oxford, UK, 473p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Ji, F.D., Ji, B.P., Li, B. and Han, B.Z.**, 2007, Microbial change during the salting process of traditional pickled Chinese cabbage, *Food Science and Technology International*, 13,116p.
- Karaçıl, M.Ş. ve Tek, N.A.**, 2013, Dünyada Üretilen Fermente Ürünler: Tarihsel Süreç ve Sağlık ile İlişkileri, *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27(2), 163–173 pp.
- Katz, S.E.**, 2012, The Art of Fermentation: An In-depth Exploration of Essential Concepts and Processes from Around the World, Chelsea Green Publishing, Vermont.
- Kılıç, S.**, 2001, Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi*, İzmir, 542-451 s.
- Kirk, R. and Sawyer, R.**, 1991, Herbs and spices, salt. Composition and Analysis of Foods, 9,391-429 pp.
- Kumar, M.A. and Murugalatha, N.**, 2012, Isolation of Lactobacillus plantarum from cow milk and screening for the presence of sugar alcohol producing gene, *Journal of Microbiology and Antimicrobials*, 4,16–22pp.
- Lankaputhra, W.E.V. and Shah, N.P.**, 1995, Survival of L. acidophilus and Bifidobacterium spp. in the presence of acid and bile salts, *Cultured dairy products journal*, 30, 2-7pp.
- Lankaputhra, W.E.V. and Shah, N.P.**, 1998, Adherence of probiotic bacteria to human colonic cells, *Bioscience and Microflora*, 17, 105-113pp.
- Laurens-Hattinh, A. and Viljoen, B.C.**, 2001, Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, (11), 1-17 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Lee, J.S., Heo, G.Y. and Jun W.L.,** 2005, Analysis of kimchi microflora using denaturing gradient gel electrophoresis, *International Journal of Food Microbiology*, 143–150 pp.
- Leisner, J. J., Vancanneyt, M. and Rusul, G.,** 2001, Identification of lactic acid bacteria constituting the predominating microflora in an acid-fermented condiment (tempoyak) popular in Malaysia, *International Journal of Food Microbiology*, 63, 1-2, 149–157 pp.
- Maragkoudakis, P.A., Zoumpopoulou, G., Miaris, C., Kalantzopoulos. G., Pot, B. and Tsakalidou, E.,** 2006, Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *International Dairy Journal*, 16, 189–199pp.
- Mårtensson, O., Björklund, M., Lambo, A.M., Dueñas-Chasco, M., Irastorza, A., Holst, O. and Önning, G.,** 2005, Fermented, rye, oat-based products reduce cholesterol levels and stimulate the bifidobacteria flora in humans. *Nutrition Research* 25 (5), 429–442pp.
- Mavhungu, J.,** 2005, Isolation and identification of lactic acid bacteria from ‘Ting’ in the 155 Northern Province of South Africa, *Department of Microbiology and Plant Pathology*, University of Pretoria, South Africa, 74 p.
- McEwen, B.S.,** 2008, Central effects of stress hormones in health and disease: understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators. *European Journal of Pharmacology* 583, 174–185 pp.
- Metchnikoff. E.,** 1907, Lactic acid as inhibiting intestinal putrefaction In: The prolongation of life: optimistic studies, *Heinemann*, London, 161–183pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Monika, S., Kumar, V., Kumari, A., Angmo, K. and Bhalla, T.C.,** 2017, Isolation and characterization of lactic acid bacteria from traditional pickles of Himachal Pradesh, India, *Journal of Food Science and Technology*, 54(7), 1945–1952 pp.
- Montecucco, F., Mach, F. and Pende, A.,** 2013, Inflammation is a key pathophysiological feature of metabolic syndrome, *Mediators of Inflammation*:135984.
- Mourad, K. and Nour-Eddine, K.,** 2006, Microbiological study of naturally fermented Algerian green olives: Isolation and identification of lactic acid bacteria and yeasts along with the effects of brine solutions obtained at the end of olive fermentation on *Lactobacillus plantarum*. *Grasas y Aceites*, 57, 292-300pp.
