



**BOZADAN İZOLE EDİLMİŞ LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN BAZI TEKNOLOJİK VE
FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ**

Merve BOZDEMİR

Yüksek Lisans Tezi

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

**Danışman: Prof.Dr. Tuncay GÜMÜŞ
2021**

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BOZADAN İZOLE EDİLMİŞ LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN BAZI
TEKNOLOJİK VE FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ**

Merve BOZDEMİR

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Prof.Dr. Tuncay GÜMÜŞ

TEKİRDAĞ-2021

Her hakkı saklıdır.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BOZADAN İZOLE EDİLMİŞ LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN BAZI TEKNOLOJİK VE FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ

Merve BOZDEMİR

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr. Tuncay GÜMÜŞ

Bu çalışmada, Trakya Bölgesi Velimeşe Beldesi'nde geleneksel olarak üretilen 5 farklı Bozadan izole edilmiş PZR yöntemi ile tanımlanmış *Limosilactobacillus fermentum* (M3F), *Levilactobacillus brevis* (M18F), *Leuconostoc citreum* (M26F), *Lactobacillus pentosus* (M7F), *Lactiplantibacillus plantarum* (M15F), *Leuconostoc lactis* (M31F), *Lactococcus lactis* (M2F) ve *Lacticaseibacillus paracasei* (M32F) izolatlarının bazı teknolojik ve fonksiyonel özellikleri belirlenmiştir. İzolatların, antibakteriyal aktivite, antibiyotik direnci, safra tuzuna dayanıklılık, hidrofobisite, hidrojen sülfür, hidrojen peroksit, diasetil ve asit üretme yetenekleri belirlenmiş ve ayrıca farklı sıcaklık, NaCl, pH ve alkolde gelişimi, otoliz ve Ekzopolisakkarit (EPS) üretme özellikleri incelenmiştir. İzolatlardan *L.pentosus*, patojen olan test bakterileri *Staphylococcus aureus* (ATCC 2393), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 33150), *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076), *Vibrio parahaemolyticus* (ATCC 17802), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) üzerine antibakteriyal etki ederken, *L.plantarum*, *L. monocytogenes* hariç diğer patojenler üzerine oldukça etkili olduğu, tüm izolatların en fazla *V.parahaemolyticus* olmak üzere *E.coli*, *E.coli* O157:H7, *S.Enteritidis* üzerinde antibakteriyal etki gösterdiği görülmüştür. İzolatların, Amoxicilline (AML), Ampicillin (AMP) antibiyotiğine karşı duyarlı olduğu, Streptomycine(S) antibiyotiğine karşı direnç gösterdikleri tespit edilmiştir. %0,30 safra tuzuna karşı dayanıklılıkları 4 saat sonrasında canlılık oranı 102%-110% arasında, 24 saat sonrasında 87%-121,6% arasında olduğu tespit edilmiştir. Hidrofobisite değerleri en yüksek izolatlar *L.plantarum*, *L.pentosus*, *L.fermentum*, *L.brevis* olduğu belirlenirken, 24 saatlik inkübasyon sonunda ortamın pH ları 3,78 ile 5,76 arasında değişmiştir. İzolatların hiçbirinin hidrojen sülfür üretmediği, 1,21-5,92 µg/mL arasında hidrojen peroksit ürettiği, sadece *L.plantarum* hariç diasetil üretmedikleri tespit edilmiştir. Tüm izolatların 4°C-45°C arasında gelişirken, *L.plantarum*, *L.pentosus*, *L.fermentum*, *L.brevis* izolatlarının 2-9,6 pH da ve %2- %10 NaCl varlığında geliştiği, *Ln.lactis* izolatının ise %15 alkol oranında dahi canlılığını sürdürdüğü belirlenirken izolatların, düşük pH, yüksek safra tuzu ve NaCl konsantrasyonlarını tolere edebildiği görülmüştür. Otoliz özelliği en yüksek izolat *L.brevis* olarak belirlenirken, izolatların EPS üretim miktarları 1,78-5,75 mg/L arasında değişmiştir. İzolatlardan bazılarının probiyotik özelliğe sahip olduğu belirlenmiş olup gıdalarda kullanılma potansiyelinin olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Laktik asit bakterisi, EPS, Safraya dayanıklılık, antibakteriyal, antibiyotik

2021, 117 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

SOME TECHNOLOGICAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF LACTIC ACID

BACTERIA ISOLATED FROM BOZA

Merve BOZDEMİR

Tekirdağ Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering

Supervisor: Prof.Dr. Tuncay GÜMÜŞ

In this research, *Limosilactobacillus fermentum* (M3F), *Levilactobacillus brevis* (M18F), *Leuconostoc citreum* (M26F), *Lactobacillus pentosus* (M7F), *Lactiplantibacillus plantarum* (M15F), *Leuconostoc lactis* (M31F), *Lactococcus lactis* (M2F), and *Lacticaseibacillus paracasei* (M32F) isolated from 5 different Boza traditionally produced in Velimeşe Town of Thrace Region and identified by PCR method, were examined to determine their some technological and functional properties. Antibacterial activity, antibiotic resistance, bile salt resistance, hydrophobicity, acid, hydrogen sulfide, hydrogen peroxide, diacetyl production abilities of isolates were analyzed. In addition, the growth, autolysis, and Exopolysaccharide (EPS) production properties of isolates were investigated at different temperatures, % NaCl, pH, and alcohol levels. While *L. pentosus* indicated antibacterial activity on all pathogenic test bacteria [*Staphylococcus aureus* (ATCC 2393), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 33150), *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076), *Vibrio parahaemolyticus* (ATCC 17802), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644)], it was determined that *L. plantarum* was also efficient on pathogens except *L. monocytogenes*. All isolates exhibited an antibacterial activity on *E. coli*, *E. coli* O157: H7, *S. Enteritidis*, and all isolates were most effective on *V. parahaemolyticus*. It was detected that all isolates were sensitive to Amoxicilline (AML), Ampicillin (AMP) antibiotic, and resistant to Streptomycin (S) antibiotic. Their resistance to 0,30% bile salt was stated to be between 102% -110% after 4 hours and 87% -121,6% of viability rate after 24 hours. Isolates with the highest hydrophobicity values were specified as *L. plantarum*, *L. pentosus*, *L. fermentum*, and *L. brevis*. The pH values of the isolates were established between 3.78 and 5.76 after 24 hours of incubation. It was presented that none of the isolates produced hydrogen sulfide, but hydrogen peroxide at the level between 1.21-5.92 µg / mL. Of the isolates, only *L. plantarum* produced diacetyl. It was detected that all isolates developed between 4°C-45°C, and *L. plantarum*, *L. pentosus*, *L. fermentum*, *L. brevis* developed at pH 2-9.6 and in the presence of 2-10% NaCl. While *Ln. lactis* was found to grow even at the rate of 15% alcohol, *L. brevis* had the highest autolysis property. EPS production amounts of the isolates varied between 1.78-5,75 mg/L. It has been determined that some of the isolates have probiotic properties and it has been concluded that they have potential for use in foods.

Keywords: Lactic acid bacteria, EPS, bile salt, antibacterial, antibiotic

2021, 117 pages

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR	vii
TEŞEKKÜR	viii
1. GİRİŞ	9
2. LİTERATÜR ÖZETİ	11
2.1. LAB'lerin Genel Özellikleri	11
2.2. LAB'lerin Endüstriyel Önemi	12
2.3. LAB'lerin Probiyotik Özellikleri.....	13
2.4. LAB'lerin Metabolitleri	14
2.4.1. LAB'lerin Ürettiği Organik Asitler	15
2.4.2. Bakteriyosin.....	16
2.4.3. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂).....	16
2.4.4. Diasetil.....	17
2.4.5. Hidrojen Sülfür (H ₂ S).....	18
2.4.6. Ekzopolisakkarit (EPS).....	18
2.4.7. Diğer Metabolitler	21
2.5. LAB'lerin Sağlık Üzerine Etkileri.....	21
3. MATERYAL VE YÖNTEM	23
3.1. MATERYAL:	23
3.2. METOD	24
3.2.1.1. İzolatların asit üretme yeteneklerinin belirlenmesi.....	24
3.2.1.2. İzolatların hidrojen sülfür (H ₂ S) üretme yeteneklerinin test edilmesi	24
3.2.1.3. İzolatların hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) üretme yeteneklerinin belirlenmesi	24
3.2.1.4. İzolatların antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesi	25
3.2.1.5. İzolatların antibiyotiklere direncinin belirlenmesi.....	25
3.2.1.6. İzolatların optimum gelişme sıcaklıklarının belirlenmesi.....	26
3.2.1.7. İzolatların farklı NaCl konsantrasyonunda gelişiminin belirlenmesi	26
3.2.1.8. İzolatların farklı pH da gelişiminin belirlenmesi	26
3.2.1.9. İzolatların otoliz özelliğinin belirlenmesi	26

3.2.1.10.	İzolatların diasetil üretiminin belirlenmesi	27
3.2.1.11.	İzolatların alkole dayanıklılığının belirlenmesi.....	27
3.2.1.12.	İzolatların safra tuzuna dayanıklılığının belirlenmesi.....	27
3.2.1.13.	İzolatların hidrofobisite yeteneklerinin belirlenmesi	28
3.2.1.14.	İzolatların EPS üretiminin belirlenmesi	28
3.2.1.15.	Fourier Dönüşümlü Kıızıl Ötesi Spektrometresi (FTIR) ile EPS' lerin Konformasyonel Özelliklerin Belirlenmesi.....	29
3.2.1.16.	Laktik Asit Bakterileri izolatlarının Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Mikroyapısal Özelliklerin Belirlenmesi	29
3.2.1.17.	İstatiksel Analiz.....	29
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	30
4.1.	LAB izolatlarının Asit Üretme Yetenekleri.....	30
4.2.	LAB izolatlarının Hidrojen sülfür (H ₂ S) üretme yeteneklerini	32
4.3.	LAB izolatlarının hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) üretme yetenekleri.....	34
4.4.	LAB izolatlarının antibakteriyel aktiviteleri.....	36
4.5.	LAB izolatlarının antibiyotiklere karşı direnci.....	41
4.6.	LAB izolatlarının optimum gelişme sıcaklıkları	45
4.7.	LAB izolatlarının farklı NaCl konsantrasyonunda Gelişimi	48
4.8.	LAB izolatlarının farklı pH değerlerinde gelişimi.....	51
4.9.	LAB izolatlarının otoliz özelliği	53
4.10.	LAB izolatlarının diasetil üretimi	55
4.11.	LAB izolatlarının alkole dayanıklılığı	56
4.12.	LAB izolatlarının safra tuzuna dayanıklılığı	57
4.13.	LAB izolatlarının hidrofobisite yetenekleri.....	61
4.14.	LAB izolatlarının EPS üretimi.....	64
4.14.1.	Fourier Dönüşümlü Kıızıl Ötesi Spektrometresi (FTIR) ile EPS'lerin Konformasyonel Özellikleri.....	67
4.14.2.	EPS örneklerinin SEM Görüntüleri.....	74
5.	SONUÇ ve ÖNERİLER	76
	KAYNAKLAR.....	81
	ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 4. 1. LAB izolatlarının moleküler karakterizasyonu	30
Çizelge 4. 2. LAB İzolatlarının Hidrojen Peroksit Üretimi	34
Çizelge 4. 3. LAB İzolatlarının Antimikrobiyal Aktivitesi (Ømm).....	37
Çizelge 4. 4. LAB izolatlarının Antibiyotik Direnci	42
Çizelge 4. 5. LAB İzolatlarının Gelişme Sıcaklıkları (°C)	46
Çizelge 4. 6. LAB İzolatlarının Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Gelişimi	48
Çizelge 4. 7. LAB İzolatlarının farklı pH değerlerinde gelişimi.....	51
Çizelge 4. 8. LAB İzolatlarının Otoliz Özelliği	53
Çizelge 4. 9. LAB İzolatlarının Diasetil Üretim Sonuçları	55
Çizelge 4. 10. LAB izolatlarının Alkole Dayanıklılığı	57
Çizelge 4. 11. LAB İzolatlarının Safra Tuzuna Dayanıklılığı.....	58
Çizelge 4. 12. LAB İzolatlarının Hidrofobisite Özellikleri.....	62
Çizelge 4. 13. LAB İzolatlarının EPS Üretim Sonuçları.....	64
Çizelge 4. 14. EPS örneklerinin FTIR spektrumlarında tanımlanan pik bölgeleri ve olası kimyasal işaretler.....	69

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 4. 1. LAB izolatlarının inkübasyon süresince besin ortamındaki pH değerindeki değişimi	31
Şekil 4. 2. <i>S. Enteritidis</i> ve LAB izolatlarının H ₂ S üretimi	33
Şekil 4. 3. Farklı oranlarda Hidrojen peroksit içeren çözeltilerin standart kurve grafiği	35
Şekil 4. 4. <i>L. pentosus</i> M7F bakterisinin sırasıyla <i>E.coli</i> (ATCC 25922), <i>V.parahaemolyticus</i> (ATCC 17802), <i>L.monocytogenes</i> (ATCC 7644) patojenlerine antimikrobiyal etkisi	39
Şekil 4. 5. <i>L. pentosus</i> M7F bakterisinin sırasıyla <i>E.coli</i> O157:H7 (ATCC 33150), <i>S.aureus</i> (ATCC 2392), <i>S.Enteritidis</i> (ATCC 13076) patojenlerine antimikrobiyal etkisi.....	39
Şekil 4. 6. <i>Lc.lactis</i> bakterisinin sırasıyla Cefixime(CFM), Tetracycline(TE), Amoxicilline (AML), Ampicillin(AMP), Streptomycine(S) antibiyotiklerine direnci.....	43
Şekil 4. 7. <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> (M15F)' in Diasetil Üretimi	55
Şekil 4. 8. EPS örneklerinin kurutulduktan sonra toz halleri	67
Şekil 4. 9. EPS'lerin Fourier Dönüşümlü Kıızıl Ötesi Spektrometresi (FTIR) Spektrumları (birleştirilmiş).....	70
Şekil 4. 10. EPS'lerin Fourier Dönüşümlü Kıızıl Ötesi Spektrometresi (FTIR) Spektrumları(Ayrıntılı)	71
Şekil 4. 11. EPS'lerin Fourier Dönüşümlü Kıızıl Ötesi Spektrometresi (FTIR) Spektrumları(Ayrıntılı)	72
Şekil 4. 12. LAB izolatlarının ürettiği EPS'lerin SEM Görüntüleri.....	75

SİMGELER VE KISALTMALAR

LAB	: Laktik Asit Bakterisi
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Ajansı
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
QPS	: Nitelikli Güvenlik Varsayımı
EPS	: Ekzopolisakkarit
GRAS	: Güvenilir Zararsız Kabul Edilen
NCI	: National Cancer Institute – Ulusal Kanser Enstitüsü
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
HePS	: Heteropolisakkarit
HoPs	: Homopolisakkarit
GIT	: Gastrointestinal Sistem
L	: Litre
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
µg	: Mikrogram
NaOH	: Sodyum Hidroksit
NaCl	: Sodyum Klorür

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen, her zaman tecrübelerini ve bilgisini paylaşan, birlikte çalışmaktan onur duyduğum danışman hocam Prof. Dr. Tuncay GÜMÜŞ'e teşekkürü bir borç bilirim. Labaratuarda hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve özverisiyle bu süreci benim için daha verimli kılan hocam Arş. Gör. Dr. Deniz Damla ALTAN KAMER'e çok teşekkür ederim.

Hayatımın her alanında daima beni destekleyen sevgisini ilgisini her an hissettiğim bana yaslanacak bir omuz ve arkamda bir dağ olarak hep orada olacağını bildiğim canım babam Cavit BOZDEMİR ve canım annem Gülden BOZDEMİR'e, bu süreçte ve hayatımın her alanında birlikte gülüp birlikte ağladığımız 4 kız kardeşim Şeküre, Şevval, Zeynep, Sueda BOZDEMİR'e, bu süreçte motivasyonumu hep yüksek tutan Yusuf KOÇYİĞİT'e çok teşekkür ederim.

Haziran, 2021

Merve BOZDEMİR
Gıda Mühendisliği

1. GİRİŞ

Fermente yiyecek ve içecekler, modern toplumlarda en çok kullanılan gıdalardan biri haline gelmiştir. Daha güvenli, sentetik kimyasallardan arınmış, aynı zamanda besleyici, taze, yüksek kaliteli gıda ve içeceklerin taleplerini karşılamak için yeni fermentasyon teknikleri geliştirilmeye devam edilmektedir. Çeşitli fermente gıda ürünleri yaygın olarak kullanılmakla birlikte dünya çapındaki kültürel çeşitlilik ve tüketicilerin tercihi nedeniyle bölgelere göre farklılıklar göstermektedir. Fermente gıda ürünlerinin ana segmentleri arasında; süt ürünleri, bira, şarap, alkollü içkiler, fermente balıklar, et ve sebzeler bulunmaktadır. Son zamanlar da hem probiyotik organizma kaynağı hem de sağlığı geliştiren bileşikler içermesi nedeniyle, çeşitli geleneksel fermente gıda ürünlerinin araştırılmasına önem verilmektedir. Süt ve süt ürünleri dünya çapında altı milyar kişi tarafından tüketildiği için, fermente gıdaların segmentleri arasında en yüksek paya sahip süt ürünleri, Asya ve Afrika'da diyet protein arzının %6-7'sini, Avrupa'da ise %19'unu sağlamaktadır. (Mishra, Ray, Panda ve Montet, 2017; Das, Paramithiotis, Sivamaruthi, Wijaya, Sahurta, Şanlıer vd., 2020) Ayrıca Küresel probiyotik talebinin 2022 yılına kadar 83,5 milyar dolara yükselmesi beklenmektedir (TMC, 2017).

Yiyecekleri ve içecekleri fermente etmek için en yaygın olarak kullanılan mikroorganizmalar laktik asit bakterileridir (Mota de Carvalho, Costa, Silva, Pimental, Fernandes ve Fintado, 2018). Laktik Asit Bakterileri (LAB), ilk olarak süttten izole edilmiştir (Sandine, Daly, Elliker ve Vedamuthu, 1972). Bu konuda yapılan araştırmalar ilerledikçe et ve süt ürünleri gibi fermente gıdalarda, sebzelerde, içeceklerde ve fırıncılık ürünlerinde bu bakterilerin sıklıkla bulunduğu ortaya konmuştur. Ayrıca insan ve hayvanların sindirim sistemi florasında da LAB'a yaygın olarak rastlanmaktadır. (Carr, Geman, Moden ve Yor, 2002; Van Hoorde, Verstraete, Vandamme ve Huys, 2008). LAB beslenme ve sağlık alanındaki faydaları ile fermentatif özelliklerinden dolayı endüstriyel öneme sahip mikroorganizmalar olarak bilinmektedir (Simsek, Savas, Akkiz ve Telatar, 1996). Fermente gıdaların yaşlanma karşıtı (anti-aging) potansiyeli ile ilgili son on yılda umut verici sonuçlar elde edilmiştir (Das vd., 2020).

Tipik LAB, asit dirençli olan ve karbonhidrat fermantasyonunun ana son ürünü olarak laktik asit üreten, aerotolerant koklara veya çubuklara anaerobik olan, Gram pozitif, gözenek oluşturmeyen, katalaz negatif, sitokrom içermeyen bakterilerdir (Teneva-Angelova, Hristova, Pavlov ve Beshkova, 2018).

Günümüzde sayıları gittikçe artmakla birlikte probiyotik mikroorganizmalar grubu içerisinde en büyük alanı LAB kaplamaktadır. LAB'lerin çoğu; insan, hayvan ve bitkinin olduğu doğal ortamlarda bulunan, bu ortamlardan izole edilebilen, biyoteknolojik çalışmalarda ve endüstriyel birçok alanda kullanılan, insan beslenmesinde ve sağlığında oldukça önemli mikrobiyal ajanlardır (Alan ve Dığrak, 2012). LAB gıda teknolojisinde çok önemli bir role sahiptir. Bunlar özellikle yoğurt, kefir, kıımız gibi fermente süt ürünleri, sauerkraut, salatalık turşusu ve salamura yeşil zeytin gibi fermente bitkisel ürünler, ekmek, boza, tarhana ve oği gibi tahıl ürünleri ve bunun yanında şarap, sucuk, balık sosu gibi pek çok gıdanın üretimi, olgunlaştırılması, organoleptik, reolojik ve besinsel değerin artmasında ve dayanıklılığının sağlanmasında kullanılırlar (Kılıç, 2008; Tangüler, Erten ve Cabaroğlu, 2010).

Fermente ürünlerden biri olan boza Türk Standartları Enstitüsü'nce (TS 9778), “yabancı maddelerinden temizlenmiş darı, pirinç, buğday, bulgur, mısır vb. hububatın kırma veya unlarından biri veya birkaçının, içme suyu katılarak pişirilmesi ve beyaz şeker ilave edilerek tekniğine uygun olarak alkol ve laktik asit fermantasyonlarına tabi tutulması ile hazırlanan bir mamuldür” şeklinde tanımlanmaktadır (Anonim, 1992). Boza içerdiği yağ, protein, karbonhidrat, lif, vitamin, aminoasit ve laktik asitten dolayı duyuşal özellikleri iyi sağlıklı ve besleyici bir içecektir (Arıcı ve Dağlıoğlu, 2002). Türkiye'de boza endüstriyel üretimi sınırlı olmakla birlikte daha ziyade küçük aile tipi işletmeler ve doğrudan ev halkının tüketimine yönelik olarak aileler tarafından yapılmaktadır. Bu sebepten dolayı boza ile ilgili istatistiksel veriler sınırlıdır. Boza, Trakya Bölgesi'nin genelinde oldukça çok üretilen ve tüketilen bir kış içeceğidir. Soğuk kış günlerinde etkili bir koruyucu ve enerji verici olarak tüketilmektedir. Tekirdağ Ergene ilçesine bağlı Velimeşe Beldesi, geleneksel yöntemlerle starter kültür kullanmadan üretiminin yapıldığı boza ile ün yapmış bir beldedir.

Bu çalışmada; Velimeşe'de üretilmiş geleneksel bir içecek olan bozadan izole edilmiş ve PZR yöntemi ile tanımlanmış LAB izolatlarının bazı teknolojik ve fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Teknolojik ve fonksiyonel özellikleri üstün olan izolatların çeşitli fermente ürünlerde starter kültür olarak kullanılma potansiyeli bulunmaktadır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. LAB'lerin Genel Özellikleri

LAB gıdaların korunmasında kullanılan insanlar tarafından bilinen en eski yöntemlerden biri olup farklı gıdaların fermantasyonu için kullanılan bakterilerdir. LAB kullanımı, M.Ö 1500 yılına dayanan süt ürünleri ve et ürünleri, M.Ö. 3000'e kadar olan bitkilerde fermantasyon ile LAB kullanımı MÖ 6000 yılına kadar uzanmaktadır. LAB, bitkiler, fermente gıdalar ve insan vücudunun mukozal yüzeyleri gibi herhangi bir ekosistem ve üründe bulunabilen yaygın mikroorganizmalardır (Teneva-Angelova, Hristova, Pavlov ve Beslnkova, 2018).

LAB gurubu Firmicutes filumuna ait Gram pozitif basil ve koklardan oluşan çeşitli bakteri grubunu kapsamaktadır. LAB fakültatif anaerob veya mikroaerofilik mikroorganizmalardır. Katalaz negatif, spor oluşturmeyen (*Sporolactobacillus inulinus* dışında) sitokromdan yoksun ve hareketsiz (bir iki ayrıcalık gösteren üye dışında) olan bu grubun önemli cinsleri arasında *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Melissococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weisella* yer almaktadır (Eryılmaz, 2011; Dinçer, Kıvanç ve Karaca, 2009).