- Murray, F.,** 1998, *Acidophilus and Your Health: The beneficial microorganisms that aid digestion and fight disease*, *Keats Publishing*, 46p.
- Musikasang, H., Tani, A., H-kittikun, A. and Maneerat, S.,** 2009, Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from chicken gastrointestinal digestive tract, *World J. Microbial Biotechnology*, vol. 25, 1337-1345 pp.
- Nami, Y., Haghshenas, B., Haghshenas, M. and Khosroushah, A.Y.,** 2015, Antimicrobial activity and the presence of virulence factors and bacteriocin structural genes in *Enterococcus faecium* CM33 isolated from ewe colostrum. *Frontiers in Microbiology*, 6, 782pp.
- Naruszewicz, M., Johansson, M.L., Zapolska-Downar, D. and Bukowska, H.,** 2002, Effect of *Lactobacillus plantarum* 299v on cardiovascular disease risk factors in smokers, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76, 1249–1255pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Narva, M., Halleen, J., Väänänen, K. and Korpela, R.,** 2004, Effects of *Lactobacillus helveticus* fermented milk on bone cells in vitro, *Life Sciences* 75, 1727–1734pp.
- Nguyen, D.T.L., Van Hoorde, K. and Cnockaert, M.,** 2013, A description of the lactic acid bacteria microbiota associated with the production of traditional fermented vegetables in Vietnam, *International Journal of Food Microbiology*, 163, 19–27 pp.
- Oatley, J.T., Rarick, M.D., Ji, G.E. and Linz, J.E.,** 2000, Binding of aflatoxin B1 to bifidobacteria in vitro, *J Food Protect, Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics* 57 63, 1133–1136pp.
- Ohashi, Y., Nakai, S., Tsukamoto, T., Masumori, N., Akaza, H. and Miyanaga, N. et al.,** 2002, Habitual intake of lactic acid bacteria and risk reduction of bladder cancer, *Urologia Internationalis*, 68, 273–280pp.
- Önal, D., Beyatlı, Y. and Aslım, B.,** 2005, Probiyotik Bakterilerin Epitel Yüzeylere Yapışması, *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 39, 1-10pp.
- Papamanoli, E., Tzanestakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E. and Kotzekidou, P.,** 2003, Characterisation of Lactic Acid Bacteria Isolated From a Greek Dry- Sausages in Respect of Their Technological and Probiotic Properties. *Meat Science*, 65, 859-867 pp.
- Peres, C.M., Peres, C., Mendosa, A.H. and Malcata, F.X.,** 2012, Review on fermented plant materials as carriers and sources of potentially probiotic lactic acid bacteria—with an emphasis on table olives, *Trends in Food Science & Technology*, 26(1), 31-42pp.
- Pietschmann, P., Rauner, M., Sipos, W. and Kerschman-Schindl, K.,** 2009, Osteoporosis: an age-related and gender-specific disease – a mini-review, *Gerontology* 55, 3–12.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Pfeiler, E.A. and Todd R.K.**, 2007, The Genomics of Lactic Acid Bacteria. *Trends in Microbiology* 15(12), 546–53pp.
- Plaisancié, P., Boutrou, R., Estienne, M., Henry, G., Jardin, J., Paquet, A. and Leónil, J.**, 2015, β -Casein(94-123)-derived peptides differently modulate production of mucins in intestinal goblet cells. *Journal of Dairy Research* 82, 36–46pp.
- Prajapati, J.B. and Nair, B.M.**, 2008, The history of fermented foods, In: Farnworth, E.R. (Ed.), *Handbook of Fermented Functional Foods*, CRC Press, Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, FL, 1–22 pp.
- Ragul, K., Syiem, I., Sundar, K., Shetty, P.H.**, 2017, Characterization of probiotic potential of *Bacillus* species isolated from a traditional brine pickle, *Journal of Food Science and Technology*, 54 (13), 4483 pp.
- Rasic, J.L., Vujicic, I.F., Skringer, M. and Vulic, M.**, 1992, Assimilation of cholesterol by some cultures of lactic acid bacteria and bifidobacteria, *Biotechnology Letters*, 14, 39–44pp.