LAB, karbonhidrat metabolizması ve fermantasyon ürünleri temelinde homofermentatif ve heterofermentatif türler olarak sınıflandırılabilir (Gaenzle, 2015). Homofermentatif LAB, Embden-Meyerhof Parnas (EMB) yolu aracılığıyla heksozları metabolize eder, ana ürün olarak laktat üretir (>%90) ve NADH'ye bağlı laktat dehidrojenaz aktivitesi yoluyla NAD⁺ 'ı yeniler. Heterofermentatif türler, bunun yerine hem heksozları hem de pentozları fosfoketolaz (PK) yoluyla metabolize ederek NADH/NAD⁺ dengesine bağlı olarak farklı son ürünlere (yani CO₂, laktat ve asetat veya etanol) yol açar (Zotta, Ricciardi, Oanniello, Starti, Glibota ve Parente, 2018).

LAB Gram pozitif bakteriler arasında düşük düzeyde Guanin ve Sitozin (G+C) oranına sahip olan bir bakteri grubudur ve bu grup içinde yer alan bakterilerin genom büyüklükleri genel olarak 1,8-3,4 Mbp (mega base pairs) arasında değişmektedir (Yılmaz ve Temiz, 2003). LAB, süt ve süt ürünlerinde, bitki ve bitki atıklarında, insan ve diğer canlıların sindirim

sistemlerinde rastlanabilen fakat su ve toprakta hemen hemen hiç rastlanılmayan bir bakteri grubudur (Yüksekdağ ve Beyatlı, 2009).

2.2. LAB'lerin Endüstriyel Önemi

Mikroorganizmaların ve/veya doğal ürünlerinin gıdaların korunması için ampirik kullanımı (biyo-koruma) insanlık tarihinde yaygın bir uygulamadır (Ross, Morgan ve Hill, 2002). Fermentasyon, gıda maddelerinin korunması ve biyo dönüşümü için çeşitli yararlı mikroorganizmaların büyüme ve metabolik faaliyetlerini kullanan geleneksel bir teknolojidir (Terefe, 2016). Bu süreç aynı zamanda nihai ürünün mikrobiyal stabilitesini ve güvenliğini artırmakta, çabuk bozulan hammaddelerin raf ömrünü uzatmakta, mineral biyoyararlanımını, protein ve karbonhidratların sindirilebilirliğini ve ayrıca ürünün organoleptik özelliklerini iyileştirmektedir (Nout, 2014; Tamang, Shin, Jung ve Chae, 2016).

Günümüzde biyolojik koruma, gıda ürünlerinin kimyasal koruma yöntemlerine kıyasla güvenliğini artırmak için alternatif bir yaklaşımdır. Biyo-koruma, istenmeyen mikroorganizmaların çoğalmasını önlemek için gıda matrislerinde yararlı mikroorganizmaların kullanıldığı bir terimdir. Probiyotiklerin fırsatçı mikroorganizmaların gelişmesini kontrol etmesini sağlayan kesin yollar hala belirsiz olsa da organik asitler, bakteriyosinler ve hidrojen peroksit gibi maddelerin üretimi en çok önerilen mekanizmalardır (Iglesias, Vinas, Glas-Meda, Collazo, Serrano, Abadis, 2017).

Gıdaların korunmasında LAB, bir dizi antimikrobiyal madde (organik asitler, diasetil, asetoin, hidrojen peroksit, reuterin, reuterisiklin, antifungal peptitler ve bakteriyosinler gibi) üretirler (Holzapfel, Geisen ve Schillinger, 1995; El-Ziney, 2000; Holtzel, Ganzle, Nicholsan, Hammes and Jung, 2000, Magnusson ve Schnürer, 2001). LAB, laktozu laktik aside dönüştürerek ve diğer organik asitler, diasetil, asetoin, hidrojen peroksit, antifungal peptitler ve bakteriyosinler gibi ek antimikrobiyal moleküller üreterek uzun süredir çeşitli gıda fermentasyonlarında kullanılmaktadır (Egan, Field, Ria, Ross, Hill and Cotter, 2016). Geleneksel fermente ürünlerdeki yaygın kullanımlarının bir sonucu olarak, LAB'nin çoğu Amerikan Gıda ve İlaç Ajansı (FDA) tarafından verilen Güvenli (GRAS) olarak kabul edilir. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) ayrıca *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve bazı *Streptococcus* gibi LAB türlerinin çoğuna, Nitelikli Güvenlik Varsayımı (QPS) statüsü vermiştir (EFSA, 2007).

Karbonhidratın LAB tarafından laktik aside dönüştürülmesi, gıda endüstrisindeki en önemli fermentasyon olarak kabul edilebilir. Fermente gıdaların (örneğin süt ürünleri, et ve sebzeler) karakteristik aroması, tadı ve dokusu genellikle bu bakterilerin gelişmesinden kaynaklanır. (Habibi ve Lee 2007; Hayaloglu, Guven ve Fox, 2002; Wada, Noda, Kashiwabora, Jeon, Shirakawa, Yabu ve Sugiyoma, 2009).

LAB, çeşitli gıda fermentasyon işlemlerinde starter kültür olarak kullanılan ticari olarak önemli mikroorganizmalardır. Geleneksel spontane gıda fermentasyonundaki geleneksel uygulamaları, farklı süt ürünleri, et ve daha karmaşık gıda fermentasyonları için geliştirilen iyi kontrol edilen tanımlanmış bu kültürler yüzyıllar boyunca genişletilmiştir. Örneğin, peynir starter kültürlerinin üretimi yılda $1,5 \times 10^6$ tonu aşmıştır. Ayrıca, LAB, diğer organik bileşiklerin kimyasal ve biyolojik üretimi için bir substrat olarak laktik asit de dahil olmak üzere çeşitli metabolitlerin üretimi için propiyonik asit, akrilik asit, asetik asit, propilen glikol, etanol, asetaldehit, lezzet bileşikleri, (örn., diasetil, asetoin), asetaldehit, asetik asit, ekzopolisakkaritler (EPS) ve B vitaminleri gibi birçok biyoteknolojik işlemde ve endüstriyel uygulamada kullanılmaktadır (Teusink ve Smid, 2006).

2.3. LAB'lerin Probiyotik Özellikleri

Probiyotikler genellikle “yeterli miktarlarda uygulandığında tüketicinin sağlığına fayda sağlayabilen canlı mikroorganizmalar” olarak tanımlanır (FAO/WHO, 2006). Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar, çok düşük bir enfeksiyon olasılığı ile karakterize edilen GRAS (genellikle güvenli olarak kabul edilir) olarak sınıflandırılır. Bu mikroorganizmalar midenin asidik koşullarına ve ince bağırsakta bulunan yüksek safra asit konsantrasyonuna dayanabilmelidir (Nagpal, Kumar, Kumar, Behore, Jain ve Yedav, 2012).

Probiyotiklerin, esas olarak LAB'lerin probiyotik suşlarının, fırsatçı bakterilerin gelişmesini inhibe ederek insan Gastrointestinal (GIT) mikrobiyotasını modüle edebildiği gösterilmiştir (Lau ve Chye, 2018; Liévin-Le Moal, 2016). Bu nedenle, GIT'deki probiyotik suşların gelişmesinin ve aktivitesinin uyarılması, gıda kaynaklı enterik patojenleri kontrol etmek için potansiyel bir yaklaşım olarak düşünülebilir (Peng ve Biswas, 2017).

Probiyotik suşların kombinasyonu, bağırsak duvarına ek bağlantılardaki artıştan dolayı patojenlerin inhibisyonunu artırabilir. Probiyotiklerin inhibisyon kapasitesi, epitelyuma yapışma yeteneklerini güçlü bir şekilde geliştirir. Bununla birlikte, çok sayıda suşa özgü mekanizma bulunduğundan, yapışma ve inhibisyon kapasitesi arasında belirli bir korelasyon

yoktur (Singh, Kaur, Kapila ve Malik, 2017). Örneğin hem probiyotik hem de konakçı hücrelerin yüzeyinin hidrofobikliği veya elektron bağıışı gibi fizikokimyasal özelliklerin, probiyotik bakterilerin epitelyuma yapışma kapasitesi üzerinde büyük bir etkisi olduğu bulunmuştur (Jia, Zhang, Pong, Gu, Abdelozoz, Liang, vd., 2017).

Probiyotik olarak kullanılan çoğu bakteri, *Lactobacillus* ve *Enterococcus* cinsine ait LAB türleridir; yani *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. casei*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. helveticus*, *L. lactis*, *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. plantarum*, *E. faecalis* ve *E. faecium* (Mulaw, Sisay Tessema, Muleta ve Tesfaye, 2019).

Probiyotik potansiyeli belirlemenin ilk adımı *in vitro* testlerdir (Vieira, Jatoba, Mourino, Vierra, Soares ve Silva, 2013). Bağırsak yolunu kolonize etme yeteneği, probiyotik bakterilerin temel özelliğidir (Balcázar, De Blas, Ruiz-Zarzuola, Cunningham, Vendrell ve Múzquiz, 2006). Bu nedenle, pH, NaCl ve safra tuzlarına direnç gibi spesifik *in vitro* testler, yeterli probiyotik seçimine yardımcı olacaktır (Vieira vd., 2013).

2.4. LAB'lerin Metabolitleri

LAB, diğer mikroorganizmalara karşı inhibitör olan metabolitleri üretmesi nedeniyle belirli yiyecek ve içeceklerde bir koruma işlemi olarak laktik fermentasyon üzerine çalışmalar yoğunlaşmaktadır. Fermente gıdalar, yoğurt ve ekşi hamur ekmeği ve son zamanlarda kırmızı şarabın sağlıklı ve doğal maddeler olarak tüketiciler arasında olumlu bir imaja sahip olduğu bildirilmiştir. Fermentasyon sırasında üretilen inhibitör mikrobik metabolitler arasında laktik ve asetik asitler, etanol, hidrojen peroksit ve bakteriyosidal proteinler (bakteriyosinler) bulunmaktadır (Daeschel, 1993). LAB, organik asitler (laktik asit, asetik asit, formik asit, fenilaktik asit, kaproik asit), karbon dioksit, hidrojen peroksit, diasetil, etanol, bakteriyosinler, reuterin ve reuterisiklin dahil olmak üzere birçok doğal antimikrobiyal madde üretmektedirler. Örneğin asetik asit, aromaya katkıda bulunmasına ilaveten ekşi mayada küf kaynaklı bozulmaları da önlemektedir (Messens ve Vuyst, 2002). Günümüzde bakteriyosin üreten LAB, süt ürünlerinde, sebzelerde ve kalite ve gıda güvenliğini arttırmak için kullanılan ürünlerde yaygın olarak starter kültür olarak kullanılmaktadır (Silva, Silva ve Ribeiro, 2018). Laktik fermentasyonlar sırasında LAB, organik asitler, diasetil, hidrojen peroksit ve bakteriyosinler veya bakteriyosidal proteinler gibi çeşitli bileşikler üretmektedirler (Lindgren ve Dobrogosz, 1990). Bu LAB metabolik ürünleri, gıda tadı, kokusu, rengi ve dokusu üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir, ancak aynı zamanda raf ömrünü uzatmak ve patojenik mikroorganizmaların

gelişmesini engellemek gibi yararlı yan etkilere de sahip olabilmektedir (O'Bryan, Crandall, Ricke ve Ndahetuye, 2015). LAB'den proteolitik enzimler, kazein ve peptidlerin degradasyonunda önemli bir rol oynayarak serbest amino asitlerin üretimine yol açtığı bildirilmiştir. Serbest amino asitlerin katabolizması, aldehitler, asitler, alkoller, sülfür bileşikleri ve esterler gibi uçucu aroma bileşiklerin oluşmasına neden olmaktadır (Andiç, Tunçtürk ve Boran, 2015; Martinez, Palencia, Requena ve Peláez, 2001).

2.4.1. LAB'lerin Ürettiği Organik Asitler

Hem homo- hem de hetero-LAB fermantasyonunun son ürünleri olan laktik, asetik ve propiyonik asit gibi organik asitler birçok patojen ve bozulma etmeni bakterinin gelişmesini inhibe etmektedir. Organik asitlerin, hücre zarı potansiyelinin korunmasına müdahale etmesi, aktif taşınmayı inhibe etmesi, hücre içi pH'ı düşürmesi ve çeşitli metabolik fonksiyonları inhibe etmesi gibi birçok antimikrobiyal işlev gördüğü bilinmektedir (Ricke, 2003; Ross, Morgan ve Hill, 2002). *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus* ve *Bacillus* cinslerine ait suşların *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium difficile* karşı antimikrobiyal özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada seçilen suşların çoğunun patojenlere antagonistik etki gösteren aktif bileşikler üretebildiğini, laktik ve asetik asidin, bu inhibisyonun sorumlu olduğunu bildirilmişlerdir (Tejero-Sarinena, Barlow, Costabile, Gibzon and Rowland, 2012).

L. plantarum, laktik asit ve etanol veya asetik asit üretmek için karbonhidratları fermente eden fakültatif heterofermentatif bir bakteridir. Ürettiği organik asitler, ortamın pH'sını düşürmesi nedeniyle asidik koşullara duyarlı olan bakterilerin gelişmesini inhibe etmektedir. Düşük pH, organik asitleri yağda çözünür hale getirerek hücre zarından geçmelerine ve hedef mikroorganizmaların sitoplazmasına ulaşmalarına izin vermektedir (Haller, Colbus, Ganzle, Schronbacher, Bode ve Hammes, 2001). Bununla birlikte, mikroorganizmalar, laktik aside duyarlılıkları bakımından önemli ölçüde farklılık göstermektedir. PH 5,0'da laktik asit spor oluşturan bakterilere karşı inhibe edici aktivite göstermekle birlikte maya ve küflere karşı etkisiz olduğu bildirilmiştir (Amenu, 2013). *L. plantarum* suşları tarafından heterofermentatif yollarla üretilen asetik ve propiyonik asitler hücre membranları ile etkileşime girebilir ve hücre içi asitleşmeye ve protein denatürasyonuna neden olabilmektedir (Urga, Gashe, Fite ve Negatu 1992).

2.4.2. Bakteriyosin

Bakteriyosinler, LAB dahil olmak üzere çeşitli bakteriler tarafından üretilen ribozomal olarak sentezlenmiş antimikrobiyal peptidlerdir. Bazılarının gıdanın korunmasında büyük potansiyeli olması nedeniyle kimyasal koruyucuların eklenmesi ihtiyacını ortadan kaldırmaktadır. Dolayısıyla gıdanın işleme yoğunluğu azaltılması ve kimyasal koruyucu içermemesi nedeniyle yüksek kaliteli gıdalar üretme potansiyelini artırmaktadır (Perez, Zendo ve Sonomoto, 2014). Bakteriyosin etkinliğini garanti etmek için, kullanılmaları amaçlanan gıda türündeki belirli hedef mikroorganizmalara karşı test edilmelidir. Bakteriyosinlerin çoğu, sitoplazmik membranda geçirgenlik ve gözenek oluşumunu indükleyerek veya temel enzimlerle etkileşimlerle duyarlı bakterileri öldürmektedir (Wen, Philip ve Ajam, 2016). LAB tarafından üretilen, nisin gibi bazı bakteriyosinler sadece yakından ilişkili türleri inhibe etmekle kalmaz, aynı zamanda çok çeşitli gıda kaynaklı patojenlere ve diğer birçok Gram pozitif bozulma etmeni mikroorganizmalara karşı da etkilidir (Tagg, Dajani ve Wannamaker, 1976). Bakteriyosinler, gastrointestinal sistemin proteolitik enzimleri tarafından parçalandığı, toksik etki göstermediği ve antijenik olmadığı için, birçok gıda ürününün güvenliğini ve raf ömrünü iyileştirmek için kullanılabilirler (Amenu, 2013). Bazı LAB türleri bakteriyosinler gibi antimikrobiyal metabolitler üreterek ve patojenik ve enfeksiyon mikroorganizmalarının gelişmesini engelleyerek sindirim sisteminde hayati bir rol oynamaktadır (Castro, Palavicino, Herman, Garris ve Campas, 2011; Ghanbari, Jami, Kneifel ve Domig, 2013; Parada, Caron, Medeiros ve Soccol, 2007; Mahrous, Mohamed, Abd El-Mongy, El-Batal ve Hamza, 2013). Gıda uygulaması için bakteriyosinleri seçerken aşağıdaki kriterler dikkate alınmalıdır: Bakteriyosin üreten suş genel olarak güvenli olarak kabul edilmelidir; bakteriyosin: 1) gıda kaynaklı çeşitli patojenlere karşı geniş bir inhibisyon spektrumuna veya belirli bir gıda için spesifik belirli bir patojene karşı spesifikliğe sahiptir; 2) yüksek derecede ısı stabilitesine sahiptir; 3) güvenlik ve kalitenin artması gibi üründe faydalı etkileri bulunmaktadır; 4) yüksek spesifik aktiviteye sahiptir (O'Sullivan, Ross ve Hill 2002). Son yıllarda, LAB tarafından üretilen bakteriyosinler, genellikle güvenli (GRAS) olarak kabul edilen mikroorganizmalar arasında yer alması nedeniyle gıda biyo-koruyucuları olarak kabul edilmiştir (Leroy ve De Vuyst 2004; Molloy, Hill, Cotter ve Ross, 2011; Verma, Banerjee, Dwivedi ve Juneja, 2014).

2.4.3. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit, flavoprotein oksidazlar veya NADH peroksidazın etkisinin bir sonucu olarak oksijen varlığında LAB tarafından üretilmektedir. Hidrojen peroksitin

antimikrobiyal aktivitesi, sülfhidril gruplarının oksidasyonunun bir dizi enzimin denatürasyonuna neden olmasının ve membran lipidlerinin peroksidasyonunun artmış membran geçirgenliğine yol açmasının bir sonucu olduğu bildirilmektedir (Amenu, 2013; Kong ve Davison, 1980). Hidrojen peroksit, DNA'ya zarar verebilen süperoksit (O_2^-) ve hidroksil (OH^-) radikalleri gibi bakterisit serbest radikallerin üretiminin öncüsü olduğu (Byczkowski ve Gessner, 1988), bununla birlikte herhangi bir antifungal aktivite göstermediği bildirilmiştir (Gerez, Torres, De Valdez ve Rollán, 2013).

LAB gibi katalaz negatif bakterilerinin oluşturdukları hidrojen peroksit miktarı, LAB cins, tür ve hatta suşlarına göre farklılık göstermektedir (Çadircı, 2003; Kılıç, 2008). Birçok laktobasil ve streptokok türü bakteriler aerobik şartlar altında önemli miktarlarda H_2O_2 üretebilmektedir (Evren, Albayram ve Apan, 2006). Hidrojen peroksit, mikroorganizmaların enzimlerinin yapılarını bozarak inaktif olmasına sebep olmaktadır. H_2O_2 bakteriyal hücreler üzerinde güçlü oksitleyici özelliğinden dolayı etkili bir antimikrobiyal olduğu bildirilmiştir. Bakteri membranlarını bozmada etkin rol oynayan bu bileşiğe en duyarlı olan Gram negatif bakterileri olduğu, ayrıca in vitro deneylerle H_2O_2 üreten *Lactobacillus* türlerinin HIV'i de içeren çeşitli mikroorganizmaların gelişimini inhibe ettiği de bildirilmiştir (Jespers, Menten, Smet, Poradosu, Abdellati, Verhelst, vd., 2012; Kılıç, 2008; Yüksekdağ ve Beyatlı, 2003; Çon, Doğu ve Gökçalp, 2002).

Farklı *Lactobacillus* türleri, istenmeyen veya patojenik türleri etkileyebilecek H_2O_2 ve bakteriyosin benzeri maddeler üretmektedir (Lepargneur ve Rousseau, 2002). LAB, laktik asit, H_2O_2 veya bakteriyosinler gibi antagonistik maddelerin üretimi gibi mekanizmalarla patojen kolonizasyonunu önleyebilirler (Otero ve Nader-Macías, 2006). *L. bulgaris* ve *L. lactis*' in H_2O_2 üretimi katkısıyla *Staphylococcus aureus*' un gelişimini ve bazı laktobasillerin *Pseudomonas* türlerinin gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir (Dahiya ve Speck, 1968; Price ve Lee, 1970). Yapılan çalışmalarda, *S. aureus*'un laktik asit ve hidrojen peroksit ile muamelesi, her metabolitin patojen bakteri üzerine farklı türde bir morfolojik hasar verdiği ifade edilmiştir (Otero ve Nader-Macías, 2006).

2.4.4. Diasetil

Diasetil, piruvattan kaynaklanan asetolaktattan oksidatif bir reaksiyonda enzimatik olmayan bir şekilde oluşur. Piruvat, şekerlerden türetilebilen önemli bir metabolit olmasına rağmen, diasetil üretimi çoğunlukla sitrat metabolizması ile ilişkilidir. *Lactococcus lactis* subsp.

lactis biovar *diacetylactis*, *Leuconostoc spp.*, *Lacticaseibacillus paracasei* ve *Lactobacillus rhamnosus*, sitrattan diasetil üreten birkaç LAB türü arasındadır (Hugenholtz, Perdon ve Abee, 1993; Jyoti, Suresh ve Venkatesh, 2003) .

Diasetil, güçlü bir tereyağ aromasına sahip, polar olmayan, uçucu bir diketondur. Bu kimyasalın, diasetilinin arginin bağlayıcı protein ile reaksiyonu yoluyla arginin kullanımını etkisiz hale getirerek Gram negatif bakterilerin büyümesini inhibe ettiği bildirilmiştir (Jay, Rivers ve Boisvert, 1983). Diasetil'in bir antimikrobiyal olarak kullanılmasının bir başka pratik sınırlaması, kabul edilebilir duyuusal seviyelerin, etkili bir inhibitör olduğu gösterilenin çok altında olan sadece 2-7 mg/mL arasında olmasıdır (Cogan, 1980). Diğer antimikrobiyallerle sinerjik olarak kullanılan diasetil daha düşük seviyelerde kullanılabilir ve gıda sisteminin kombine olarak korunmasına katkıda bulunabilir (Yang, 2000).

2.4.5. Hidrojen Sülfür (H₂S)

Sülfatların bakteriler tarafından redüksiyonu ve proteinlerin parçalanması sonucunda hidrojen sülfür oluşmaktadır. Laktik asit bakterileri aracılığı ile besiyerindeki kükürtlü amino grup asitleri kullanarak hidrojen sülfür oluşturmaktadırlar. Bu amino grup asitler sistein, sistin ve metiyonindir. Bazı laktobasil suşlarının, anaerobik şartlar altında ve düşük sıcaklık derecelerinde hidrojen sülfür oluşturdukları ortaya konmuştur. Hidrojen sülfür çok etkili toksik bir maddedir (Yüksekdağ ve Beyatlı, 2003; Toksoy, 1993).

Bakterilerin besin ortamındaki kükürtlü amino asitleri kullanarak hidrojen sülfür oluşturdukları bildirilmiştir (Yüksekdağ ve Beyatlı, 2003; Toksoy, 1993). Toksoy, Beyatlı ve Aslım (1999) Hidrojen sülfür üretiminin sülfid redüktaz ve sistein desülfhidraz enzim aktivitesine bağlı olduğunu bundan dolayı bazı laktik asit bakterilerinin hidrojen sülfür üretmediğini bildirmişlerdir. Laktobasiller jelatini kullanmazlar. Kazeini de kullanmamalarına karşın az miktarda çözünmüş haldeki nitrojeni enerji zincirleri aracılığı ile kullanırlar. Bu işlem sonucunda indol ve H₂S oluşmaz (Şen, Toprak, Güneş ve Halkman, 2004).

2.4.6. Ekzopolisakkarit (EPS)

EPS, hücre dışı sentezlenen veya büyümesi sırasında mikroorganizmanın hücre içine salgılanan bir biyopolimer olup doğrusal moleküllerden oldukça dallı moleküllere ve monosakkarit bileşimine kadar dallanma derecesine göre değişiklik göstermektedir (Welman ve Maddox, 2003). Çoğu LAB, bir kapsül oluşturan dış hücre duvarına bağlı kalan veya çevreye

sümüksü veya kıvrımlı EPS şeklinde salınan hücre dışı polisakkaritleri (ekzopolisakkaritler, EPS) sentezlemektedir. Bu bakteriler, farklı bileşim, yapı, moleküler kütle ve konformasyona sahip çok çeşitli EPS üretmektedir. Çoğu LAB, genellikle d-galaktoz, d-glikoz ve l-ramnozdan oluşan Heteropolisakkarit (HePS)'yi sentezlemektedir. Bu polisakkaritler, hücre içi glikosiltransferazların aktivitesi ile şeker nükleotitlerinden üretilmektedir (Welman ve Maddox, 2003). Diğer LAB, sadece d-glikoz (ör. dekstran, reuteran ve mutan) veya d-fruktoz (ör. levan ve inulin) içeren homopolisakkarit (HoPS) üretmektedir (Monsan vd., 2001). Aynı monosakkaritlerden (örn. selüloz ve dekstran) ve farklı monosakkaritlerin (örn. ksantan) mevcut olması durumunda HePS oluştuğunda HoPS olarak alt gruplara ayrılabilirler ve bu nedenle büyük ölçüde yapısal çeşitlilik ile karakterize edilirler. (Hu, Fu, Liu, ve Lucia, 2015; Naseri-Nosar ve Ziora, 2018).

EPS'ler, süt ürünleri sektörlerinde çeşitli endüstriyel uygulamalar için araştırılan gelişmiş viskozite ve reoloji gibi benzersiz fiziksel özelliklere katkıda bulunmaktadır. Viskozite, sinerez ve duyusal özellikleri etkileyen EPS, raf ömrünü uzatmak ve lezzeti korumak için fermente gıdalarda LAB tarafından yaygın olarak üretilmektedir (Caggianiello, Kleerebezem ve Spano, 2016; Mende, Rohm ve Jaros, 2016). EPS'ler doğal fizyokimyasal ve biyolojik özelliklerine katkıda bulunmakla birlikte sağlık ürünlerinde veya terapötik tıpta katkı maddeleri için ve iltihaplanmayı ve hatta kanseri tedavi etmede yardımcı tedavide kullanılabilir çok sayıda işlevsel aktiviteyi de sağlamaktadır. Viskozite ve reoloji, patojenik bakteri inhibe edici, bağırsakta kolonizasyonu destekleyen probiyotikler ve bağırsak mikroflorası özelliğinin dengesini koruma gibi fizyolojik özellikleri sağlamaktadır (Bengoa, Llamas, Iraporda, Dueñas, Abraham ve Garrote, 2018). Ayrıca, kolesterol düşürücü özellikler, antioksidan, inflamasyonu düzenleyen, anti-tümör, anti-pıhtılaşma ve antivirüs aktiviteleri gibi bazı benzersiz biyolojik aktiviteler sergileme yeteneği de LAB türevi EPS'ler de yaygın olduğu bildirilmektedir (Zhou, Cui ve Qu, 2019).

LAB'den üretilen EPS'ler, diğer patojenlere yabancı biyomoleküller olarak sınıflandırılması nedeniyle hücre içine nüfuz etmelerine veya taşınmalarına izin verilmemektedir. LAB'den üretilen in vitro antimikrobiyal EPS'ler, patojenlerin yüzeyindeki biyofilm ile ilgili sinyal molekülleri veya glikokaliks reseptörleri ile birleşmeleri, hücre iletişimini bozmaları, biyofilm oluşumuna müdahale etmesi ve sonuç olarak antimikrobiyal etki göstermeleri nedeniyle patojenler üzerine etkilidir (Spanò, Laganà, Visalli, Maugeri ve Gugliandolo, 2016).

Kefir tanelerinden izole edilen EPS'nin, *in vivo* testlerde çok düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol konsantrasyonunu düşürmek için iyi kolesterol düşürücü özellikler olduğu bulunmuştur (Lim vd., 2017). Bazı LAB türevli EPS'ler, güçlü immünolojik reaksiyonlar gerçekleştirerek karakterize edilmektedir. Anti-enflamasyon ve anti-tümör ajanları gibi uygulamalar için geniş bir potansiyeli bulunmaktadır. Potansiyel klinik değerlerine her zaman çok dikkat edilmiş ve çok sayıda *in vitro* ve *in vivo* testte ilgili mekanizmaların derinlemesine anlaşılması sağlanmıştır. Hem HoPS'lerin hem de HePS'lerin immünolojik tepkilerin modüle edilmesiyle karakterize edildiği bildirilmiştir (Nácher-Vázquez vd., 2015)

LAB'den türetilen EPS'lerin anti-tümör aktivitesi, sadece dolaylı bağışıklığı düzenleyen değil, aynı zamanda tümör hücreleri üzerinde doğrudan öldürücü etkiye sahiptir (Pan, Liu, Zeng, Liu, Li ve Guo 2015). EPS potansiyel anti-virüs biyoaktivitesi, özellikle anti-İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (HIV) aktivitesi için yapılan araştırmalar, mevcut çalışmalarda kritik bir rol oynamaktadır. HIV ile enfekte olan insanlar bağışıklık yetmezliğinden dolayı patojenlerin ve virüslerin etkisine karşı edinilmiş immün yetmezlik sendromunu (AIDS) hafifletmek ve iyileştirmek için yeni doğal, sentetik ve kısmi sentetik ürünleri veya ajanları aramak, modern tıbbi tedavi için önemli ölçüde önemlidir. (Schaeffer ve Krylov, 2000; Tziveleka, Vagias ve Roussis, 2003; Wijesekara, Pangestuti ve Kim, 2011; Witvrouw ve De Clercq, 1997).

LAB ve diğer bakteriler tarafından üretilen EPS, ürünlerin reolojik özelliklerini ve dokularını değiştirmek için viskozite edici, stabilizatör, emülgatör veya jelleştirici olarak kullanılmaktadır. LAB'den elde edilen EPS, fermente sütün emülsifikasyonu, koyulaştırılması, sinerezin azaltılması ve sertliği gibi belirli özellikleri iyileştirmek için süt endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Ruas-Madiedo, Hugenholtz ve Zoon, 2002; Ale, Perezlindo, Pavón, Peralta, Costa, Sabbag vd., 2016). Gıda endüstrisinin bu biyo-kalınlaştırıcılar olarak adlandırılanlara artan ilgisi, özel yapım polisakkaritlere yönelik artan bir taleple sonuçlanmaktadır (Duboc ve Mollet, 2001).

LAB hem HoPS hem de HePS'leri çok çeşitli üretebildiğinden, EPS üretimiyle ilgili yabani LAB suşlarının biyolojik çeşitliliğinin araştırılması en uygun yaklaşım gibi görünmektedir (De Vuyst, Vin, Vaningelgem ve Degeest, 2001; Monsan, Bozonnet, Albenne, Joucla, Willemot ve Remaud-Siméon, 2001; Vaningelgem vd., 2004; Mozzi, Vaningelgem, Hébert, Van der Meulen, Moreno, Valdez ve De Vuyst, 2006).

2.4.7. Diğer Metabolitler

Hidroksi yağ asitleri; hedef organizmalarda hücrel membran yapısını değiştiren bileşiklerin deterjan benzeri özelliklerinden dolayı 3-hidroksi yağ asitlerinin antifungal aktiviteye sahip olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Sjögren, Magnusson, Broberg, Schnürer ve Kenne, 2003). LAB ile üretilen antimikrobiyal yağ asitleri ile ilgili çalışmalara göre, geniş bir antifungal aktivite spektrumuna sahiptirler (Sjögren vd., 2003; Dalié, Deschamps ve Richard-Forget, 2010).

Karbondioksit; esas olarak heterofermentatif LAB tarafından üretilmektedir. *L. plantarum* fakültatif heterofermentatif tür olduğundan, karbon kaynağına bağlı olarak heterofermentatif ve homofermentatif metabolizma yolları arasında geçiş yapabilmektedir (Kleerebezem, Boekhorst, van Kranenburg, Molenaar, Kuipers, vd., 2003). Karbondioksitin antimikrobiyal etkisinin kesin mekanizması hala tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte, karbondioksit, enzimatik dekarboksilasyonları engelleyen anaerobik bir ortam oluşturmada rol oynayabilir ve membran lipid çift tabakasında karbondioksit birikimi, geçirgenlik disfonksiyonunun olası bir nedeni olarak bildirilmektedir (Eklund, 1984).

2.5. LAB'lerin Sağlık Üzerine Etkileri

Gıda kaynaklı hastalıklar dünyadaki en kritik halk sağlığı sorunlarından biri olarak düşünülebilir (Dewey-Mattia, Manikonda, Chen, Kisselburgh, Pilewski, Sundararaman ve Crowe, 2015). Tıp, beslenme ve gıda bilimi ve teknolojisi alanındaki gelişmelere rağmen, gıda kaynaklı hastalık vakaları ve gıda kaynaklı patojenlerin neden olduğu salgınlar hala ciddi halk sağlığı ve ekonomik yüklerle neden olmaktadır (Hossain, Sadekuzzaman ve Ha, 2017). Bu bağlamda, probiyotiklerin GIT'de gıda kaynaklı patojenlere karşı farklı etki mekanizmaları vardır. Son araştırmalara göre, probiyotik suşların antimikrobiyal aktivitesi, laktik asitler, antimikrobiyal peptitler ve hidrojen peroksit gibi antimikrobiyal maddelerin üretilmesi veya serbest bırakılması ile ilişkilendirilebilir. Bakteriyosin benzeri inhibitör maddeler (BLIS), çeşitli gıda kaynaklı patojenlerin inhibisyonunda önemli bir rol oynayabilen doğal gıda biyo koruyucuları arasında bildirilmiştir (Martinez, Domínguez, Converti ve Oliveira, 2015).

Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak kabul edilmesi için bazı özelliklere sahip olması gerekir (Gülbandılar, Okur ve Dönmez, 2017; Teneva-Angelova vd., 2018).

*Düşük pH ve safra tuzu gibi ekstrem koşullardan etkilenmemeli,

- *Bağırsak mikroflorasına tutunabilmeli, ince bağırsakta kolonize olabilmeli,
- *Yan etki göstermeyip güvenli olmalı,
- *Patojen mikroorganizmalara karşı antagonistik etkiye sahip olmalı,
- *Antimikrobiyal maddeler üretebilmeli,
- *Konakçının sağlığı üzerine olumlu etki göstermeli,
- *Antibiyotik ajanlara karşı dirençli olmalı,
- *Probiyotik ürün üretiminde üretim ve depolama periyodu boyunca aktivitesini korumalı,
- *Probiyotik mikroorganizmalar patojenik olmamalı ve toksin üretmemelidir.

Yaygın olarak kullanılan probiyotik bakteriler; *Lactobacillus* türleri; *L.acidophilus*, *L.amylovorus*, *L.casei*, *L.crispatus*, *L.delburuckii* subsp. *bulgaricus*, *L.gallinarum*, *L.gasseri*, *L.johnsonii*, *L.plantarum*, *L.reuteri* ve *L.rhamnosus* iken *Bifidobacterium* türleri; *B.adolescentis*, *B.animalis*, *B.bifidum*, *B.breve*, *B.infantis*, *B.lactis*, *B.longum*, son olarak Diğer laktik asit bakterileri ise; *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus acidilactici*, *Sporolactabacillus inulinus*, *Streptococcus thermophilus*'dur (Mulaw vd., 2019; Teneva-Angelova vd., 2018).

Lactobacillus ve *Bifidobacterium*, antikor üretimini arttırdığı, makrofajları aktive ettiği, T hücrelerini ve interferonu çoğalttığı için bağışıklık tepkisinin uyarılması ile doğrudan ilişkilidir (Lim, Jeong, Jang, Han ve Kim, 2016).

LAB'nin ürettiği bakteriyosinler genellikle bir dizi pH değeri boyunca aktif oldukları, yüksek sıcaklıklara dayanıklı olduğu ve bazı gıda patojen ve bozulma etmeni bakterilere karşı aktif olduğu bildirilmiştir. LAB bakteriyosinleri pankreatin kompleksi, tripsin ve kimotripsin gibi sindirim proteazlarına duyarlı olduğu ve bu nedenle bağırsak mikrobiyotasına olumsuz etki etmediği bildirilmiştir (Egan vd., 2016).

Fermente gıdaların sağlığı geliştirici etkileri, fermantasyon sırasında gelişen mikrobiyotanın metabolik aktivitelerine bağlanmıştır. Çoğu zaman, sağlığı geliştiren çok ilginç özelliklere sahip mikrobiyal suşların izolasyonu rapor edilmektedir (Das vd., 2020).

Belirli fermente gıdaların tüketimi ile belirli sağlık yararları arasında ilişkiler kurulmuştur. Fermente süt ürünleri tüketimi ile tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve tüm nedenlere bağlı ölüm riski arasındaki ters ilişki olduğu bildirilmiştir (Goldbohm, Chorus,

Galindo Garre, Schouten ve van den Brandt, 2011; Sluijs, Forouhi, Beulens, Van Der Schouw, Agnoli, Arriola vd., 2012; Sonestedt, Wirfält, Wallström, Gullberg, Orho-Melander ve Hedblad, 2011). Ayrıca fermente kimchi'nin anti-diyabetik, anti-obezite ve anti-aging etkisi (An, Lee, Jeon, Ha, Kim, Yoon vd., 2013; Cui vd., 2015; Kim, Park, Kim, Ahn ve Cho, 2011) olduğu ifade edilmektedir.

LAB tüketiminin probiyotik olarak artan kabulü, kanseri baskılama (Hirayama ve Rafter, 2000) ve serum kolesterolünü düşürme (Guo, Kim, Nam, Park ve Kim, 2010); diyabete karşı aktiviteler (Panwar, Rashmi, Batish ve Grover, 2013), obezite (Aazmi, Teh, Ramasamy, Rahman ve Salleh, 2015), alerji (Lee, Kim, Han, Eom ve Paik, 2014) ve iltihaplanma (Lorea Baroja, Kirjavainen, Hekmat ve Reid, 2007); gastrointestinal sistemin (GIT) ve ürogenital patojenlerin azaltılması (de Vries, Vaughan, Kleerebezem ve de Vos, 2006); bağırsak mikrobiyotasını stabilize etme (Gibson, Saveedra, MacFarlane and MacFarlane, 1997), besinlerin kullanımını artırma (Guo vd., 2010) ve laktoz toleransı (Silanikove, Leitner ve Merin, 2015); sindirimi iyileştirme (Bokhorst, Veen, Bron ve Kleerebezem, 2015) ve bağışıklık sistemini uyarma (Isolauri, Sütas, Kankaanpää, Arvilommi ve Salminen, 2001) gibi özelliklerinden kaynaklanmaktadır. LAB suşları tarafından salgılanan ekzopolisakkaritler, üretim sırasında fermente süt dokusunu ve viskozitesini geliştirmek için kullanılabilir. Wisselink, Weusthuis, Eggink, Hugenholtz ve Grobber (2002) ayrıca bazı LAB suşlarının birçok sağlık yararı olan mannitol üretme kabiliyetinin olduğunu bildirmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. MATERYAL:

Araştırmada kullanılan LAB bir önceki çalışmamızda Velimeşe Belde'sinden alınan 5 farklı üreticiye ait Bozadan izole edilmiş, PZR yöntemi ile tanımlaması yapılmış, 16 rDNA sekansının BLAST testi Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir (Tortum, 2019). Seçilmiş olan bakteri izolatları *Limosilactobacillus fermentum* (M3F), *Levilactobacillus brevis* (M18F), *Leuconostoc citreum* (M26F), *Lactobacillus pentosus* (M7F), *Lactiplantibacillus plantarum* (M15F), *Leuconostoc lactis* (M31F), *Lactococcus lactis* (M2F), *Lacticaseibacillus paracasei* (M32F),'dir. İzolatlar -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

Antibakteriyel aktivite belirlemek için kullanılan test bakterileri *Staphylococcus aureus* (ATCC 2393), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Escherichia coli O157:H7* (ATCC 33150), *Salmonella Enteritidis* (ATCC 13076), *Vibrio parahaemolyticus* (ATCC 17802), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

Kullanılan antibiyotikler; Tetracycline, Cefixime, Amoxycillin, Ampicillin, Streptomycin (Oxoid) Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden temin edilmiştir.

3.2. METOD

3.2.1.1. İzolatların asit üretme yeteneklerinin belirlenmesi

İzolatların asit üretme yeteneklerini belirlemek için MRS (Oxoid) ve M17 (Oxoid) sıvı besiyeri bulunan tüplere izolatlardan ayrı ayrı inoküle edilerek ve 30°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresince 3., 6., 9., 24. ve 48. saatler sonunda kültürlerde pH ölçümleri yapılmıştır (Sağdıç, Arici ve Simşek, 2002).

3.2.1.2. İzolatların hidrojen sülfür (H₂S) üretme yeteneklerinin test edilmesi

İzolatların hidrojen sülfür üretme yeteneklerini belirlemek için, Triple Sugar Iron Agar yatkı besiyerine (Oxoid) öze ile aktif kültürden ekim yapıldıktan sonra 35°C'de 21 gün inkübe edilerek süre sonunda besiyerinin renginde siyahlaşma olup olmadığı gözlemlenmiştir. (Lee ve Simard, 1984; Toksoy vd., 1999).

3.2.1.3. İzolatların hidrojen peroksit (H₂O₂) üretme yeteneklerinin belirlenmesi

Kurumadde içeriği %10 olan sterilize edilmiş yağsız süt besiyerine 24 saatlik aktif LAB kültürlerinden %2 oranında inoküle edilerek 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmış inkübasyon sonunda distile su ile 25 mL'ye tamamlanarak, 12000 dev/dak hızla 15 dakika santrifüj (SIGMA) edilmiştir. Santrifüj sonrası, üstte kalan kısım (supernatant) alınarak Whatman 42 filtre kâğıdından ardından 0,2 µm gözenek çaplı filtrelerden geçirilerek karanlık ortamda süzölmüştür. Süzölen kısımdan 8'er mL alınarak üzerlerine sırasıyla 1 mL 1 N sülfürik asit, 1 mL 0,01 M amonyum molibdat ve 1 mL 1 M potasyum iyodür çözeltileri ilave edilerek 400 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, hidrojen

peroksit standart eğrisi ile karşılaştırılarak, izolatların hidrojen peroksit üretimleri $\mu\text{g/mL}$ olarak tespit edilmiştir (Toksoy, 1996).

Hidrojen peroksit standart eğrisi için; Hidrojen peroksitten (%35); 0,1 mL alınıp, 25 mL'ye distile su ile tamamlanmış çözeltilerden 1 mL alınarak tekrar 25 mL'ye distile su ile tamamlanmıştır. Metotta belirtildiği gibi, hidrojen peroksit standart eğrisi çizilmiş, bu eğriden 1 $\mu\text{g/mL}$ H_2O_2 'ye tekabül eden hidrojen peroksit değeri hesaplanmıştır (Toksoy, 1996).

3.2.1.4. İzolatların antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesi

İzolatların patojen test bakterileri üzerine olan genel inhibisyon etkileri agar diffüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Aktif LAB izolatları 10 mL'lik %2 glukoz içeren MRS ve M17 Broth (Oxoid) besiyerine %2 oranında inoküle edilip, 35°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon bitiminde besiyeri 12000 rpm de 15 dak. santrifüjde (SIGMA) santrifüj edilip berrak kısım 0,2 μm 'lik membran filtreden süzülmüştür.

Antibakteriyel aktivite için seçilen [*Staphylococcus aureus* (ATCC 2393), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 33150), *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076), *Vibrio parahaemolyticus* (ATCC 17802), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644)] test bakterilerinin 18 saatlik kültürlerini içeren Nutrient Agar (Oxoid) besiyerleri petrilere besiyerlerinde 0,9 cm çapında açılmış kuyucuklara 100 μL LAB kültür filtratları doldurulmuş ve 35°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Oluşan zonların yarı çapları (mm) kumpas yardımıyla ölçülmüştür (Reinheimer, Demkow ve Candiotti, 1990).

3.2.1.5. İzolatların antibiyotiklere direncinin belirlenmesi

İzolatların antibiyotiklere karşı hassasiyetlerini belirlemek için Tetracycline (TE) 10 μg , Cefixime (CFM) 5 μg , Amoxycillin (AML) 10 μg , Ampicillin (AMP) 10 μg , Streptomycin(S) 10 μg (Oxoid) farklı 5 antibiyotik diskleri kullanılmıştır.

İzolatların MRS ve M17 sıvı besiyerindeki 18 saatlik aktif kültürlerinin optik yoğunluğu 1,5 McFarland'a ayarlanarak, steril MRS ve M17 agar besiyeri 45-50°C'ye soğutulup optik yoğunlukları ayarlanmış izolatlardan %1 oranında karıştırıldıktan sonra steril petrilere dökülmüştür. Bu şekilde hazırlanan petrilere, petri kabına antibiyotik diskler yerleştirilerek petriler, 37°C'de 18 saat inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda disklerin etrafında

oluşan inhibisyon zonu çapları kumpas ile ölçülmüştür (Kheadr, Dabour, Le Lay, Lacroix ve Fliss, 2007).

3.2.1.6. İzolatların optimum gelişme sıcaklıklarının belirlenmesi

İzolatların optimum gelişme sıcaklıklarının belirlenmesi Morales, Morales, Hernández ve Hernández-Sánchez (2011); Cui vd., (2012)'nin bildirdikleri yöntem modifiye edilerek yapılmıştır. LAB 18 saat aktifleştirilmiş kültürlerden steril MRS sıvı besiyerine %1 oranında inokülasyon yapılmış ve 4, 15, 30 ve 45°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda MRS sıvı besiyerinde bulanıklık oluşumu OD600 nm'de ölçülmüştür. Bulanıklık görülen tüpler pozitif (+ optik yoğunluk (OD), 0,10-0,30 az bulanık, pozitif zayıf gelişme; ++ OD:0,30-0,50 orta bulanıklık, iyi gelişme; +++ OD>0,60 çok bulanık, çok iyi gelişme), görülmeyenler ise (-OD<0,10 negatif) olarak değerlendirilmiştir.

3.2.1.7. İzolatların farklı NaCl konsantrasyonunda gelişiminin belirlenmesi

İzolatların optimum NaCl konsantrasyonundaki gelişimini belirlemek için Morales vd., (2011) ve Cui vd., (2012)'nin bildirdiği yöntem modifiye edilerek yapılmıştır. Tuz toleransı için %2, %6 ve %10 NaCl içeren steril MRS ve M17 sıvı besiyerine 18 saat aktifleştirilmiş LAB kültürlerden %1 oranında inokülasyon yapılmıştır. Bulanıklık oluşumu OD600 nm'de ölçülmüş ve tüpler pozitif (+optik yoğunluk (OD), 0,10-0,30 az bulanık, pozitif zayıf gelişme; ++ OD:0,30-0,50 orta bulanıklık, iyi gelişme; +++ OD>0,60 çok bulanık, çok iyi gelişme), görülmeyenler ise (-OD<0,10 negatif) olarak değerlendirilmiştir.