- Rodríguez, H., Curiel, J. A., Landete, J. M., de las Rivas, B., de Felipe, F. L., Gómez-Cordovés, C. and Muñoz, R.**, 2009, Food phenolics and lactic acid bacteria, *International Journal of Food Microbiology*, 132(2–3), 79–90pp.
- Rojas-Ronquillo, R., Cruz-Guerrero, A., Flores-Nájera, A., Rodríguez-Serrano, G., Gómez-Ruiz, L., Reyes-Grajeda, J.P., Jiménez-Guzmán, J. and García-Garibay, M.**, 2012, Antithrombotic and angiotensin-converting enzyme inhibitory properties of peptides released from bovine casein by *Lactobacillus casei* Shirota, *International Dairy Journal* 26, 147–154pp.
- Rolfe, R.D.**, 2000, The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *Journal of Nutrition*, 130, 396-402pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Saeedi, M., Shahidi, F., Mortazavi, S. A., Milani, E. and Tabatabaei Yazdi, F.,** 2015, Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria in Winter Salad (Local Pickle) during Fermentation Using 16S rRNA Gene Sequence Analysis. *Journal of Food Safety*, 35(3), 287–294 pp.
- Sağdıç, O., Küçüköner ve E., Özçelik, S.,** 2004, Probiyotik ve Prebiyotiklerin Fonksiyonel Özellikleri, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 35 (3-4), 221-228pp.
- Shah, N.P.,** 2001, Functional foods from probiotics and prebiotics. *Food Technology*, 55, 11 46-53pp.
- Sharpe, M.E., Fryer, E. and Smith, D.G.,** 1966, Identification of Lactic Acid Bacteria. In: Identification Method for Microbiologists Part A, London: Academic Press, 65-67 pp.
- Shihata, A. and Shah, N.P.,** 2000, Proteolytic profiles of yogurt and probiotic bacteria, *International Dairy Journal*, 10, 401-408pp.
- Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G.,** 1986, Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Williams and Wilkins Co. Baltimore, 1075-1079pp.
- Susilowati, S., Laia, S. and Purnomo, H.,** 2018, The effect of salt concentration and fermentation time on pH value, total acidity and microbial characteristic of pickled ginger (*Zingiber officinale* Rosc.), *International Food Research Journal*, 25:2301–2306 pp.
- Swain, M. R., Anandharaj, M., Ray, R. C. and Parveen Rani, R.,** 2014, Fermented Fruits and Vegetables of Asia: A Potential Source of Probiotics, *Biotechnology Research International*, 1–19pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Tamang, J.P. and Samuel, D.,** 2010, Dietary Cultures and Antiquity of Fermented Foods and Beverages. In: Fermented Foods and Beverages of the World, Tamang JP, Kailasapathy K (ed), CRC Press Newyork, United States of America, 1-40 pp.
- Tambekar, D.H. ve Bhutada, S.A.,** 2010, An evaluation of probiotic potential of lactobacillus sp. from milk of domestic animals and commercial available probiotic preparations in prevention of enteric bacterial infections, *Recent Research in Science and Technology*, 2, 82-88 pp.
- Tambekar, D.H. and Bhutada, S.A.,** 2010, An evaluation of probiotic potential of lactobacillus sp. from milk of domestic animals and commercial available probiotic preparations in prevention of enteric bacterial infections. *Recent Research in Science and Technology*, 2, 82-88 pp.
- Thompson, P.B.,** 2000, Discourse Ethics for Agricultural Biotechnology: Its Limits and Its Inevitability, *Science and Engineering Ethics*, 6, 275–278pp.
- Tissier, H.,** 1906, Traitement des infections intestinales par la méthode de la flore bactérienne de l'intestin, *CR Soc Biol* 60, 359–361pp.
- Tokatlı, M.,** 2013, Ankara Çubuk Yöresi Turşularından İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanmaları, Teknolojik ve Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi ve Starter Olarak Kullanılma Olanaklarının Değerlendirilmesi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 183s.