3.2.1.8. İzolatların farklı pH da gelişiminin belirlenmesi

İzolatların farklı pH da gelişmelerini belirlemek için MRS ve M17 sıvı besiyerini 1 N NaOH ve 1 N HCl yardımıyla 2-3,5- 6 ve 9,6 pH ortamına ayarlanmış aktifleştirilmiş izolatlardan ekim yapılmış MRS aerobik, M17 besiyeri anaerobik olarak 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Gelişmeleri bulanıklıklarına bakılarak değerlendirilmiştir. Bulanıklık görülen tüplerde test pozitif, görülmeyenler negatif olarak kabul edilmiştir (Sneath, Mair, Sharpe ve Holt, 1986).

3.2.1.9. İzolatların otoliz özelliğinin belirlenmesi

Hücrelerin otolizinin belirlenmesi için MRS ve M17 sıvı besiyerinde geliştirilen 18 saatlik aktif kültürlerden 1 mL steril santrifüj tüplerine alınarak hücreler 4°C'de 12,600 x g'de

5 dk santrifüjlenmiş ve iki kere %0,85 (w/v) NaCl ile yıkanmıştır. Peletin üzerine daha önceden 40°C ye ısıtılmış 0,2 mol/L NaCl (pH 5,5) otoliz bufferdan 1 mL ilave edilerek, 40°C’de inkübe edilmiş, 1 mL örnekten 100 µL alınıp üzerine 900 µL steril suda seyreltilmiştir. Hücreler 40°C’de inkübe edilerek ve OD650’de 0., 30. ve 180. dakikalarda ölçülmüştür. Sonuçlar, otoliz oranı (RA) ve otoliz derecesi (EA) olarak gösterilmiştir (Piraino, Zotta, Ricciardi, McSweeney ve Parente, 2008).

$$RA = \frac{OD0 - OD30}{OD30}$$

$$EA = \frac{OD0 - OD180}{OD180}$$

0,2 mol/L NaCl otoliz buffer; 100 mL için 1,16 g NaCl tartılır daha sonra 100 mL saf su içinde çözüldürülerek elde edilmiştir.

3.2.1.10. İzolatların diasetil üretiminin belirlenmesi

MRS sıvı besiyerinde gelişen 18 saatlik aktif kültürler 10 mL UHT süte inoküle edilerek 30°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Her hücre kültüründen 1 mL alınarak üzerine 0,5’er mL 1-naphthol (1% w/v) ve KOH solüsyonu (16% w/v) damlatılmış ve 30°C’de 10 dakika inkübe edilmiştir. Tüplerin yüzeyinde oluşan kırmızı halka diasetil oluşumu olarak değerlendirilmiştir (King, 1948).

3.2.1.11. İzolatların alkole dayanıklılığının belirlenmesi

Alkole dayanıklılık analizi G-Alegria, López, Ruiz, Sáenz, Fernández, Zarazaga vd. (2004)’nın kullandığı yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. 18 saat geliştirilen LAB %3, 6, 12 ve 15 etil alkol içeren MRS ve M17 Broth’lara aşılansarak ve 30°C’de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası tüplerdeki bulanıklık oluşumu 600 nm’de ölçülmüştür. Pozitif (+ optik yoğunluk (OD), 0,10-0,30 az bulanık, pozitif zayıf gelişme; ++ OD:0,30-0,50 orta bulanıklık, iyi gelişme; +++ OD>0,60 çok bulanık, çok iyi gelişme), görülmeyenler ise (- OD<0,10 negatif) olarak değerlendirilmiştir.

3.2.1.12. İzolatların safra tuzuna dayanıklılığının belirlenmesi

LAB safra tuzuna toleransını belirlemek için her izolat, 24 saat boyunca 30°C’de MRS ve M17 broth içinde geliştirilmiştir. İnkübasyondan sonra gelişen bakteriler santifuj (5000 g, 5

4 dakika 4 °C) edilmiş ve çöken pellet 3 kez PBS yıkanmıştır. Yıkanan pellet 0,5 mL besiyeri ile inokulum hazırlanmıştır. 50 µL inokulum bakteriyel süspansiyon %0,3 safralı ve safra olmadan (kontrol için) aktararak en baştaki bakteri sayısı hesaplanarak 4. ve 24. saatte canlı kalan hücre sayıları hesaplanmıştır. Safra tuzuna karşı % canlılık oranlarının belirlenmesi için kullanılan formül aşağıda verilmiştir (Tokatlı, Gülgör, Elmacı, Arslanköz ve Özçelik, 2015; Kotsou, Mitsou, Oikonomou ve Kyriacou, 2008).

$$\text{Canlılık oranı \%} = \frac{\text{Canlı kalan hücrelerin (kob/ml) sayısı}}{\text{Başlangıçta inoküle edilen hücrelerin (kob/ml) sayısı}} \times 100$$

3.2.1.13. İzolatların hidrofobisite yeteneklerinin belirlenmesi

MRS ve M17 sıvı besiyerlerinde gelişen aktif kültürler 10,000 rpm 4°C 15 dakika santrifüj edilmiş ve daha sonra 3 kez PBS ile yıkama yapılmıştır. 0,1 M (pH 6,2) KNO₃ ile 600 nm ABS verene kadar seyreltilmiştir. Ayarlanan süspansiyondan 2 mL alınarak üzerine 0,5 mL xylene, kloroform iki ayrı madde ayrı ayrı uygulanmıştır. Daha sonra vortexlenerek oda sıcaklığında 10 dk bekletilmiştir. 10 dakika sonrasında 2 dakika boyunca vortexlenmiştir. 4 saat boyunca oda sıcaklığında bırakılarak altta kalan kısım 600 nm de absorbans değeri okunmuştur.

Hesaplama $\frac{A_0 - A_1}{A_0} * 100$ denklemine göre yapılmıştır (Darılmaz ve Beyatlı, 2012).

3.2.1.14. İzolatların EPS üretiminin belirlenmesi

İzolatlar 18 saat aktifleştirildikten sonra 10 mL'lik MRS ve M17 broth besiyerine üçer paralelli olarak %4 oranında ekim yapılmış ve 37°C'de 24-72 saat inkübe edilerek EPS üretilmesi sağlanmıştır. İnkübasyon sonrasında ependorf tüplerine 5 mL örnek alınmıştır ve 100°C' de 15 dakika kaynatılıp oda sıcaklığına gelinceye kadar soğutulmuştur. Kaynatma işlemi ile bakteri ve enzimlerin inaktivite edilmesi sağlanmıştır. Oda sıcaklığına gelen örnek üzerine 17 µL TCA (trikloroasetikasit) eklenmiş (%85 w/v) ve örneği homojenize hale getirebilmek için vortexlenmiştir. Ardından +4°C'de 12000 rpm'de 30 dakika santrifüj edilerek hücrelerin ayrılması sağlanmıştır. Santrifüj işlemi sonrasında süpernatant temiz bir ependorf tüpüne alınmıştır. Süpernatant üzerine hacmi kadar yaklaşık 5 mL etanol eklenmiştir. Yarım saat bekletildikten sonra +4°C'de 12000 rpm'de 30 dakika santrifüj edilerek EPS-protein kompleksi çöktürülmüş ve pellet elde edilmiştir. Süpernatant dökülerek pelletin üzerine ikinci kez yaklaşık 5 mL etanol ilave edilmiş pelletin etanol içinde çözünmesi için yine yarım saat bekletilmiştir. Daha sonra örnekler +4°C'de 12000 rpm de 30 dakika santrifüj edilmiş ve

santrifüj sonrası alkol uzaklaştırılarak EPS elde edilmiştir (Dubois, Gilles, Hamilton, Rebers ve Smith, 1956; Genç Karadeniz, 2019)

3.2.1.15. Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrometresi (FTIR) ile EPS' lerin Konformasyonel Özelliklerin Belirlenmesi

Laktik Asit Bakterileri izolatlarının üretmiş olduğu EPS' lerin konformasyonel yapıları ATR-FTIR (Bruker, Vertex 70 ATR, Almanya) ile tespit edilmiştir. EPS örneklerinin kurutulduktan sonra toz halde FTIR spektrofotometresinde okuma gerçekleştirilmiştir. EPS'lerin geçirgenliği (transmittence) dalga boyu orta dalga boylu kızıl ötesi (MIR:400-4000 cm⁻¹) spektral aralığında belirlenmiştir. FTIR spektrumunun grafikleri OriginPro 2016 SR0 programı ile oluşturulmuştur (Gong vd., 2012).

3.2.1.16. Laktik Asit Bakterileri izolatlarının Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Mikroyapısal Özelliklerin Belirlenmesi

Laktik Asit Bakterileri izolatlarının üretmiş olduğu EPS' lerin mikroyapısal özellikleri FEI (QUANTA FEG 250, ABD) taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiş ve görüntüler fotoğraflanmıştır.

3.2.1.17. İstatiksel Analiz

Analizler sonucunda elde edilen veriler, Windows tabanlı SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, US) istatistik paketi kullanılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir. İstatistiksel analizlerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi ve Duncan testi uygulanmıştır. Farklılıklar arasında $p < 0,05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Trakya Bölgesi Velimeşe Beldesinde geleneksel olarak üretilen 5 farklı Bozadan izole edilmiş toplam 112 izolataın PZR ile analizleri yapılmış ve bu izolatlardan *Limosilactobacillus fermentum*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Levilactobacillus brevis*, *Leucoconstoc lactis*, *Leucoconstoc citreum*, *Lacticaseibacillus paracasei* ve *Lactococcus lactis* bakterileri seçilmiştir. Seçilen LAB'lerin 16 rDNA sekansının BLAST testine dayanan yüzde benzerlikleri Çizelge 4.1' de verilmiştir. Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi %99-100 benzerlik oranları tespit edilmiştir (Tortum, 2019).

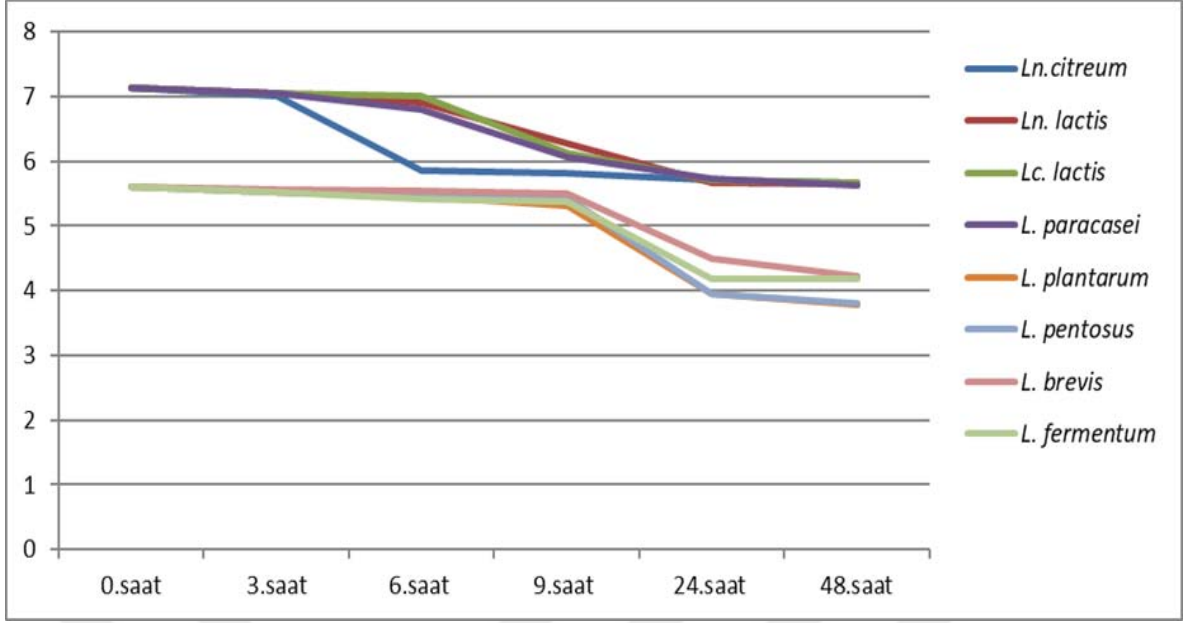
Çizelge 4. 1. LAB izolatlarının moleküler karakterizasyonu

İzolat Kodu	Moleküler Kimlik	Örnek Kodu	% Benzerlik NCBI ¹
M26F	<i>Leuconostoc citreum</i>	1	100
M31F	<i>Leuconostoc lactis</i>	2	99
M24F	<i>Lactococcus lactis</i>	3	99
M32F	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	4	99
M15F	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	8	100
M7F	<i>Lactobacillus pentosus</i>	10	99
M18F	<i>Levilactobacillus brevis</i>	11	99
M3F	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	12	99

¹ NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>)

4.1. LAB izolatlarının Asit Üretme Yetenekler

İzolatların asit üretme yeteneklerini belirlemek için bakterilerin geliştiği besin ortamında 30°C'de 48 saat inkübe edilen bakterilerin inkübasyon süresince 3. 6. 9. 24. ve 48. saatler sonunda tüplerin pH ölçümleri yapılmış ve sonuçlar Şekil 4.1'de verilmiştir. *Ln. citreum* (M26F), *Ln. lactis* (M31F), *Lc. lactis* (M24F), *L. paracasei* (M32F) izolatları başlangıçta 7,13 olan pH değerini 48 saatin sonunda 5,63 değerine düşürmüştü ve bu bakterilerin geliştikleri ortamların pH değeri 48. saat sonra 5,63-5,67 arasında değişmiştir. *L. plantarum* (M15F), *L. pentosus* (M7F), *L. brevis* (M18F), *L. fermentum* (M3F) izolatları başlangıçta 5,6 pH'ya sahip olan ortamların 48 saat sonunda pH değerleri 3,78'e kadar düşürmüştü ve bu bakterilerin geliştiği ortamların pH değerleri 48. saatte 3,78-4,22 arasında ölçülmüştür. Tüm izolatların ortamın pH değerini ilk 24 saatte hızlı düşürdüğü, 24-48 saat arasındaki pH değerindeki düşüşün daha sınırlı olduğu Şekil 4.1'de görülmektedir.



Şekil 4. 1. LAB izolatlarının inkübasyon süresince besin ortamındaki pH değerindeki değişimi

Adesulu, Jeyaram ve Sanni, (2018) çalışmalarında *L. plantarum* (YO175)'un 36 saat sonunda ortamın pH'sını 6,50'den 3,07 ye düşürmüştür. *L.plantarum* (OF101)'un ortamın pH'sını 6,50'den 3,53'e düşürdüğü, *Pediococcus pentosaceus* (OF31)'un 6,50'den 2,71'e, *Weissella cibaria* (OF126)'nın 6,50'den 3,27'ye, *W.cibaria* (WS90)'nın 6,50'den 4,06'ya düşürdüğü bildirilmiştir.

Kıray (2017) çalışmasında insan kaynaklı vajen laktik asit bakterilerinin 18 saat geliştirilmiş olan bakteri kültürlerinin pH değerleri 3,98-4,55 arasında olduğu ve pH'sının ortalamasının 4,21 olduğunu bildirmiştir.

Akpınar (2015) çalışmasında 108 adet *Lactobacillus* spp.' den 38 tanesi *L.casei*, 26 tanesi *L.plantarum*, 22 tanesi *L.bulgaricus*, 10 tanesi *L.kefir*, 6 tanesi *L.brevis* ve 6 tanesi tanımlanamayan izolatların 24 saat sonraki pH ları ortalama 4,63 olarak bildirmiştir.

Kırmacı (2010) çalışmasında Şanlıurfa ilinin 4 farklı bölgesinden toplanan Urfa peynir örneğinden 30°C de 6 saat inkübasyon sonucunda 7 *Lactococcus* spp. izolatının ve 37 °C de 6 saat inkübasyon sonucunda 1 *Lactobacillus* izolatının pH' yı 5,3' ün altına düşürebildiği bildirilmiştir.

Yıldız (2011) çalışmasında turşu ve zeytinlerden izole edilen laktik asit bakterilerinin MRS Broth'da 24 saat inkübasyon sonunda ulaştıkları pH değerleri *Pediococcus pentosaceus* 3,87 ile *L. brevis* 4,55 olduğu bildirilmiştir.

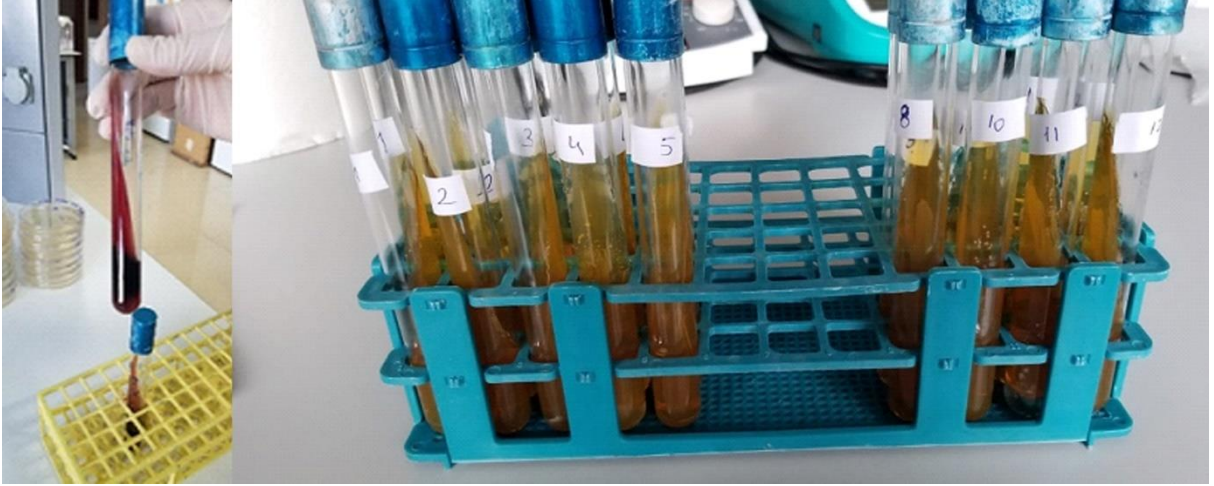
Bu çalışmada ölçülen pH değerleri yukarıda literatürlerde de Adesulu vd. (2018), Kıray (2017), Akpınar (2015), Kırmacı (2010) ve Yıldız (2011) belirtilen değerler ile benzerlik göstermektedir.

4.2. LAB izolatlarının Hidrojen sülfür (H₂S) üretme yeteneklerini

İzolatlar Triple Sugar Iron Agar besiyerinde 35 °C'de 21 gün süreyle inkübe edilerek hidrojen sülfür üretimi belirlenmiş ve 21 gün sonunda izolatlardan hiçbirinin H₂S üretmediği tespit edilmiştir.

LAB fermentasyon sonucunda hidrojen sülfür, hidrojen peroksit, bakteriyosin, laktik asit, asetik asit, propiyonik asit, formik asit gibi antimikrobiyal maddeler oluşturabilmektedirler. Besin ortamındaki kükürtlü amino asitleri kullanarak hidrojen sülfür oluşturdukları bildirilmiştir (Yüksekdağ ve Beyatlı, 2003; Toksoy, 1993). Toksoy vd, (1999). Hidrojen sülfür üretiminin sülfid redüktaz ve sistein desülfhidraz enzim aktivitesine bağlı olduğunu bundan dolayı bazı laktik asit bakterilerinin hidrojen sülfür üretmediğini bildirmişlerdir.

Kontrol olarak kullanılan *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076) bakterisinin H₂S üretimi Şekil 4.2' de gösterilmiştir. Şekil 4.2'de görüldüğü gibi LAB bakterilerinde herhangi bir renk değişimi görülmemesine rağmen kontrol örneği olan *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076) bakterisinin geliştiği besin ortamının rengi kırmızı siyaha dönüşmüştür.



Şekil 4. 2. *S. Enteritidis* ve LAB izolatlarının H₂S üretimi

Goswami, Bora, Parveen, Boro ve Barooah, (2017) çalışmalarında *Enterococcus durans*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. casei*' nin H₂S üretmediği tespit etmişlerdir.

Hanol Bektaş (2016) çalışmasında tatlı su balıklarından izole edilen laktik asit bakterilerinden *L.fermentum*, *L.plantarum*, *Lc.lactis*, *L.brevis*' de aralarında bulunduğu 75 izolatın Triple Sugar Iron Agar (TSI) kullanılarak H₂S üretimi test edilmiş ve yalnızca *Aerococcus viridans*, *Pediococcus damnosus* 3 izolatın H₂S ürettiği kalan 72 izolatın H₂S üretmediği tespit edilmiştir.

Er (2016) vajenden izole edilen 111 laktik asit bakterisinin hiçbirinin H₂S üretmedikleri bildirilmiştir. Pektaş (2014) çalışmasında izole ettiği 136 laktik asit bakterisinin hiçbirinin H₂S üretmedikleri bildirilmiştir.

Aslım, Toksoy ve Beyatlı, (1999) çalışmalarında sucuk ve sosis örneklerinden *L. plantarum* suşlarından 30'nun H₂S üretmediği gözlenirken, 9 adet suşun farklı derecelerde H₂S ürettikleri ifade edilmiştir.

Demirok ve Alpaslan, (2017) çalışmalarında izolatlardan yalnızca *L. paracasei* subsp. *paracasei* olarak tanımlanan türlerin (FSÜ1, FSÜ2, FSÜ3, FSÜ28) H₂S oluşturduğu diğer izolatların oluşturmadığını bildirmişlerdir.

Çalışmamız Pektaş (2014), Er (2016), Hanol Bektaş (2016), Goswami vd. (2017)'nin çalışmalarına paralellik gösterirken, Demirok ve Alpaslan (2017)'in bulduğu *L.paracasei* subsp. *paracasei* hidrojen sülfür ürettiği sonucunun tersine bizim izole ettiğimiz *L.paracasei* Hidrojen sülfür üretmemiştir.

4.3. LAB izolatlarının hidrojen peroksit (H₂O₂) üretme yetenekleri

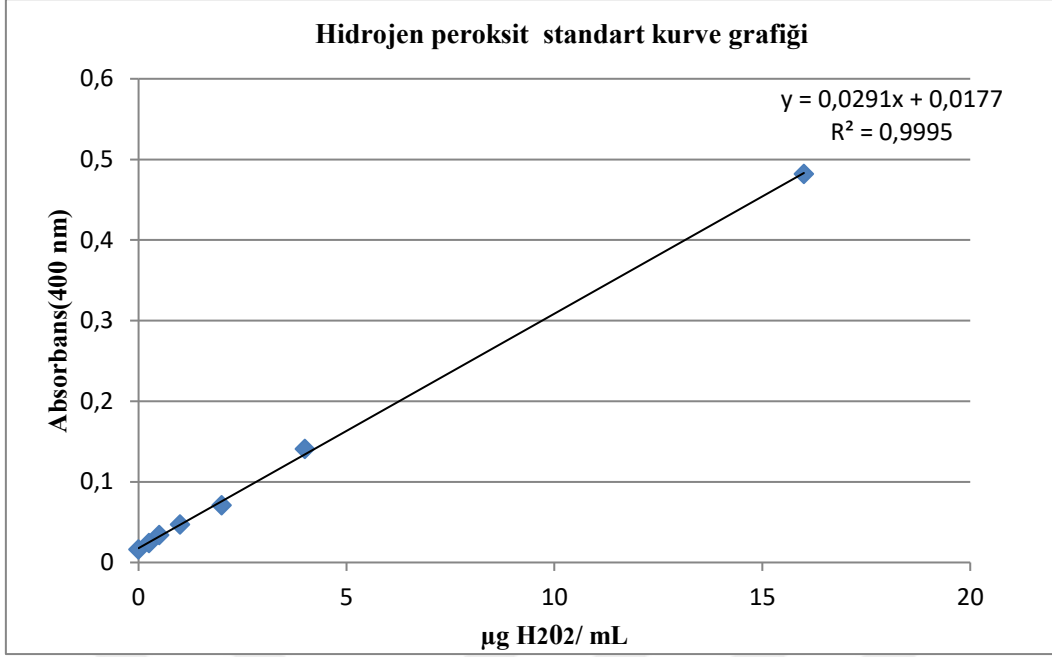
İzolatların hidrojen peroksit üretme kabiliyetleri hidrojen peroksit standart kurve grafiği üzerinden (Şekil 4. 3) hesaplanmış ve sonuçlar Çizelge 4.2 'de verilmiştir. İzolatların hidrojen peroksit üretim miktarı 1,21-5,92 µg/mL değerleri arasında değişmektedir. En yüksek hidrojen peroksit üretimi 5,92 µg/mL ile *L.plantarum* (M15F) bakterisinde olduğu, bunu 4,25 µg/mL ile *L.fermentum* (M3F) izlediği, en düşük hidrojen peroksit üretiminin ise 1,21 µg/mL ile *Ln. lactis* (M31F) olduğu belirlenmiştir. İzolatların hidrojen peroksit üretme miktarları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuş (p<0,05), Çizelge 4.2'de farklı harflerle gösterilmiştir.

Çizelge 4. 2. LAB İzolatlarının Hidrojen Peroksit Üretimi

İzolat Adı	Hidrojen peroksit (µg/mL)
<i>Leunocostoc citreum</i> M26F	1,63±0,81 ^d
<i>Leunocostoc lactis</i> M31F	1,21±0,39 ^d
<i>Lactococcus lactis</i> M24F	2,16±0,68 ^{bcd}
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> M32F	1,85±0,22 ^{cd}
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> M15F	5,92±1,62 ^a
<i>Lactobacillus pentosus</i> M7F	4,06±0,40 ^{abc}
<i>Levilactobacillus brevis</i> M18F	3,93±0,53 ^{abc}
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> M3F	4,25±1,52 ^{ab}

± Standart sapmayı ifade etmektedir. Aynı sütunda yer alan rakamlar üzerinde üstsel olarak gösterilen harfler gruplar arasındaki istatistikî farklılıkları (P<0,05) belirtmektedir.

Bazı laktik asit bakterileri pek çok mikroorganizmanın gelişmesini engelleyecek hidrojen peroksit üretebilir. Bu durum laktik asit bakterilerinin çoğunda flavoprotein oksidaz enziminin varlığı ile gerçekleşmektedir (Kandler, 1983). H₂O₂ üretimi diğer mikroorganizmaların hassas membran lipitlerini ve proteinlerini okside ederek antimikrobiyal etki sağlamaktadır (Albayrak, 2017).



Şekil 4. 3. Farklı oranlarda Hidrojen peroksit içeren çözeltilerin standart kurve grafiği

Fermantasyon sonucu ortaya çıkan metabolitlerden hidrojen peroksit, diasetil, bakteriyosin ve amonyak gibi metabolitler diğer mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal özellik göstermektedirler (Cerit, Baloğlu ve Yılmaz, 2021).

Kıvanç ve Erikçi (2018), çalışmalarında sofralık fermente zeytinlerden izole edilen laktik asit bakterilerinin hidrojen peroksit miktarlarını 0,218-0,96 mg/mL arasında değişiklik gösterdiği, en yüksek hidrojen peroksit miktarı *L.brevis* (BZ4)' de saptadıklarını belirtmişlerdir.

Er (2016) çalışmasında vajinadan izole edilen 72 laktik asit bakterilerinin hidrojen peroksit üretimi 0,308–0,934 µg/mL arasında değiştiğini, *L.fermentum* (5MR8) izolatu en düşük, *E.faecalis* (11M10) izolatu ise en yüksek hidrojen peroksit üretimine sahip izolat olduğunu bildirmiştir.

Kıray (2017) vajinal kaynaklı laktik asit bakterilerinin bütün izolatların H₂O₂ üretmediğini, en az üretilen *L.rhamnosus* (L15), *L.plantarum* (L18) tarafından 1 mg/L iken *L.paracasei* (L1), *L.paracasei* (L3), *L.crispatus* (L5), *L.gasseri* (L10) ve *L.plantarum* (L19) suşların 10 mg/L değerinde en yüksek seviyede H₂O₂ ürettiğini bildirmiştir. *L.casei* (L2), *P.acidilacitici* (L6), *L.rhamnosus* (L8), *L.rhamnosus* (L12), *L.rhamnosus* (L13), *L.paracasei* (L20)'nin ise H₂O₂ üretmediği ifade edilmiştir.

Aslım vd. (1999) çalışmalarında sucuk ve sosis örneklerinden *Lactobacillus* cinsine dahil toplam 97 adet bakterinin H₂O₂ üretme yetenekleri miktarının 1,80-3,45 µg/mL arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızdaki izolatlardan *L.plantarum* (5,92 µg/mL), *L.fermentum* (4,25 µg/mL), ve *L.pentosus* (4,06 µg/mL) H₂O₂ üretme oranları Aslım vd. (1999) ve Kiray (2017) ile benzerlik göstermiş, Er (2016) 'in bulduğu değerlerden yüksek olduğu, Kıvanç ve Erikçi (2018)'nin bulduğu değerlerden ise düşük olduğu belirlenmiştir.

4.4. LAB izolatlarının antibakteriyel aktiviteleri

İzolatların, patojen test bakterileri olan *Staphylococcus aureus* (ATCC 2393), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 33150), *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076), *Vibrio parahaemolyticus* (ATCC 17802), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) üzerine antibakteriyel aktiviteleri Çizelge 4. 3' de verilmiştir. Test bakterisi olan *E. coli* üzerine zon çapı 8,31mm ile *L. pentosus* etkili antibakteriyel etki gösterirken, en düşük etkiyi 5,78 mm zon çapı ile *Ln.lactis* göstermiştir. İzolatların *E.coli* O157:H7 test bakterisine etkisi *E.coli* ile benzerlik göstermiş en yüksek antibakteriyel etki *L.pentosus* (8,68 mm)'da ölçülmüş, en düşük antibakteriyel etki (6,09 mm) *Ln.citreum*'da belirlenmiştir. *S. Enteritidis* üzerine inhibisyon etki *L.plantarum* 11,69 mm zon çapı ile en yüksek antibakteriyel etki gösterirken, zon çapı 6,06 mm ile en düşük antibakteriyel etki gösteren bakteri *Ln.citreum* olmuştur. *S.aureus* üzerine *Ln.citreum*, *Lc.lactis*, *L.paracasei* ve *L.brevis* bakterileri inhibisyon etki göstermezken, *S.aureus* üzerine en yüksek antibakteriyel etki 10,26 mm zon çapı *L. pentosus* 'da ölçülmüştür. *V.parahaemolyticus* üzerine ise *L.plantarum* 17,09 mm zon çapı ile oldukça etkili olduğu, *Ln.lactis* 10,19 mm zon çapı ile en düşük antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir. *L. monocytogenes* üzerine *L.plantarum* etki etmezken en yüksek aktivite 16,92 mm zon çapı ile *L.pentosus* 'da tespit edilmiştir. *L.pentosus* tüm test bakterileri üzerine etki ederken, *L.plantarum* *L. monocytogenes* hariç diğer patojenler üzerine oldukça etkili olduğu görülmektedir. İzolatların antimikrobiyal aktivite değerleri arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuş ($p<0,05$), sonuçlar Çizelge 4. 3' de farklı harflerle gösterilmiştir.

Çizelge 4. 3. LAB İzolatlarının Antimikrobiyal Aktivitesi (Ömm)

LAB	<i>E.coli</i> (ATCC 25922)	<i>E.coli</i> O157:H7 (ATCC 33150)	<i>S. Enteritidis</i> (ATCC 13076)	<i>S.aureus</i> (ATCC 2392)	<i>V.parahaemolyticus</i> (ATCC 17802)	<i>L.monocytogenes</i> (ATCC 7644)
<i>Leuocostoc citreum</i> M26F	6,15±0,22 ^{ab}	6,09±0,21 ^d	6,06±0,16 ^d	-	10,37±0,87 ^d	9,10±0,20 ^{cd}
<i>Leuocostoc lactis</i> M31F	5,78±0,44 ^{ab}	6,21±0,46 ^d	6,32±0,50 ^{cd}	6,87±0,50 ^{cd}	10,19±1,14 ^d	8,02±0,18 ^c
<i>Lactococcus lactis</i> M24F	6,13±0,25 ^{ab}	6,17±0,16 ^d	6,19±0,36 ^d	-	11,67±0,83 ^{cd}	9,67±0,92 ^c
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> M32F	6,09±0,29 ^{ab}	6,73±0,10 ^{cd}	6,69±0,31 ^{cd}	-	11,15±0,21 ^{cd}	9,40±0,64 ^{cd}
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> M15F	7,30±3,16 ^{ab}	8,39±0,39 ^{ab}	11,69±0,88 ^a	12,20±0,97 ^a	17,09±0,97 ^a	-
<i>Lactobacillus pentosus</i> M7F	8,31±0,33 ^a	8,68±0,67 ^a	9,57±0,16 ^b	10,26±0,32 ^b	16,52±0,87 ^a	16,91±0,38 ^a
<i>Levilactobacillus brevis</i> M18F	6,30±0,27 ^{ab}	6,91±1,03 ^{cd}	7,17±0,45 ^c	-	12,57±0,83 ^{bc}	12,53±0,56 ^b
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> M3F	7,49±0,32 ^a	7,55±0,35 ^{bc}	9,16±0,62 ^b	6,33±0,56 ^d	14,38±1,15 ^b	14,38±1,15 ^b

± Standart sapmayı ifade etmektedir. Aynı sütunda yer alan rakamlar üzerinde üstsel olarak gösterilen harfler gruplar arasındaki istatistikî farklılıkları ($P < 0,05$) belirtmektedir.

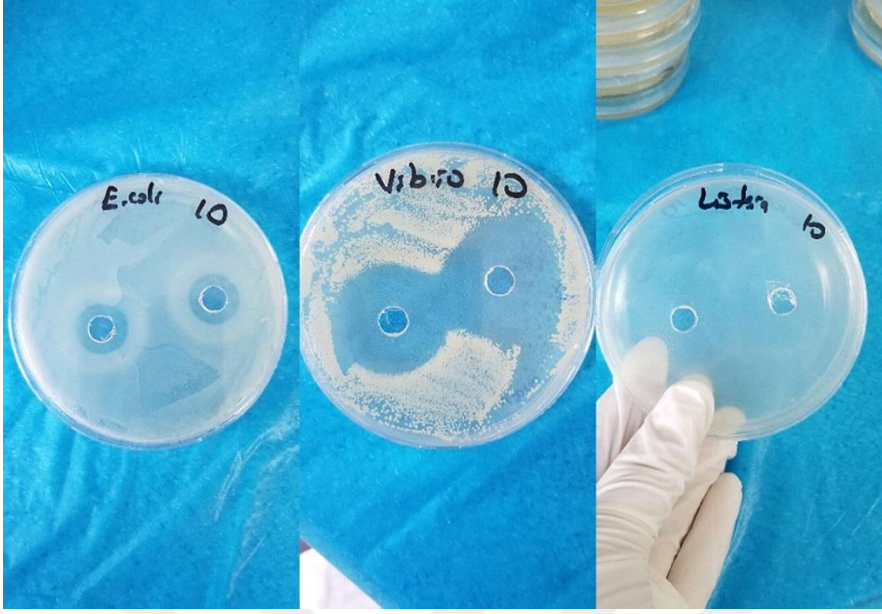
Probiyotikleri seçerken, suşların mide-bağırsak yolunda patojenik bakteri üremesini engellemesi büyük önem taşımaktadır (Sharma, Lavania, Singh ve Lal, 2021). Patojenlere karşı antibakteriyel aktivite, immünomodülasyon, sindirim sürecini iyileştirme gibi farklı faydalı etkileri olan LAB tüketicilerinin sağlığı için faydalı olabildiği bildirilmiştir (Al-Dohail, Hashim ve Aliyu-Paiko, 2009).

Bazı LAB suşları, patojenik ve bozucu bakterilerin büyümesini önleyebilen farklı antimikrobiyal bileşikler üretme kabiliyetinde olduğu ifade edilmektedir (Kim, Huang, Park, Holzapfel ve Lim, 2018).

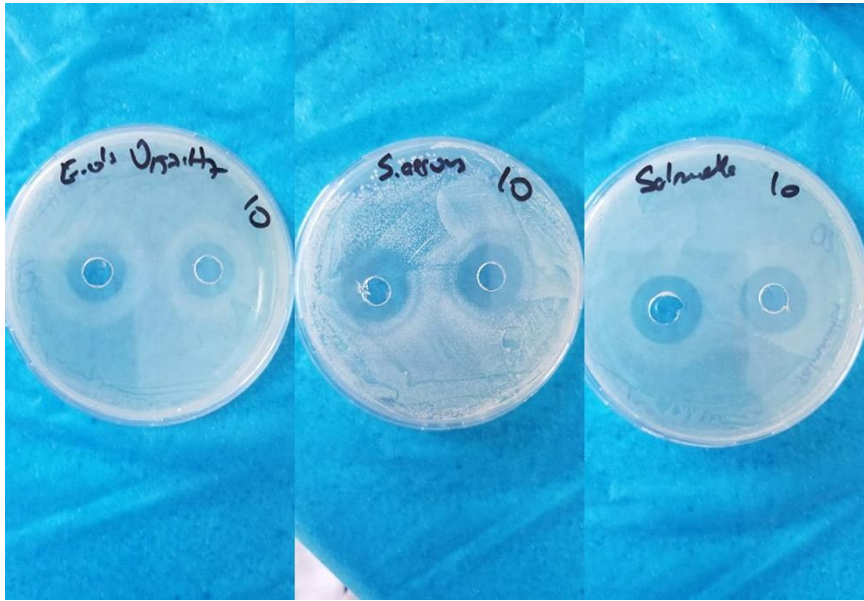
Reuben, Roy, Sarkar, Alam ve Jahid, (2020) Hem inek hem de keçi sütünden elde edilen LAB suşları tarafından *E. coli*'ye karşı daha geniş inhibisyon bölgeleri kaydedilmişken, *E. coli* O157:H7, *S. Enteritidis*, *L. monocytogenes* patojenlerine antagonistik aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca, bakteriyosin üreten LAB türlerinin çoğu Gram negatif patojenlere karşı antagonistik olmamasına rağmen, plantarisin üreten *L. plantarum* (C16)'nın Gram negatif patojenlere karşı antagonistik aktivite gösterdiğini bildirilmiştir (Reuben vd., 2020). Ayrıca, LAB suşları tarafından salgılanan laktik asidin Gram negatif bakterilerin dış zarını bozduğu ifade edilmektedir (Alakomi, Skyttä, Saarela, Mattila-Sandholm, Latva-Kala, ve Helander, 2000). Bizim sonuçlarımızın Reuben vd. (2020) sonuçları ile benzerlik gösterdiği görülmektedir.

Bakteriyosinler, organik asitler (örn. Asetik, laktik, propiyonik, süksinik asitler), kısa zincirli yağ asitleri, hidrojen peroksit ve LAB tarafından üretilen diğer düşük moleküler ağırlıklı maddeleri içeren antimikrobiyal bileşikler, antimikrobiyal aktivitelerinden sorumludur (Grosu-Tudor, Stancu, Pelinescu ve Zamfir, 2014). LAB'nin antimikrobiyal rolleri, bu türlerin gıda kaynaklı patojenlerin ortadan kaldırılmasına neden olabilecek önemli özelliklerinden biridir (Purutoğlu, İspirli, Yüzer, Serencam ve Dertli, 2020)

Şekil 4.4 ve Şekil 4.5' de *L. pentosus* M7F'un patojenlere karşı antibakteriyel etkisine ait görseller verilmiştir.



Şekil 4. 4. *L. pentosus* M7F bakterisinin sırasıyla *E.coli* (ATCC 25922), *V.parahaemolyticus* (ATCC 17802), *L.monocytogenes* (ATCC 7644) patojenlerine antimikrobiyal etkisi



Şekil 4. 5. *L. pentosus* M7F bakterisinin sırasıyla *E.coli* O157:H7 (ATCC 33150), *S.aureus* (ATCC 2392), *S.Enteritidis* (ATCC 13076) patojenlerine antimikrobiyal etkisi

Paixão, Couto, Costa Sousa, Abe, Dias, Meneses vd. (2020) *L.plantarum* (ST05) izolatının *V.parahaemolyticus*, *E.coli* ye karşı antibiyotiğe benzer şekilde en yüksek inhibisyon gösterdiği ve tüm izole suşlar *L.plantarum* (ST01, ST02, ST03 ve ST04, ST05) ile

karşılaştırıldığında benzer veya düşük performans gösterdiği bildirilmiştir. Bu yetenek, laktik asit, hidrojen peroksit ve plantarisin üretimi ile açıklanabileceği ifade edilmektedir (Hernandez, Cardell ve Zarate, 2005; Sugita, Ohta, Kuruma ve Sagesaka, 2007).

L.plantarum suşları (R22, R23 ve R37), *S. aureus*'a karşı hiçbir aktivite göstermediği bildirilmiştir. İzolatların, LAB ve diğer Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler dahil olmak üzere geniş bir bakteri türü yelpazesine karşı aktif olan farklı antimikrobialları üretebileceğini gösterdiği bildirilmiştir (Mugampoza, Gkatzionis, Swift, Rees ve Dodd, 2020).

Hanol Bektaş (2016) çalışmasında *E. coli* O157:H7 patojeni üzerindeki antimikrobiyal etkisi 75 bakteri izolatının 0–14 mm arasında değiştiğini bildirmiştir.

Kıray (2017) çalışmasında patojenlere karşı antagonistik aktivitesi incelenen izolatların *E. coli* ATCC 25922 patojenine karşı 12-23 mm çapında antimikrobiyal etki gösterdiği, *E. coli* (AEÜ2) patojenine karşı ise 11-14 mm çapında antimikrobiyal etki gösterdiğini bildirmiştir. Vajinal suşları tarafından en zayıf antimikrobiyal aktivite %15 oranla *S. aureus* ATCC 29213 suşuna karşı oluşturulmuştur. Kıray (2017)'nin araştırma sonucu ile bizim sonuçlarımız paralellik göstermiş, *Ln.citreum*, *Lc.lactis*, *L.paracasei*, *L.brevis* izolatlarının *S.aureus*'e karşı antimikrobiyal etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Akpınar (2015) çalışmasında asitlik gelişimi iyi olan 89 adet *Lactobacillus spp.* ve 54 adet *Streptococcus spp.* izolatlarına antibakteriyel aktivite testi yapılmış ve test mikroorganizması olarak *E.coli*, *L.monocytogenes*, *S.aureus* kullanılmıştır. *Lactobacillus spp.*'lerin antibakteriyel aktivite zon ölçümleri *L.monocytogenes* 0-2,1 cm, *S. aureus* 0-1,9 cm, *E.coli* 0-2 cm arasında ve *Streptococcus spp.*'lerin antibakteriyel aktivite zon ölçümleri *L.monocytogenes* 0–0,7 cm, *S.aureus* 0-0,7 cm, *E.coli* 0–0,7 cm arasında değiştiğini bildirmiştir.

Kaya (2019) çalışmalarında üç spesifik bakteriyosin üreticisi *L.plantarum*, *E.faecalis* ve *L.delbrueckii* subsp. *lactis* suşlarının sırasıyla *B.cereus*, *L.monocytogenes* ve *S.aureus* türlerinin suşlarına karşı spesifik etkilerinin bulunduğunu bildirmiştir.

Sharma vd. (2021) çalışmalarında kullanılan *Lc.lactis* (cam 12), *Enterococcus lactis* (cam 14) and *L.plantarum* (cam 15) suşlarının, patojenik mikroorganizmaların gelişmesi üzerine önemli bir inhibitör etki gösterdiği bildirilmiştir. *E.lactis* ve *L.plantarum* izolatlarının *S.aureus*, *E.coli* üzerinde daha güçlü bir etki gösterirken, *Lc.lactis* izolatının, *E.coli* üzerinde

normal bir inhibitör etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Seçilen LAB suşlarının antimikrobiyal maddeler (organik asitler ve bakteriyosinler) üretebildiğini ve gıda koruyucu olarak kullanılma potansiyeline sahip oldukları gösterilmiştir. Farklı bir çalışmada da ise LAB izolasyon kaynağının geniş bir patojen yelpazesine karşı inhibisyonda önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Annuk, Shchepetova, Kullisaar, Songisepp, Zilmer ve Mikelsaar, 2003).

Akepaer (2015) çalışmasında *E.coli* ATCC 11229, *E.coli* O157:H7, *Bacillus cereus* RSKK 863, *S.Enteritidis* ATCC 13076, *S.aureus* ATCC 25923 ve *L.monocytogenes* ATCC 7644 5 referans kültür patojen mikroorganizmaları kullanılarak laktik asit bakterilerinin inhibisyon özelliği araştırılmış bulunan sonuçlara göre; tüm suşlar *E. coli* ATCC 11229 karşı antimikrobiyal etki gösterirken, en yüksek antimikrobiyal aktivite *Lc. lactis* (33) (4,5 mm) zon çapında olduğu, *Lc.lactis subsp.lactis* (35), *Ent. faecium* 3 suşları dışında diğer suşların *E.coli* O157:H7 patojenine karşı antimikrobiyal etki gösterdiği, tüm suşların *S.Enteritidis* ATCC 13076, *S.aureus* ATCC 25923, *L.monocytogenes* ATCC 7644 patojenlere karşı antimikrobiyal etki gösterdiği bulunmuştur.

Aslım vd. (1999) çalışmalarında sucuk ve sosis örneklerinden 39 adet *L.plantarum* suşundan 2'sinin *E.coli* (K12)'yi inhibe etmediği halde, 37 suşun ise 3,90-10,20 mm yarı çap arasında inhibisyon zonu oluşturarak etkili inhibisyon oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Kang, Gu ve So, (2018) çalışmalarında antimikrobiyal aktivite için test edilen 8 LAB izolatu arasında altısının, *V.parahaemolyticus* suşlarına karşı güçlü antimikrobiyal aktiviteleri (inhibisyon zonu çapları>17 mm) olduğu bildirilmiştir.

Le ve Yang (2018) çalışmalarında fermente edilmiş ve tuzlanmış karidesten izole edilen laktik asit bakterileri Anti-Vibrio aktivitesi için test edilen 215 bakteri arasında 5 LAB, 4 ila 10 mm arasında değişen net inhibisyon bölgesi çapları gösterdiği bildirilmiştir.

Son zamanlarda, LAB suşları tarafından salgılanan yeni bakteriyosinlerin tanımlandığını ve bunların Gram pozitif ve Gram negatif patojenlere karşı çok çeşitli antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir (Kim, Young, Gunther ve Lee, 2015).