- Tokatlı, M., Gülgör, G., Baǰder Elmac, S., Arslankoz İşleyen, N. and Özçelik, F.,** 2015, In vitro properties of potential probiotic indigenous lactic acid bacteria originating from traditional pickles, *BioMed Research International*, 315819.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Tsai, C.C., Lin, P., Hsieh, Y.M., Zhang, Z., Wu, C.W. and Huang, C.1.,** 2014, Cholesterol-Lowering Potentials of Lactic Acid Bacteria Based on Bile-Salt Hydrolase Activity and Effect of Potent Strains on Cholesterol Metabolism In Vitro and In Vivo, *Scientific World Journal*. 10s.
- Uymaz, B.,** 2010, Probiyotikler ve Kullanım Alanları, Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 16, 1, 95-104s.
- Wang, C.Y., Lin, P.R., Ng, C.C., and Shyu, Y.T.,** 2010, Probiotic properties of Lactobacillus strains isolated from the feces of breast-fed infants and Taiwanese pickled cabbage, *Anaerobe*, 16(6), 578–585 pp.
- Wootton, M.,** 2013, BSAC Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing, *Bsac*, 44,1–87 pp.
- World Health Organization,** 2014, Global Status Report on Noncommunicable Diseases, Geneva, Switzerland.
- Xanthopoulos, V., Litopoulou-Tzanetaki, E. and Tzanetaki, N.,** 2000, Characterization of Lactobacillus isolates from infant faeces as dietary adjuncts, *Food Microbiology*, 17, 205-215pp.
- Yan, P.M., Xue, W.T., Tan, S.S., Zhang, H., and Chang, X.H.,** 2008, Effect of inoculating lactic acid bacteria starter cultures on the nitrite concentration of fermenting Chinese paocai, *Food Control*, 19, 50–55 pp.
- Rao, Y., Tao, Y., Li Xiao S., Jiantao Y., Yang Q., Hengjun D., Lei L., and Hang X.,** 2019, Characterization of a probiotic starter culture with anti-Candida activity for Chinese pickle fermentation, *Food Function*, 10, 6936.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Zielińska, D., Rzepkowska, A., Radawska, A. and Zieliński, K.,** 2015, In vitro screening of selected probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from traditional fermented cabbage and cucumber. *Current Microbiology*, 70(2), 183–194 pp.
- Sharaf, E.F. and Al Harbi, R.M.,** 2011, Isolation, Identification and Antimicrobial Activity of Some Local Isolates of Lactic Acid Bacteria. *Research Journal of Microbiology*. Volume 6 (12), 826-838 pp.
- Vasiljevic T, and Jelen P,** 2001, Production of β -galactosidase for lactose hydrolysis in milk and dairy products using thermophilic lactic acid bacteria. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2(2), 75-85.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, samimiyetini her zaman hissettiren değerli tez danışmanım Sayın Doç. Dr. İlkin ŞENGÜN'e teşekkürü bir borç bilirim. Laboratuvar çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen Tekn. Figen BECERİK'e, Tekn. Tülay ÜZEL'e, Gülden KILIÇ'a, Berna ÖZTÜRK'e, Ahmet GARGI'ya, Ayşegül KIRMIZIGÜL'e, Kıvanç ATLAMA'ya çok teşekkür ederim. Ayrıca hayatım boyunca maddi-manevi destekleriyle hep yanımda olan babam Zülfü BİNGÖL, annem Birsen BİNGÖL ve kardeşim Deniz Su BİNGÖL'e teşekkür ederim. En önemlisi de hayatımın her alanında olduğu gibi tez çalışmamda da yanımda olan sevgili eşim Mutlu Barış BAŞDOĞAN'a sonsuz teşekkür ederim.



ÖZGEÇMİŞ

Miray Gizem BAŞDOĞAN, 1992 yılında İzmir’de doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini İzmir’de tamamladı. 2014 yılında Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümünden mezun oldu. 2015 yılında Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Kültür ve Spor Daire Başkanlığı’nda işe başladı. 2016 yılında Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Bilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı.