4.5. LAB izolatlarının antibiyotiklere karşı direnci

LAB izolatlarının Tetracycline (TE), Cefixime (CFM), Amoxycillin (AML), Ampicillin (AMP) ve Streptomycin (S) antibiyotiklerine karşı direnci CLSI önerilerinde yer alan sınır

değerlere göre yorumlanmıştır. Zon çapı (mm) ≥ 20 ise Duyarlı, 15-19 ise Intermediate (orta) (I), ≤ 14 ise Dirençli (R) olarak yorumlanmıştır. LAB izolatlarının antibiyotik direnci Çizelge 4. 4' de verilmiştir.

Çizelge 4. 4. LAB izolatlarının Antibiyotik Direnci

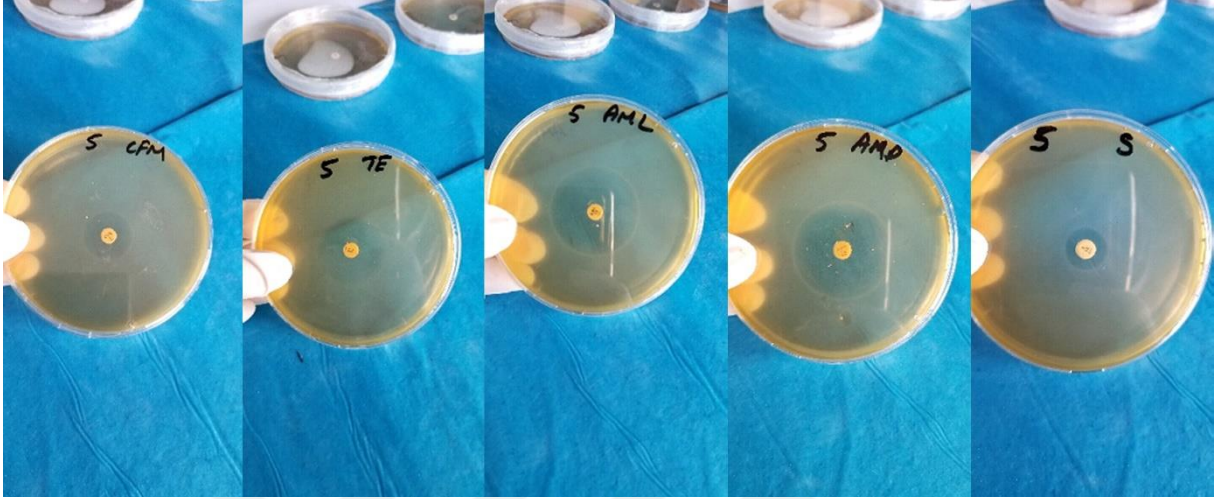
İzolat Adı	TE (10µg)	CFM (5µg)	AML (10µg)	AMP (10µg)	S (10µg)
<i>Leunocostoc citreum</i> M26F	38,17±1,21 ^a	-	36,31±0,97 ^b	33,69±1,70 ^{bc}	-
<i>Leunocostoc lactis</i> M31F	19,92±2,75 ^{ef}	11,45±0,48 ^{de}	29,10±5,07 ^{de}	24,08±1,51 ^e	10,95±0,48 ^{bc}
<i>Lactococcus lactis</i> M24F	24,53±3,60 ^{cd}	13,15±2,29 ^{cd}	27,07±2,25 ^e	25,85±6,18 ^e	10,05±0,37 ^e
<i>Lacticaseibacillus</i> <i>paracasei</i> M32F	28,24±0,45 ^{bc}	14,53±1,08 ^c	29,78±0,99 ^{cd}	29,24±0,99 ^{cde}	11,98±0,42 ^{ab}
<i>Lactiplantibacillus</i> <i>plantarum</i> M15F	23,19±1,46 ^{de}	20,61±2,07 ^b	34,53±1,27 ^{bc}	32,29±0,81 ^{bcd}	9,60±2,01 ^c
<i>Lactobacillus pentosus</i> M7F	20,47±1,15 ^{def}	26,83±1,29 ^a	43,12±1,17 ^a	41,35±0,86 ^a	-
<i>Levilactobacillus brevis</i> M18F	17,41±0,96 ^f	9,63±0,66 ^e	27,29±1,07 ^e	28,22±0,64 ^{de}	-
<i>Limosilactobacillus</i> <i>fermentum</i> M3F	20,21±1,01 ^{ef}	10,50±0,42 ^{de}	33,69±1,06 ^{bc}	35,10±0,88 ^b	-
<14 Dirençli (R)		15-19 Orta (Intermediate)		>20 Duyarlı (S)	

± Standart sapmayı ifade etmektedir. Aynı sütunda yer alan rakamlar üzerinde üstsel olarak gösterilen harfler gruplar arasındaki istatistikî farklılıkları ($P < 0,05$) belirtmektedir.

Çizelge 4. 4' de görüldüğü gibi protein sentezini inhibe eden tetrasiklinler grubundan Tetracycline (TE) antibiyotiğine karşı *Ln.lactis* (M31F), *L.brevis* (M18F) izolatlarının orta diğer izolatlarının ise duyarlı oldukları tespit edilmiştir. Cefixime (CFM) antibiyotiğine karşı *L. pentosus* (M7F), *L.plantarum* (M15F) izolatlarının duyarlı olduğu; *Ln.citreum* (M26F), *Ln.lactis* (M31F), *Lc.lactis* (M24F), *L. paracasei* (M32F), *L.brevis* (M18F), *L.fermentum* (M3F) izolatlarının dirençli oldukları belirlenmiştir. Amoxicilline (AML) ve hücre duvar sentezini inhibe eden Ampicillin (AMP) antibiyotiğine karşı tüm izolatların duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Streptomycine (S) antibiyotiğine karşı tüm izolatların direnç gösterdikleri belirlenmiştir. İzolatların antibiyotik direnci sonuçları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuş ($p < 0,05$), sonuçlar Çizelge 4. 4' de farklı harflerle gösterilmiştir.

Literatürde LAB'de aminoglikozid (gentamisin ve streptomisin) ve glikopeptid (vankomisin) direnci bildirilmiştir, bu da (çoğu durumda) zarlarının geçirimsizliğinden kaynaklanan doğuştan gelen dirençleriyle, muhtemelen bir direnç dışı akış mekanizması yoluyla ilişkilendirilmiştir (Liasi vd., 2009).

Şekil 4. 6' de *Lactococcus lactis* bakterisinin sırasıyla Cefixime (CFM), Tetracycline (TE), Amoxicilline (AML), Ampicillin (AMP), Streptomycine (S) antibiyotiklerine karşı dirençleri görülmektedir.



Şekil 4. 6. *Lc.lactis* bakterisinin sırasıyla Cefixime(CFM), Tetracycline(TE), Amoxicilline (AML), Ampicillin(AMP), Streptomycine(S) antibiyotiklerine direnci

Yaygın olarak kullanılan bir dizi insan ve veteriner antibiyotiklerine duyarlılık, tüm potansiyel probiyotik suşları için değerlendirilmelidir. Bu prosedür, konakçı için zararlı olabilecek transfer edilebilir antibiyotik direnç genlerine sahip potansiyel probiyotik suşların saptanmasında önemlidir (Reuben vd., 2020).

Reuben vd. (2020) çalışmalarında izolatların %75'inin streptomisine direnç gösterirken, izolatların %75'i ampisiline, %50' si de tetrasikline duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca keçi sütünden elde edilen LAB suşlarında inek sütünden elde edilenlere kıyasla antibiyotik direnci düşük olduğu bildirilmiştir. Antibiyotik duyarlılığının ve LAB direncinin de farklı türlere göre değiştiği ileri sürülürken (Solieri vd., 2014), benzer şekilde LAB'nin kaynağı ve coğrafi konumu da potansiyel probiyotik suşlarının antibiyotik duyarlılık modellerini belirleyen faktörlerden olduğu bildirilmektedir (Anandharaj ve Sivasankari, 2014).

Purutoğlu vd. (2020) çalışmalarında kefir izolatlarının genel olarak antibiyotik direnci düşük seviyelerde olduğu ve izolatların önemli bir kısmı test edilen antibiyotiklere duyarlı olduğu bildirilmiştir. *Lactobacillus diolivorans* (KF2), *Lactobacillus kefir* (KF25), *Acetobacter okinawensis* (KF76), *L. paracasei* (KF83) ve *Lactobacillus kefiranofaciens* (KF16)

streptomisine dirençli olduğu bildirilirken, tetrasikline ve ampisilin antibiyotiğine duyarlı oldukları bildirilmiştir.

Ispirli ve Dertli (2017) *Limosilactobacillus fermentum* (KR1, KR2, KR8, KR10, KR17, AS1, AS3, AS13), *Lactobacillus helveticus* (AS15) izolatlarının tetrasikline duyarlı iken, tüm suşların streptomisine dirençli olduğu, benzer şekilde Wang, Yang, Liu, Zhang, Wei ve Fan, (2018) çalışmalarındaki 10 suşun tamamı ampisiline duyarlı olduğu ve LAB suşlarının yüksek bir yüzdesi (%60) tetrasikline duyarlı olduğu bildirilmiştir. *L. plantarum* izolatu (CB9) ve (CB10), çalışmalarında test edilen sekiz antibiyotiğin altısına duyarlı olduğu bildirilmiştir.

Ertekin ve Çon (2014) çalışmalarında çeşitli fermente gıdalardan izole edilmiş 26 adet izolatu Ampicillin, Streptomycin, Tetracycline antibiyotiklerine karşı duyarlılık testleri Dirençli, Yarı-hassas, Hassas şeklinde gruplandırılmış ve Streptomycin antibiyotiğine karşı bütün izolatların dirençli olduğu bildirilmiştir. Ampicillin antibiyotiğine karşı bazı izolatların direnç gösterirken bazı izolatların hassas olduğu bildirilmiştir. Tetracycline antibiyotiğine karşı *L.plantarum* (O22b), *L.brevis* (DSM20054), *L.curvatus* (O32) direnç gösterirken diğer bütün izolatların hassas olduğu bildirilmiştir.

Alp ve Öner (2014) çalışmalarında çiğ süttten üretilen beyaz ve kaşar peynirlerinden izole edilmiş 123 laktik asit bakterisinden 33 laktobasil, 46 Laktokok, 44 Enterokok olarak belirlenmiş. Tetrasiklin (30 mg) antibiyotiğine karşı 45 laktik asit bakterisi dirençli bulunmuş bunlardan 7'si Laktobasil, 19'u Laktokok, 19'u Enterokok olarak bildirilmiştir. Ampisilin (10 mg)' e karşı laktokoklardan 1 laktik asit bakterisi direnç göstermiş fakat 122 izolat duyarlı olduğu bildirilmiştir.

Er (2016) çalışmalarında disk difüzyon tekniği ile 63 vajinal laktik asit bakterisinin antibiyotik dirençliliği ampisiline ve tetrasikline antibiyotikleri incelenmiş ve 21 tanesinin ampisiline direnç gösterirken 42 izolatu ampisiline duyarlı olduğu, protein sentezini etkileyen antibiyotik grubundan olan tetrasikline karşı 21 tanesi tetrasikline antibiyotiğine karşı dirençli iken 42 izolatu duyarlı olduğunu bildirmiştir.

Kook, Chung, Lee, Lee ve Kim, (2019) *E. faecalis* (BioE EF71), *L. fermentum* (BioE LF11), *L. paracasei* (BioE LP08), *L. plantarum* (BioE LPL59), *S. thermophiles* (BioE ST107), *L. rhamnosus* (GG) laktik asit bakterilerinin ampicillin (AMP)'e karşı bütün izolatların duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Streptomycin antibiyotiğine karşı bütün izolatların dirençli olduğu,

Tetracycline antibiyotiğine karşı sadece *E. faecalis* (BioE EF71) bakterisinin dirençli olduğunu diğerlerinin ise duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Pediococcus acidilactici, *L. brevis* (OZV) suşlarının Ampicillin, Streptomycin, Tetracyclin antibiyotiklerine karşı dirençli olduğu saptanmıştır. Amoxycilline karşı ise *P. acidilactici* suşunun yarı hassas iken, *L. brevis* (OZV) suşunun dirençli olduğu bildirilmiştir (Turhan Eryılmaz, 2011).

Gezginç (2010) çalışmasında yoğurt örneklerinden izole edilen *S.thermophilus* ve *Lb.bulgaricus*'tan oluşan toplam 150 suş'un ampisilinin ve tetrasiklin antibiyotiklerine dirençleri; ampisilinin tüm izolatlar içerisinde %30' unun dirençli olduğunu belirlemiş, bu %30 içerisinde %53' ünün *S.thermophilus* ve %47'sinin ise *Lb.bulgaricus* olduğunu bildirmiştir. Tetrasiklin için tüm izolatlar içerisinde %29' unun dirençli olduğu belirlenmiş, bu %29 içerisinde %44'un *S.thermophilus* ve %56'inin ise *Lb.bulgaricus* olduğu bildirilmiştir.

Kıray (2017) çalışmasını 21 adet suştan protein sentezini inhibe eden tetrasiklinler grubundan tetrasiklin antibiyotiğine karşı suşların %80'inin duyarlı olduğunu tespit etmiştir ve sadece *L.crispatus* (L5), *L. plantarum* (L21)'un dirençli olduğunu bildirmiştir. Hücre duvar sentezini inhibe eden ampisilin antibiyotiklerine karşı bütün suşların duyarlı olduklarını Streptomycin direnç oranını %25 olarak belirlemiştir.

Goswami vd. (2017) çalışmalarında *Enterococcus durans*, *L.plantarum*, *L.fermentum*, *L.casei* izolatlarının Ampisilin ve tetrasiklin antibiyotiklerine duyarlı oldukları bildirilmiştir.

4.6. LAB izolatlarının optimum gelişme sıcaklıkları

LAB izolatlarının optimum gelişme sıcaklıklarının belirlenmesi için izolatlar 4, 15, 30 ve 45°C sıcaklıklarda inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda tüm izolatlarda [*L.fermentum* (M3F), *L.brevis* (M18F), *Ln.citreum* (M26F), *L.pentosus* (M7F), *L.plantarum* (M15F), *Ln.lactis* (M31F), *Lc.lactis* (M2F), *L.paracasei* (M32F)] gelişme tespit edilmiştir. LAB izolatlarının gelişme sıcaklıkları Çizelge 4.5' de verilmiştir.

Çizelge 4.5' de görüldüğü gibi *L.plantarum* (M15F), *L.pentosus* (M7F), *L.brevis* (M18F) ve *L.fermentum* (M3F) 4°C'de zayıf gelişme gösterirken, diğer sıcaklıklarda iyi gelişme gösterdiği belirlenmiştir. 30°C'de ise aynı bakteriler iyi gelişme göstermiş, *L.plantarum* (M15F) ise 30°C'de çok iyi gelişme gösterdiği tespit edilmiştir. 45°C'de

L.fermentum (M3F)'un çok iyi gelişme gösterdiği, diğer izolatların ise iyi gelişme gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4. 5. LAB İzolatlarının Gelişme Sıcaklıkları (°C)

İzolat Adı	Sıcaklığa Dayanıklılık			
	4°C	15°C	30°C	45°C
<i>Leunocostoc citreum</i> (M26F)	++	++	++	++
<i>Leunocostoc lactis</i> (M31F)	++	++	++	++
<i>Lactococcus lactis</i> (M24F)	++	++	++	++
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> (M32F)	++	++	++	++
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> (M15F)	+	+++	++++	++
<i>Lactobacillus pentosus</i> (M7F)	+	++	+++	++
<i>Levilactobacillus brevis</i> (M18F)	+	++	+++	++
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> (M3F)	+	++	+++	+++

-: OD <0,10 negatif; (bulanıklık yok)

+: OD 0,10-0,30 pozitif zayıf gelişme (az bulanık)

++: OD 0,31-0,50 pozitif iyi gelişme (orta bulanık)

+++ : OD> 0,60 pozitif çok iyi gelişme (çok bulanık)

Goswami vd. (2017) *Ent.durans*, *L.plantarum*, *L.fermentum*, *L.casei* izolatlarının 15°C, 30°C, 37°C, 40°C'de gelişme gösterdiği bildirilirken 4°C, 45°C, 50°C'de gelişme gözlemlenmediği bildirmişlerdir.

Tatlı su balıklarından izole edilen laktik asit bakterilerinden *L.fermentum*, *L.plantarum*, *Lc.lactis*, *L.brevis*, *L.salivarius*, *L.acidophilus*, *L.helveticus* izolatlarının bulunduğu 75 izolattın tamamının 10, 15 ve 45°C'de gelişebildikleri bildirilmiştir. 4°C'de ise 62 izolatın gelişme gösterdiği bildirilmiştir (Hanol Bektaş, 2016)

Kırmacı (2010) geleneksel urfa peynirinden izole edilen 143 laktik asit bakterisi olarak tanımlamış ve 10 ve 45°C gelişimleri incelenmiş *Enterococcus* cinsi bakterilerin tamamının 10 ve 45°C gelişim gösterdiği belirlenmiştir. 58 *Lactococcus* spp. suşundan 12'sinin 45°C'de gelişme gösteremediği, 13 suşun zayıf, 33 suşun ise tamamen gelişim gösterdiği tespit edilmiştir.

Turşu örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinden 59 suşun *L.brevis*, *L.pentosus*, *L.plantarum*, *L.collinoides* ve *L.buchneri* olduğu tespit edilmiştir. 58 suşun tamamı 15°C'de gelişme gösterdiği bildirilmiştir. *L.brevis* (102) ve (S1T1) suşları, *L.pentosus* (51), *L.plantarum* (19) ve (21) suşlarının 45°C'de gelişebildiği fakat diğer suşların gelişme göstermediği bildirilmiştir. Zeytinlerden izole edilen 46 suş *L.pentosus*, *L.plantarum*, *Leu.mesenteroides* olduğu tespit edilmiş olup bu izolatların tamamının 15°C'de gelişme gösterdiği bildirilmiştir. 36 suşun da 45°C'de gelişme gösterdiği bildirilmiştir (Yıldız, 2011).

Badis, Guetarni, Boudjema, Henni ve Kihal (2004) çalışmalarında *L.helveticus*, *L.delbrueckii subsp.bulgaricus*, *L.rhamnosus*, *L.acidophilus*, *L.animalis*, *S.thermophilus*, *Ln.mesenteroides subsp.dextranicum*, *L.pseudomesenteroides* suşlarının 45°C’de gelişme gösterdiklerini bildirmişlerdir.

Ertekin ve Çon (2014) çalışmalarında çeşitli fermente gıdalardan izole edilmiş ve tanımlanmış *Pediococcus pentosaceus*, *Lc.lactis*, *L.plantarum*, *L. brevis*, *L.curvatus*, *L.paracasei*, *L.helveticus*, *L.pentosus* 26 adet izolatin 15°C’de bütün izolatların geliştiği, 45°C’de *P.pentosaceus* ve *L.plantarum* (O58)’un geliştiği diğer izolatların gelişemediği bildirilmiştir.

Ertürkmen ve Öner (2015) yaptığı çalışmada 25 adet izole edilen laktokoklardan 23 adedi *Lc.lactis* 2 adedi *Lc.diacetylactis* izolatin 10°C’de 18 izolatin gelişme gösterdiği 15°C’de ise bütün izolatların gelişme gösterdiği gözlemlenirken 45°C’de ise 12 izolatin gelişme gösterdiği belirlenmiştir. 22 adet izole edilen Enterekokların 6 adedi *E. faecalis* 16 adedi ise *Enterococcus spp* dir. 10°C’de 11 izolatin gelişme gösterdiği 15 ve 45°C’de de 21 izolatin gelişme gösterdiği gözlemlenmiştir. 29 adet izole edilen Laktobasillerin 19 adedi *Lactobacillus spp* 10 adedi *L.plantarum* dur. 15°C’de 28 izolatin gelişme gösterdiği 45°C’de 22 izolatin gelişme gösterdiği bildirilmiştir.

Uzundağ, Yüksekdağ ve Uludağ, (2020) çalışmalarında Ankara ilinin farklı bölgelerinden temin edilen serbest dolaşan köy tavuklarının gastrointestinal sisteminden 6 izolatu *Lactobacillus salivarius*, 2 izolatin *Lactobacillus agilis*, 2 izolatin *Lactobacillus reuteri* ve 1 izolatin da *Lactobacillus saerimneri* olduğunu belirlemiş ve 15, 30, 45 ve 50°C’de gelişmeleri gözlemlenmiş ve 30 ve 45°C bütün izolatlar geliştiğini, 15 ve 50°C’ de aynı izolatlarda gelişme görülmediğini bildirmişlerdir.

Er (2016) çalışmasında vajenden izole edilen LAB izolatlarının farklı sıcaklıklardaki gelişimleri değerlendirmiş, 111 LAB izolatdan 4°C’de 27’si gelişim gösterirken, 84 tanesi gelişim göstermediğini, 15°C’de 28 izolatda gelişim görüldüğünü, 83 tanesinde gelişim görülmediğini, 45°C’de ise 99 izolatda gelişim görüldüğünü ve 12 tanesinde gelişim görülmediğini bildirmiştir.

4.7. LAB izolatlarının farklı NaCl konsantrasyonunda Gelişimi

LAB izolatlarının farklı NaCl konsantrasyonunda gelişim sonuçları Çizelge 4.6' de verilmiştir. Tüm izolatların %2 NaCl ve %6 NaCl varlığında iyi gelişme gösterdiği, %10 NaCl varlığında ise *L.plantarum* (M15F), *L.pentosus* (M7F), *L.brevis* (M18F), *L.fermentum* (M3F) bakterileri zayıf gelişme gösterirken diğer izolatların hiçbirinde gelişme görülmediği tespit edilmiştir. *L.plantarum* (M15F), *L.pentosus* (M7F), *L.brevis* (M18F), *L.fermentum* (M3F) izolatları kontrol ortamında yani %0 NaCl varlığında çok iyi gelişme gösterirken, %2 NaCl varlığında *L.brevis* (M18F), *Ln.citreum* (M26F), *Ln.lactis* (M31F), *Lc.lactis* (M24F) ve *L.paracasei* (M32F) iyi gelişme göstermiş *L.plantarum* (M15F), *L.pentosus* (M7F) ve *L.fermentum* (M3F) bakterileri ise çok iyi gelişme göstermiştir.

Çizelge 4. 6. LAB İzolatlarının Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Gelişimi

İzolat Adı	NaCl Dayanıklılık			
	Kontrol	2%	6%	10%
<i>Leunocostoc citreum</i> M26F	++	++	++	-
<i>Leunocostoc lactis</i> M31F	++	++	++	-
<i>Lactococcus lactis</i> M24F	++	++	++	-
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> M32F	++	++	++	-
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> M15F	+++	+++	++	+
<i>Lactobacillus pentosus</i> M7F	+++	+++	++	+
<i>Levilactobacillus brevis</i> M18F	+++	++	++	+
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> M3F	+++	+++	++	+

-: OD <0,10 negatif; (bulanıklık yok)

+: OD 0,10-0,30 pozitif zayıf gelişme (az bulanık)

++:OD 0,31-0,50 pozitif iyi gelişme (orta bulanık)

+++ : OD>0,60 pozitif çok iyi gelişme (çok bulanık)

Probiyotik potansiyeli belirlemenin ilk adımın in vitro testler olduğu (Vieira vd., 2013), bağırsak yolunu kolonize etme yeteneği, probiyotik bakterilerin temel özelliği olduğu (Balcázar vd., 2006), bu nedenle, pH, NaCl ve safra tuzlarına direnç gibi spesifik in vitro testlerin yeterli probiyotik seçimine yardımcı olacağı bildirilmiştir (Vieira vd., 2013).

L. plantarum gibi probiyotik olarak kullanılan bazı laktik asit bakterileri, farklı tuzluluk seviyelerine direnç göstermektedir (Ricciardi, Parente, ve Zotta, 2009; Vieira vd., 2013). Bu nedenlerle, mide asiditesi, farklı tuzluluk konsantrasyonları ve safra enzim aktivitesi gibi probiyotikle kolonizasyonu mümkün kılan faktörlere direnç gösterir. Bağırsak yolunda kolonileşen bakteriler, besinler ve alan içinde rekabet yoluyla patojenik bakterileri inhibe etmektedir (Jatobá, Pereira, Vieira, Bitencourt, Rodrigues, Fachini vd., 2018; Sayes, Leyton ve Riquelme, 2018).

Bir probiyotiğin insan bağırsağında etkili olabilmesi için yüksek konsantrasyonda NaCl'ye toleranslı olması gerekmektedir. NaCl konsantrasyonu, ne kadar bakterinin toksik ve ozmotik şoku tolere edebildiğini ölçen bir ölçek olması nedeniyle NaCl toleransı önemli bir parametre olarak kabul edilmektedir (Hassan, Nayab, Shafique, Williamson, Almansouri, Asim vd., 2020).

Bazı gıda fermantasyonları sırasında LAB, yüksek tuz ortamına maruz kalması nedeniyle *L.plantarum* (SK1), (CB9) ve (CB10) izolatlarının, %6,5 NaCl varlığında gelişen, yüksek tuz toleransı gösterdikleri bildirilmiştir (Wang vd., 2018).

L.plantarum izolatları ve *L.helveticus* izolatları %1-4 NaCl konsantrasyonunda gelişme gösterirken, daha yüksek %6'dan %7'ye kadar NaCl konsantrasyonunda bakteri üremesinin azaldığı bildirilmiştir (Hassan vd., 2020).

Paixão vd. (2020) *L.plantarum* izolatlarının (ST01, ST02, ST03, ST04, ST05) %3 ve %4,5 NaCl konsantrasyonunda gelişim gösterdiği belirlenmiştir.

Goswami vd. (2017) çalışmalarında *Enterococcus durans*, *L.plantarum*, *L.fermentum*, *L.casei*'nin %4 ve 5 NaCl varlığında geliştiği, %6 NaCl varlığında sadece *E.durans*, *L.plantarum*'un geliştiği, %7, 8, 9 NaCl varlığında ise izolatların gelişmediği bildirilmiştir.

Tatlı su balıklarından izole edilen laktik asit bakterilerinin %2 ve 4 tuz ortamında bütün izolatların geliştiği gözlenirken, %6,5 tuz ortamında ise bazı izolatların gelişmediği, bazılarının da zayıf gelişme gösterdiği belirlenmiştir (Hanol Bektaş, 2016)

Kırmacı (2010) geleneksel urfa peynirinden izole edilen 143 laktik asit bakterisi olarak tanımlanmış ve %2 NaCl, %4 NaCl ve %6,5 NaCl oranlarında gelişimlerini Laktokok grubu bakterilerin büyük bir çoğunluğu (%74,57) %6,5 NaCl' de gelişim gösterdiği ortaya konmuştur. *Enterococcus* cinsi bakterilerin tamamının %6,5 NaCl konsantrasyonunda gelişim gösterdiği belirlenmiştir.

Yıldız (2011) araştırmasında turşu örneklerinden ve zeytinlerden izole edilen LAB'den %4, 6,5, 8, 10 ve 12 tuz konsantrasyonlarında gelişmeleri incelenmiş, *Lactobacillus* olarak tanımlanan izolatlardan 15'i *L.brevis* olduğu, bu izolatların tamamının %4- 6,5 ve 8 tuz konsantrasyonlarında geliştiği, *L.brevis* (2), (57), (92), (S1T1), (S6T2), (PyT2) suşlarının ise %10 tuz konsantrasyonunda da geliştiği belirlenmiştir. *Lactobacillus* izolatlarından 10'u da *L.collinoides* olduğu, izolatların tamamının %4 ve 6,5 tuz konsantrasyonunda gelişebildiği

tespit edilmiştir. *L.collinoides* (122), (S4T1), (S7T2), (P7T2) ve (P1T1) suşlarının ise %8 tuz konsantrasyonunda geliştikleri fakat *L.collinoides*'in hiçbir suşunun %10 ve 12 tuz konsantrasyonlarında gelişemediği belirlenmiştir. *Leuconostoc mesenteroides*'e ait her iki suşun da %4 ve 6,5 tuz konsantrasyonunda gelişebildikleri, %8, 10 ve 12 tuz konsantrasyonlarında ise gelişemedikleri belirlenmiştir.

Ertekin ve Çon (2014) araştırmalarında çeşitli fermente gıdalardan izole edilmiş 26 adet izolatin %6,5 NaCl varlığında bütün izolatların gelişme gösterdiği, %8 NaCl varlığında ise *Lc.lactis* subsp. *lactis* (O3) ve *L.plantarum* (O20) dışındaki 24 izolatin gelişme gösterdiği, %9 NaCl varlığında ise 4 izolatin gelişmediği diğer izolatların gelişme gösterdiği bildirilmiştir.

Ertürkmen ve Öner (2015) beyaz peynir örneklerinden izole edilen LAB 25 adet laktokoklardan 23 adedi *Lc. lactis* 2 adedi *Lc. diacetylactis* izolatlardan 20 izolatin %4 NaCl varlığında gelişme gösterdiği, %6,5 NaCl' de ise 10 izolatin gelişme gösterdiği belirlenmiştir. 22 adet izole edilen Enterekokların 6 adedi *E.faecalis* 16 adedi ise *Enterococcus* spp dir. Bütün izolatların %4 NaCl de gelişme gösterdiği, %6,5 NaCl' de 19 izolatin gelişme gösterdiği, 29 adet izole edilen Laktobasillerin 19 adedi *Lactobacillus* spp. 10 adedi *L.plantarum* olup 23 izolatin %4 NaCl de gelişme gösterdiği, 14 izolatin %6,5 NaCl'de gelişme gösterdiği bildirilmiştir.

Er (2016) vajenden izole edilen LAB'lerinin farklı tuz konsantrasyonlarındaki gelişimlerine bakıldığında, 111 LAB'sinden %6 NaCl içeren ortamda 40'ının geliştiği, 57 izolatin gelişmediği, 4 izolatin belirsiz sonuç verdiği, %7,5 NaCl içeren ortamda 28 izolatin geliştiği, 69 izolatin gelişmediği, 4 izolatin belirsiz sonuç verdiği, %10 NaCl içeren ortamda ise 18 izolatin geliştiği, 90 izolatin gelişmediği ve 3 izolatin ise belirsiz sonuç verdiği bildirilmiştir.

Uzundağ vd. (2020) çalışmalarında Ankara ilinin farklı bölgelerinden temin edilen serbest dolaşan köy tavuklarının gastrointestinal sisteminden 6 izolatin *Lactobacillus salivarius*, 2 izolatin *Lactobacillus agilis*, 2 izolatin *Lactobacillus reuteri* ve 1 izolatin da *Lactobacillus saerimneri* olduğu tespit edilmiş ve %2, 4 ve 6,5 tuz konsantrasyonlarında gelişmeleri incelenmiştir. %2 ve 4 tuz oranında bütün izolatların gelişme gösterdiği %6,5 tuz oranında ise *L.salivarius* (722), *L.salivarius* (721), *L.acidophilus* (911), *L.fermentum* (713)' de gelişme belirlenirken diğer izolatlarda gelişme olmadığı bildirilmiştir.

4.8. LAB izolatlarının farklı pH değerlerinde gelişimi

Bozadan izole edilen LAB izolatların farklı pH değerlerinde gelişmesi Çizelge 4.7' de verilmiştir. Tüm izolatlarda 6 ve 9,6 pH da gelişme belirlenirken, 2 ve 3,5 pH da *L.plantarum* (M15F), *L.pentosus* (M7F), *L.brevis* (M18F), *L.fermentum* (M3F) izolatların gelişme gösterdiği diğer izolatların ise bu pH değerlerinde gelişmediği tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 7. LAB İzolatlarının farklı pH değerlerinde gelişimi

İzolat Adı	pH Değerleri			
	2	3,5	6	9,6
<i>Leunocostoc citreum</i> M26F	-	-	+	+
<i>Leunocostoc lactis</i> M31F	-	-	+	+
<i>Lactococcus lactis</i> M24F	-	-	+	+
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> M32F	-	-	+	+
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> M15F	+	+	+	+
<i>Lactobacillus pentosus</i> M7F	+	+	+	+
<i>Levilactobacillus brevis</i> M18F	+	+	+	+
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> M3F	+	+	+	+

-: negatif; +: pozitif

pH direnci, probiyotik bakterilerin en önemli özelliklerinden biridir (Succi, Tremonte, Reale, Sorrentino, Grazia, Pacifico, ve Coppola, 2005; Vieira vd., 2013). Son, Jeon, Lee, Park, Kang ve Paik (2017) yaptıkları çalışmada *L.plantarum* bakterisinin düşük pH seviyelerinde iyi geliştiğini ifade etmişlerdir. Probiyotik bakterilerin diğer izole edilmiş bakteriler ile karşılaştırıldığında hem asit pH (2,5) hem de alkali pH (9,0) için pH direncinin olduğu, bu özellik ile probiyotik bakterilerin konağın diyetinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Sayes vd., 2018). Ancak, düşük pH veya safra konsantrasyonuna karşı dirençli mekanizmanın suşa ve türe bağımlı olduğu da bildirilmiştir (Aarti, Khusro, Varghese, Arasu, Agastian, Al-Dhabi, vd., 2017). Başka bir çalışmada, Paixão vd. (2020) *L.plantarum* izolatlarının pH (2,5, 5 ve 9) gelişebildikleri, en düşük direncin, (ST02) ve (ST04) suşlarına olduğunu bildirmişlerdir.

Mishra ve Ghosh (2018) çalışmalarında iki farklı zamanda (2 ve 4 saat) pH 3,5'te bakterilerin canlı kalabilmelerini incelemiş ve 16 izolattan sadece 12 izolatın asidik ortamda canlı kalabildiğini bildirmişlerdir.

Goswami vd. (2017) *Ent.durans*, *L.plantarum*, *L.fermentum*, *L.casei*' nin gelişebildiği en düşük pH 4 olarak belirlemişlerdir.

Ertekin ve on (2014) alışmalarında çeşitli fermente gıdalardan izole edilmiş 26 adet izolatın 9,6 pH da bütün izolatların geliştiği, *L.lactis* subsp.*lactis* (O3) ve *L.helveticus* (O16) dışında bütün izolatların 3,5 pH da gelişme gösterdikleri, pH 3’de ise 5 izolat haricinde hiçbir izolatın gelişme göstermediği tespit edilmiştir.

Uzundağ vd. (2020) alışmalarında Ankara ilinin farklı bölgelerinden temin edilen serbest dolaşan köy tavuklarının gastrointestinal sisteminden 6 izolatın *Lactobacillus salivarius*, 2 izolatın *Lactobacillus agilis*, 2 izolatın *Lactobacillus reuteri* ve 1 izolatın da *Lactobacillus saerimneri* olduğu tespit edilmiş ve pH (3,5- 4,5- 8,5 ve 9,5) da gelişebilme özellikleri incelemişlerdir. Tüm izolatların pH 4,5 değerinde iyi gelişme gösterirken pH (3,5- 8,5 ve 9,5) değerlerinde zayıf gelişme gösterdikleri bildirilmiştir.

Ertürkmen ve ner (2015) yaptığı çalışmada beyaz peynir örneklerinden 25 adet izole edilen laktokoklardan 23 adedi *Lc.lactis*, 2 adedi *Lc.diacetylactis* izolatın pH 9,2 değerinde 21 izolatın gelişme gösterdiği belirlenmiştir. 9,6 pH değerinde ise hiçbir izolatın gelişmediği tespit edilmiştir. 22 adet izole edilen Enterekokların 6 adedi *E.faecalis* 16 adedi ise *Enterococcus* spp.’ların 9,2 ve 9,6 pH değerinde bütün izolatların gelişme gösterdiği, 29 adet izole edilen Laktobasillerden 19 adedi *Lactobacillus* spp 10 adedi *L.plantarum*’un. 9,2 pH değerinde geliştiği, pH 9,6 değerinde ise 22 izolatın gelişme gösterdiği belirlenmiştir.

Er (2016) alışmasında vajenden izole edilen LAB izolatlarının farklı pH’lardaki gelişimleri incelenmiş ve 111 LAB’sinden 87 tanesinin pH 3,9’da gelişimi olduğunu, 23 tanesinin ise pH 3,9’da gelişim olmadığını, 1 tanesinin ise belirsiz sonuç verdiğini belirtmiştir. Ayrıca, 111 LAB izolatından 105 izolatın pH 9,6 değerinde geliştiğini, 6 izolatın ise pH 9,6 değerinde gelişmediğini bildirmiştir.

Yıldız (2011) araştırmasında turşu örneklerinden izole edilen LAB’den *Lactobacillus* suşlarının tamamının pH 3,9- 5,0- 7,5 ve 8,5 değerlerinde gelişme gösterdikleri bu cinse ait bazı suşların ise pH 9,6’da gelişirken bazılarının ise zayıf gelişme gösterdikleri bildirilmiştir. Zeytinlerden izole edilen LAB’den *L.pentosus* izolatlarından sadece iki suşun pH 3,9’da gelişemediği, tüm izolatların kullanılan tüm pH aralıklarında gelişebildiği bildirilmiştir. *Leuconostoc mesenteroides*’e ait her iki suşun da pH 3,9’da gelişemediği ancak kullanılan diğer pH aralıklarında gelişebildikleri bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda bulunan sonuçlar, Paixão vd. (2020), Mishra ve Ghosh (2018), Ertekin ve Çon (2014), Ertürkmen ve Öner (2015), Er (2016), Yıldız (2011) bulduğu sonuçlar ile benzerlik gösterirken, Goswami vd. (2017) ve Uzundağ vd. (2020)'ın sonuçlarından farklı çıkmıştır.

4.9. LAB izolatlarının otoliz özelliği

LAB izolatlarının pH 5,5 de Otoliz Oranı ve Otoliz Derecesi (EA) Çizelge 4.8' de verilmiştir. İzolatların Otoliz oranı (RA)'nın 0,007-0,209 ve Otoliz Derecesi (EA)'nin ise 0,014-0,429 aralığında olduğu belirlenmiştir. Çizelge 4.8' de görüldüğü gibi en yüksek RA ve EA değeri *L.brevis* (M18F) olduğu tespit edilmiştir. Diğer izolatlar ise *L.brevis* izolatına göre çok daha düşük RA ve EA derecesine sahiptir. Otoliz derecesi incelendiğinde, en yüksek otoliz derecesi 0,429 ile *L.brevis* olurken, bunu 0,286 ile *L.fermentum* takip etmiştir. Diğer izolatlar bu iki bakteriye göre daha düşük otoliz derecesine sahip olup otoliz derecesi (EA) 0,014 ile 0,13 arasında değişmektedir. İzolatların otoliz oranı ve otoliz derecesi sonuçları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuş ($p<0,05$), sonuçlar Çizelge 4.8' de farklı harflerle gösterilmiştir.

Çizelge 4. 8. LAB İzolatlarının Otoliz Özelliği

İzolat Adı	Otoliz Oranı (RA)	Otoliz Derecesi (EA)
<i>Leunocostoc citreum</i> M26F	0,01±0,007 ^d	0,014±0,007 ^g
<i>Leunocostoc lactis</i> M31F	0,016±0,006 ^d	0,053±0,006 ^e
<i>Lactococcus lactis</i> M24F	0,007±0,006 ^d	0,032±0,007 ^f
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> M32F	0,02±0,004 ^d	0,041±0,004 ^{ef}
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> M15F	0,078±0,006 ^b	0,13±0,006 ^c
<i>Lactobacillus pentosus</i> M7F	0,055±0,005 ^c	0,087±0,005 ^d
<i>Levilactobacillus brevis</i> M18F	0,209±0,004 ^a	0,429±0,004 ^a
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> M3F	0,044±0,003 ^c	0,286±0,004 ^b

± Standart sapmayı ifade etmektedir. Aynı sütunda yer alan rakamlar üzerinde üstsel olarak gösterilen harfler gruplar arasındaki istatistikî farklılıkları ($P<0,05$) belirtmektedir.

Bakteri hücreleri peptidoglikan tabakaları içeren hücre duvarı yapısıyla çevrilidir. LAB hücre içinde bulunan ve aromatik peptitlerin açığa çıkarma özelliklerine sahip peptidazların substratla karşılaşması bu bakterilerin otolizi ile gerçekleşmektedir (Şimşek, 2015). Bunun sonucu olarak uçucu aroma bileşiklerinin oluşumunda ön bileşik olan aromatik, dallanmış zincirli ve sülfür içeren amino asitler açığa çıkarılırlar (McSweeney, 2004). Mora, Musacchio, Fortina, Senini ve Manachini vd. (2003) çalışmalarında özellikle peynir üretiminde otoliz olan *Pediococcus* suşlarının hücre içi peptidaz enzimleri açığa çıkararak peynir olgunlaşmasında etkili

olduğu ve özellikle otoliz mekanizması sebze, et ve süt kaynaklı *P.acidilactici* ve *P.pentasaceus* suşlarında tanımlandığını bildirmişlerdir.

Otolitik aktivitenin 26 laktokok suşunun (pH 5, 15 g/L NaCl içeren sodyum sitrat tamponu) tamponlanmış ortamda otolitik aktivitenin suşa bağlı olduğunu ve önemli farklılıklarının olduğunu tespit etmiş ve suşların düşük (%-15-0), orta (%0-15) ve yüksek (%15-30) otolitik aktiviteli olarak 3 gruba ayırmıştır (Boutrou, Sepulchre, Pitel, Durier, Vassal, Gripon ve Monnet,1998).

Dako, El Soda, Vuillemand ve Simard (1995) çalışmalarında 4 *Lactobacillus*, 4 *Lactococcus*'un otolitik özellikleri %2 sodyum klorür içeren 0.1M sodyum fosfat tamponu pH 5.2 değerinde karşılaştırmış ve 30°C'de 48 saat inkübasyondan sonra *Lactobacillus* suşlarının daha yüksek otoliz oranları ile laktokoklardan ayırt edilebileceğini bildirmişlerdir. Elde edilen değerlerin %75, %62, %55 ve %45 sırasıyla *L.casei* subsp.*casei*, *L.casei* subsp.*psödoplarum*, *L.casei* subsp.*rhamnosus*, *L.plantarum* olduğu bildirilmiştir. *Lc.lactis* subsp.*lactis* ATCC (11454, 14872 ve 14871) sırasıyla %44, %41 ve %39 ve *Lc.lactis* subsp. *cremoris* %51 olduğu bildirilmiştir.

Bir çalışmada 10 farklı *Lc.lactis* suşunun aynı pH ve tuz konsantrasyonunda otolitik özelliklerinin farklılık gösterdiği, suşların büyük çoğunluğunun düşük tuz konsantrasyonunda ve pH'da daha yüksek oranda otoliz oranına sahip oldukları bildirilmiştir (El Soda, 1993). Başka bir çalışmada 9 farklı *Lb.pentosus* suşunun otolitik aktivitesini araştırılmış ve MRS ortamında geliştirildikten sonra suşların ortamına (potasyum fosfat, 50 mM, pH 6.5) transfer etmiştir. 24 saat sonrasında suşların otoliz oranlarının %34 ile %94 arasında değiştiği bildirilmiştir (Cibik ve ChapotChartier, 2004).

Yüce (2017) çalışmalarında pH 5,5 değerinde RA'nın 0-0,83 ve EA'nın ise 0,02-0,97 aralığında olduğunu bildirmiştir. Çalıştıkları 101 adet laktik asit bakterisinin 37 adet bakterinin EA'sının 0,10'dan düşük olduğunu ve 73 adetinin ise RA'sı 0,10'dan düşük olduğunu bildirilmiştir. Bizim sonuçlarımız *L.brevis* izolatu hariç Yüce (2017) çalışmasında bulunduğu değerler ile benzerlik göstermekle birlikte bulunduğumuz değerler literatürdeki miktarlara göre düşük bulunmuştur.

4.10. LAB izolatlarının diasetil üretimi

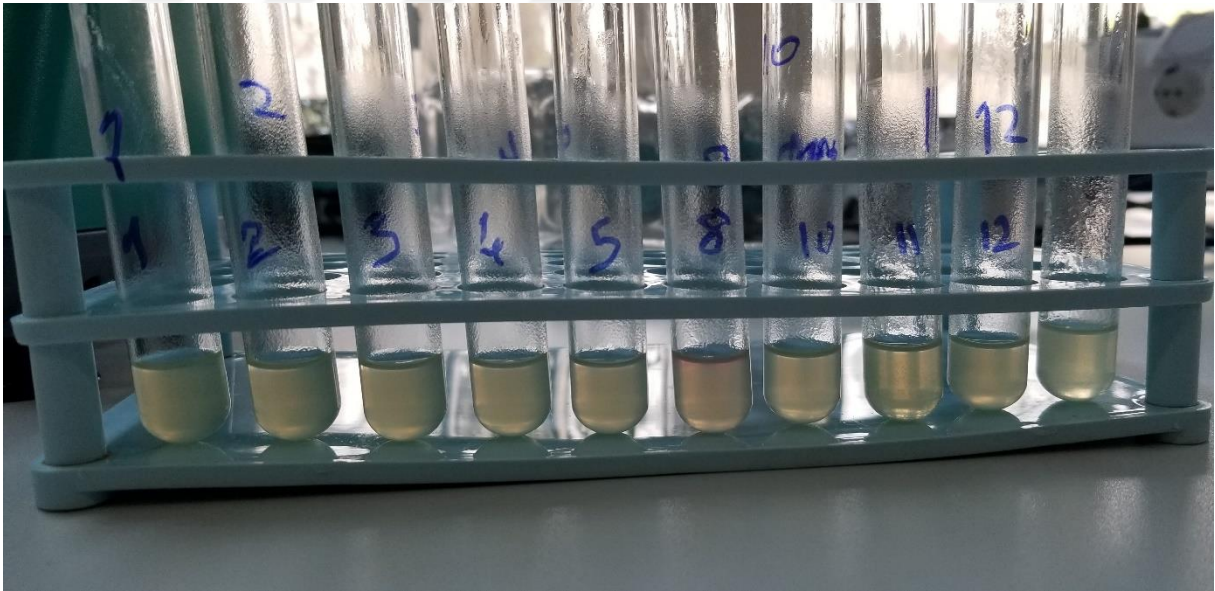
LAB izolatlarının diasetil üretme kabiliyetleri Çizelge 4.9’ da verilmiştir. Çizelge 4.9’ da görüldüğü gibi sadece *L.plantarum* M15F izolatı diasetil ürettiği, diğer izolatların ise diasetil üretmedikleri belirlenmiştir.

Çizelge 4. 9. LAB İzolatlarının Diasetil Üretim Sonuçları

İzolat Adı	Diasetil
<i>Leunocostoc citreum</i> M26F	-
<i>Leunocostoc lactis</i> M31F	-
<i>Lactococcus lactis</i> M24F	-
<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> M32F	-
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> M15F	+
<i>Lactobacillus pentosus</i> M7F	-
<i>Levilactobacillus brevis</i> M18F	-
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> M3F	-

-: negatif; +: pozitif

İzolatlardan *Lactiplantibacillus plantarum* M15F’ in diasetil ürettiği fakat diğer izolatların üretmediği Şekil 4.7’ de görülmektedir. 8 nolu örnek *L.plantarum* (M15F) izolatıdır.



Şekil 4. 7. *Lactiplantibacillus plantarum* (M15F)’ in Diasetil Üretimi

Laktik asit fermantasyonları sonucu ortaya çıkan diasetil, asetik asit, laktik asit, asetaldehit gibi aromatik bileşikler fermente gıdalarda kendine özgü tad ve aroma veren ürünler elde edilmektedir. Ayrıca fermantasyon sonucu ortaya çıkan metabolitlerden diasetil, hidrojen

peroksit, bakteriyosin ve amonyak gibi metabolitler diğer mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal özellik göstermektedirler (Cerit vd., 2021).

Sirichokchatchawan, Pupa, Praechansri, Am-In, Tanasupawat, Sonthayanon ve Prapasarakul, (2018) çalışmalarında üzerinde çalıştıkları tüm LAB suşları, *L.plantarum* (22F, 25F, 31F ve JCM1149), *P.pentosaceus* (77F) ve *Pediococcus acidilactici* (72N) diasetil ürettiği bildirilmiştir. Başka bir çalışmada, *L.vaginalis*, *L.plantarum*, *L.rhamnosus*, *L.casei*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *B.longum*, *B.animalis* 'in diasetil ürettiği ortaya konulmuştur (Salazar, Prieto, Leal, Mayo, Bada-Gancedo, de Los Reyes-Gavilán ve Ruas-Madiedo, 2009).

Elçioğlu (2010) çalışmasında 96 suşdan 38 suşun diasetil oluşturduğu, 58 suşun ise oluşturmadığını bildirmiştir. Bunlardan 22 suşun *L.plantarum* olduğu ve bunlardan 7 adedinin diasetil ürettiği, 3 izolatın *L.fermentum* olduğu, 11 izolatın *L.brevis* olduğu ve bunların diasetil üretmediği bildirilmiştir. 3 izolatın *L.pentosus* olduğu bunlardan 2 izolatın diasetil ürettiği, 1 izolatın üretmediği bildirilmiştir. 9 izolatın *L. paracasei* subsp. *paracasei* olduğu bunlardan 3 izolatın diasetil ürettiği 6 izolatın üretmediği bildirilmiştir. Bizim sonuçlarımız Sirichokchatchawan vd. (2018), Salazar vd. (2009) ve Elçioğlu (2010)'un sonuçları ile benzerlik göstermekle birlikte sadece Elçioğlu (2010) *L.paracasei* ve *L.pentosus* 'un da diasetil ürettiğini bildirmiş ancak aynı türdeki bizim izolatlarımız diasetil üretmemiştir.

4.11. LAB izolatlarının alkole dayanıklılığı

LAB izolatlarının %3, 6, 12 ve 15 oranlarında alkole dayanıklılığı belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.10' da verilmiştir. %3 ve %6 alkol varlığında tüm LAB'lerinde iyi gelişme tespit edilirken, %12 alkol varlığında *L.plantarum* (M15F), *L.pentosus* (M7F), *L.brevis* (M18F) izolatlarında gelişme olmadığı diğer izolatlarda (*Ln.citreum* M26F, *Ln.lactis* M31F, *L.paracasei* M32F, *Lc.lactis* M24F ve *L.fermentum* M3F) ise zayıf bir gelişmenin olduğu tespit edilmiştir. %15 alkol varlığında ise sadece *Ln.lactis* (M31F) izolatının zayıf bir gelişme gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4. 10. LAB izolatlarının Alkole Dayanıklılığı

İzolat Adı	Alkole Dayanıklılık				
	Kontrol	3%	6%	12%	15%
<i>Leunocostoc citreum</i> M26F	+++	+++	++	+	-
<i>Leunocostoc lactis</i> M31F	+++	+++	++	+	+
<i>Lactococcus lactis</i> M24F	+++	+++	++	+	-
<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> M32F	+++	+++	++	+	-
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> M15F	+++	+++	+++	-	-
<i>Lactobacillus pentosus</i> M7F	+++	++	++	-	-
<i>Levilactobacillus brevis</i> M18F	+++	+++	++	-	-
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> M3F	+++	+++	+++	+	-

-: OD <0,10 negatif; (bulanıklık yok)

+: OD 0,10-0,30 pozitif zayıf gelişme (az bulanık)

++:OD 0,31-0,50 pozitif iyi gelişme (orta bulanık)

+++: OD>0,60 pozitif çok iyi gelişme (çok bulanık)

Ertekin ve Çon (2014) çalışmalarında çeşitli fermente gıdalardan izole edilmiş 26 adet izolatın %10, 12, 15 oranında alkole dayanıklılığı test edilmiş %10 alkol oranında *L.plantarum* (O12) haricinde 25 izolatın gelişme gösterdiği, %12 alkol oranında *L.curvatus* (DSM20019) ve *L.plantarum* (O12) dışında bütün izolatların gelişme gösterdiği, %15 alkol oranında ise 6 izolatın (*L.plantarum* O23, *L.brevis* O11, *L.brevis* DSM20054, *L.curvatus* O32, *L.paracasei* subsp. *paracasei* O54, *L. pentosus* O8a) gelişme gösterdiği bildirilmiştir.

G-Alegria vd. (2004) çalışmalarında 18°C inkübasyon sıcaklığında *L.plantarum* 'un %7, 12 ve 13 etanol varlığında sırasıyla %78,6, %45,6 ve %39,5 canlı kalabildiklerini bildirmişlerdir.

Kang vd. (2018) çalışmalarında izolatların %3 ile %11 arasında etanolü tolere edebildiğini *E.faecium* (HL7) ortamda %11 saf etanolün varlığını tolere ederken, *E.faecium* (HL32) ortamda en fazla %3 saf etanolü tolere edebildiğini bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda tespit edilen sonuçlar Ertekin ve Çon (2014) belirttiği *L.plantarum* canlı kalma sonucu ile benzerlik gösterirken, *L.brevis*' in canlı kalma sonucu ile farklı bulunmuş, G-Alegria vd. (2004)'un sonuçları ile benzerlik göstermiştir.

4.12. LAB izolatlarının safra tuzuna dayanıklılığı

LAB izolatlarının %0,30 safra tuzuna dayanıklılıklarını belirlemek için 0., 4. ve 24. saatte canlı kalan bakteri sayıları belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.11' de verilmiştir. İzolatların 4. saat sonunda safra tuzuna karşı canlılık oranı 102%-110% arasında değiştiği tespit edilmiştir. %0,30 safra tuzuna karşı dayanıklılıkları 4.saatte en yüksek izolat *L.fermentum*

(M3F)'dur. 24 saat sonrasında ise canlılık oranı 87%-121,6% arasında değiştiği ve canlılık oranı en yüksek izolataın %121,6 ile *L.pentosus* (M7F) olduğu belirlenmiştir. En düşük canlı kalma oranı ise %87 *Ln.citreum* (M26F) ve %87,1 oranı ile *Lc.lactis* (M24F)'de belirlenmiştir. LAB izolatlarının safra tuzuna dayanıklılık sonuçları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuş ($p<0,05$), sonuçlar Çizelge 4.11' de farklı harflerle gösterilmiştir.

Çizelge 4. 11. LAB İzolatlarının Safra Tuzuna Dayanıklılığı

İzolat Adı	Safra tuzuna dayanıklılık (0,30%)		
	0 h (log cfu/mL)	4 h (log cfu/mL)	24 h (log cfu/mL)
<i>Leunocostoc citreum</i> M26F	8,05±0,12 ^{cd} (100%)	8,71±0,01 ^{bc} (108%) ¹	7,04±0,02 ^f (87%)
<i>Leunocostoc lactis</i> M31F	8,37±0,01 ^{ab} (100%)	8,55±0,05 ^d (102%)	7,56±0,05 ^e (91%)
<i>Lactococcus lactis</i> M24F	7,99±0,01 ^d (100%)	8,55±0,02 ^d (107%)	6,96±0,01 ^f (87,1%)
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> M32F	8,29±0,02 ^{abc} (100%)	8,58±0,04 ^{cd} (103,5%)	9,13±0,01 ^c (110,1%)
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> M15F	8,14±0,23 ^{bcd} (100%)	8,84±0,05 ^b (108,6%)	9,67±0,02 ^a (118,8%)
<i>Lactobacillus pentosus</i> M7F	8,53±0,04 ^a (100%)	9,21±0,02 ^a (107,9%)	9,39±0,02 ^b (121,6%)
<i>Levilactobacillus brevis</i> M18F	8,17±0,02 ^{bcd} (100%)	8,73±0,04 ^b (106,8%)	8,96±0,04 ^c (109,6%)
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> M3F	8,38±0,01 ^{ab} (100%)	9,26±0,10 ^a (110%)	8,95±0,04 ^c (106,8%)

± Standart sapmayı ifade etmektedir. Aynı sütunda yer alan rakamlar üzerinde üstsel olarak gösterilen harfler gruplar arasındaki istatistikî farklılıkları ($P<0,05$) belirtmektedir.

Safra tuzu, çözünür yağlar ve bazı vitaminler üreten doğal bir emülgatör olarak çalışmakta ve mikroorganizmaların hücre duvarını parçalayarak bakterisidik etki yapmaktadır (Lambert, Bongers, de Vos ve Kleerebezem, 2008). Safra tuzlarına direnç, hücre sızıntısına ve ölümüne yol açan membran lipidlerini çözdükleri için probiyotiklerin en önemli özelliklerinden biridir (Choi ve Chang, 2015). Safra tuzlarının, bakteriyal hücreler üzerine hücre membranının organizasyonunu bozarak toksik etkili olduğu bildirilmiştir (Succi vd., 2005). Başka bir çalışmada benzer bir ifade ile; safra, ince bağırsakta boşaltılır ve bakterilerin hücre zarlarını yok ederek hayatta kalmalarını azaltır. Hücre zarı bileşenlerindeki değişiklikler, hücre canlılığını, geçirgenliğini ve çevre ile bakteri hücre zarı arasındaki etkileşimleri etkiler (Succi vd., 2005). Safra tolerans, temel bir probiyotik özelliktir ve %0,15 ila %0,3 safra konsantrasyonu, probiyotiklerin seçimi için uygundur (Goldin ve Gorbach, 1992).

Çalışmamızda bozalardan izole edilmiş izolatların tamamı safra tuzuna dayanıklı olduğu canlı kalabildikleri görülmektedir.

Safra tuzu hidrolaz etkisi, probiyotik adaylar için önemli bir özellik iken, LAB'nin bu ayrılmaz özelliğiyle, konjuge safra tuzları nedeniyle bağırsakta bulunan toksik ortama dayanabilirler (Kang vd., 2018). LAB'nin safra toleransı, kolesterol seviyesini düşürmeye ve insan konağa fayda sağlamaya yardımcı olabilecek safra tuzları hidrolazlarının aktivitesiyle ilişkili olabileceği bildirilmektedir (Wang vd., 2018).

Probiyotiklerin düşük pH ve safra tuzlarına toleransını değerlendiren çalışmalar, ilgili direnç mekanizmasının suşa ve türe bağlı olduğunu göstermiştir (Angmo, Kumari ve Bhalla, 2016; Abushelaibi, Al-Mahadin, El-Tarabily, Shah, ve Ayyash, 2017). Ayrıca Gilliland (1979), önceki raporlarına göre, hayvan bağırsağından izole edilen izolatlar, süt ürünlerinden elde edilen izolatlara göre safra tuzuna karşı yüksek tolerans gösterdiği bildirilmiştir.

L.rhamnosus suşları, %1,0, %1,5 ve %2,0 safra tuzlarının varlığında iyi bir sağkalım (canlı kalma) sergilediği bildirilmiştir (Succi vd., 2005).

L.helveticus ve *L.plantarum* izolatları safra tuzlarının varlığında %0,3'e kadar toleranslı olduğu belirlenirken, daha yüksek konsantrasyonlara, yani %0,6 ve %1'e daha az toleranslı olduğu bildirilmiştir (Hassan vd., 2020).

Goswami vd. (2017) çalışmalarında %0,1, %0,15 ve %0,3 safra tuzunda *E.durans*, *L.plantarum*, *L.fermentum*, *L.casei*' nin gelişme gösterdiği bildirilmiş, % de ise *E.durans*, *L.plantarum*'un gelişme gösterdiği fakat *L.fermentum*, *L.casei*'nin gelişme göstermediği bildirilmiştir.

Kıray (2017) çalışmasında insan kaynaklı vajen LAB'nin %0,3'lük safra tuzu ortamında 3 saat sonunda yüzde canlılık oranları %57,2 olarak belirlerken bazı suşlarda bu oranın %100'ün üstüne çıktığını bildirmiştir. *L.plantarum* (L9), *L.plantarum* (L19), *L.plantarum* (L21) suşlarının canlılıkları %100'ün üzerinde tespit edilirken en düşük canlılık oranı *L.paracasei* (L2) olarak belirlenmiştir. *L.paracasei* (L1), *L.paracasei* (L2), *L.paracasei* (L3), *L.crispatus* (L5), *L.gasseri* (L10), *L.acidophilus* (L14) suşlarının ve *L.paracasei* (L20) suşlarının %75,9 oranında canlı kalabildiklerini bildirmiştir. %0,5'lik safra tuzu ortamında *L.paracasei* (L1), *L.gasseri* (L10) ve *L.paracasei* (L20) suşlarının canlılıklarını sürdüremediği

belirlenmiştir. *L.paracasei* (L1), *L.gasseri* (L10) ve *L.paracasei* (L20) suşlarının ise sadece %0,3'lük safra tuzu ortamında canlılıklarını koruyabildiği tespit edilmiştir.

Turhan Eryılmaz (2011) çalışmalarında vajinal sekresyondan izole edilen *P.acidilactici* (OZV) ve *L.brevis* (OZV) laktik asit bakterilerinin safra tuzu toleranslarına bakılmış ve her iki izolatin safra tuzlarına karşı dirençli oldukları bildirilmiştir. *P.acidilactici* (OZV) izolatu 4. saatinde %0,3' lük konsantrasyonunda %85,08 oranında canlılık tesbit edilirken, %0,5 ve %1'lik konsantrasyonlarda ise çok az bir oranda düşüş tesbit edilmiştir. *L.brevis* (OZV) izolatında ise; safra tuzu dirençliliğinin 4. saatinde %0,3'lük konsantrasyonunda %95,98 oranında canlılık tesbit edilirken, %0,5 ve %1'lik konsantrasyonlarda ise aynı şekilde çok az bir oranda düşüş meydana geldiğini bildirmiştir.

Akepaer (2015) çalışmalarında gıda kaynaklı laktik asit bakterilerinin safraya olan toleransı, %0,06, %0,15 ve %0,30 konsantrasyonlarında, artan konsantrasyona bağlı olarak bakterilerin gelişiminde azalma olduğunu bildirmiştir. LAB'ların %0,06 safra konsantrasyonunda %canlılık değerlerinin %92,03 ile %99,15 arasında olduğu, %0,15 safra konsantrasyonunda %canlılık değerleri %78,36 ile %90,53 ve %0,30 safra konsantrasyonunda % canlılık değerleri %67,52 ile %74,65 arasında olduğunu bildirmiştir. *Lc.lactis* (35) suşunun safraya karşı en dirençli suşlar olduğunu ifade etmiştir.

Kezer (2019) çalışmasında doğal ekşi hamurlardan izole edilen laktik asit bakterilerinin %0,3 safra tuzunda canlı kalma oranının en yüksek *L.brevis* (A1) (%99,38) bakterisinde, en düşük canlı kalma oranının ise *L.plantarum* (Tb6/4) (%61,74) kodlu bakteri izolatında olduğunu belirlemiştir.

Alp ve Kuleaşan (2019) çalışmalarında farklı kaynaklardan izole edilmiş laktik asit bakterilerinin %1 safra tuzuna karşı 0., 4. ve 24. saat sonundaki gelişimleri incelemişler, %1 safra tuzuna karşı 24 saat sonunda izolatların hepsi canlılıklarını koruduğunu ve canlılık yüzdeleri %104,23 ile %88,73 arasında değerlerde olduğunu bildirmişlerdir. *L.plantarum* (DA135) izolatinin %1 safra tuzuna karşı %104,23 canlılık oranı gösterirken, *L.lactis* (DA268) izolatinin %88,73 canlılık gösterdiğini bildirmişlerdir.

Er (2016) vajinadan izole edilen laktik asit bakterilerinin, %0,1 ve %0,3 safra tuzu içeren ortamda 0., 1., 2. ve 4. saatin sonundaki canlılıkları azalma olsa da 3. saatin sonunda test edilen tüm izolatlarda gelişme olduğu bildirilmiştir.

Wang vd. (2018) çalışmalarında test edilen 36 LAB suşunun tümü, adaptasyon süreleri suşlar arasında farklılık gösterse de %0,3 safra tuzu konsantrasyonunda geliştiğini bildirmişlerdir. İzolatlar *L.plantarum* (PIC42) ve (CB10) ve *W.cibaria* (CB12), bir saatten daha kısa olan en kısa adaptasyon süresini gösterirken, bir *W.confusa* ve iki *L.brevis* izolatı yaklaşık 4 saatlik en uzun adaptasyon süresini göstermiştir.

Çalışmamızda izolatlarımızın %0,3 safra tuzuna karşı çok iyi canlılık oranı gösterdiği tespit edilmiştir. Literatürlerde Kıray (2017), Akepaer (2015), çalışmalarında bizim çalışmalarımızdan daha düşük canlılık oranı ve bazı izolatlarında bizimle paralel sonuçlar elde etmişlerdir Succi vd. (2005). Alp ve Kuleaşan (2019) çalışmalarında ise bizim çalışmamızla benzerlik görülmektedir.

4.13. LAB izolatlarının hidrofobisite yetenekleri

LAB izolatlarının hücre yüzeyi hidrofobisite özellikleri Çizelge 4.12' de verilmiştir. Xylene göre en yüksek izolat %90,99 ile *L.plantarum* (M15F) iken, bunu sırasıyla %64,23 ile *L.brevis* (M18F), %60,57 ile *L.fermentum* (M3F), %50,59 ile *L.pentosus* (M7F) izlemiştir. Xylene göre en düşük izolat %9,97 ile *Ln.citreum* (M26F) iken, bunu sırasıyla % 10,57 ile *Ln.lactis* (M31F), %11,18 ile *L.paracasei* (M32F) ve %15,47 ile *Lc.lactis* (M24F) izlediği tespit edilmiştir. LAB suşlarının hücre yüzeyi hidrofobikliği kloroforma göre en yüksek izolat %98,55 ile *L.brevis* (M18F) belirlenirken, bunu sırasıyla %95,74 ile *L.plantarum* (M15F), %83,49 ile *L.pentosus* (M7F), %71,47 ile *L.fermentum* (M3F) izlemiştir. Kloroforma göre en düşük izolat %17,08 ile *Lc.lactis* (M24F) belirlenirken bunu sırasıyla, %24,35 ile *L.paracasei* (M32F), %29,67 ile *Ln.lactis* (M31F) ve % 39,18 ile *Ln.citreum* (M26F) izlemiştir. İzolatların hidrofobisite özellikleri sonuçları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuş ($p<0,05$) ve önemli bulunan sonuçlar Çizelge 4.12' de farklı harflerle gösterilmiştir.

Potansiyel probiyotik suşların hücre yüzeyi hidrofobikliğinin değerlendirilmesi, bu tür suşların konakçı GIT'in epitel hücrelerine yapışma potansiyelini gösteren hayati bir özelliktir (Sadishkumar ve Jeevaratnam, 2017). Kaydedilen nispeten yüksek hidrofobiklik, LAB suşlarımızın iyi bağlanma özelliklerine sahip olduğunu ve probiyotik olarak alındığında konakçıda yeterli bariyer işlevi gösterdiğinin belirtisidir (Reuben vd., 2020). Hücresel agregatif aktivitelerin, insan konakçılarının vajinal ve gastrointestinal yollarında faydalı mikroorganizmaların kolonizasyonunu teşvik edebileceği bildirilmiştir (Collado, Gueimonde, Hernandez, Sanz ve Salminen, 2005; Atassi ve Servin, 2010).

Çizelge 4. 12. LAB İzolatlarının Hidrofobisite Özellikleri

İzolat Adı	%xylen	%kloroform
<i>Leunocostoc citreum</i> M26F	9,97±3,32 ^c	39,18±0,27 ^d
<i>Leunocostoc lactis</i> M31F	10,57±1,38 ^c	29,67±3,42 ^e
<i>Lactococcus lactis</i> M24F	15,47±4,49 ^c	17,08±1,91 ^f
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> M32F	11,18±2,23 ^c	24,35±2,65 ^{ef}
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> M15F	90,99±0,82 ^a	95,74±0,49 ^a
<i>Lactobacillus pentosus</i> M7F	50,59±11,0 ^b	83,49±5,46 ^b
<i>Levilactobacillus brevis</i> M18F	64,23±10,39 ^b	98,55±0,51 ^a
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> M3F	60,57±2,89 ^b	71,47±2,41 ^c

± Standart sapmayı ifade etmektedir. Aynı sütunda yer alan rakamlar üzerinde üstsel olarak gösterilen harfler gruplar arasındaki istatistikî farklılıkları ($P<0,05$) belirtmektedir.

Mikrobiyal hücre yüzey kimyası üzerine yapılan çeşitli çalışmalar, hücre yüzeyinde (glikol-) proteinli materyalin varlığının daha yüksek hidrofobikliğe yol açtığını, hidrofilik yüzeylerin ise polisakkaritlerin varlığıyla ilişkili olduğunu bildirmiştir (Collado, Meriluoto ve Salminen, 2008). Hidrofobik yapı, bağırsak sızıntısını ve patojenik yapışmayı önlemek için bağırsak mukozal bariyerini güçlendirmenin yanı sıra hücreden hücreye bağlanmayı ve bağırsak mukozasına yapışmayı kolaylaştırır (Ouwehand, Tuomola, Tölkö ve Salminen, 2001).

Hücre yüzey özellikleri gibi suşa özgü özelliklerdeki farklılıkların test edilen suşlar arasındaki hayatta kalma farklılıklarının nedeni olabileceğini düşündürmektedir (İspirli ve Dertli, 2017)

LAB suşlarının hücre yüzeyi hidrofobikliği en yüksek *L.paracasei* (C3)' de olduğu ve bunu sırasıyla %53,0-%50,50-%36,0 ve %28,5 ile *Pediococcus pentosaceus* (G9), *L.plantarum* (C16) ve *P.pentosaceus* (G10) izlediği bildirilmiştir (Reuben vd., 2020).

L.plantarum (MBTUHK1) xylene karşı %94,9, kloroforma karşı %40,3 hidrofobik özellik gösterdiği, *L.plantarum* (MBTU-HT) ise xylene karşı %85,26, kloroforma karşı %48,37 hidrofobik özellik gösterdiği bildirilmiştir (TR, 2018).

Sirichokchatchawan vd. (2018) çalışmaları LAB suşlarının hücre yüzeyi hidrofobikliği, bakteriyel suşa bağlı olarak %18 ila %77 arasında değiştiği belirtirken, *L.plantarum* (22F) ve (25F), hem xylen hem de tolüene karşı en yüksek hidrofobiklik yüzdesini sergilediğini bildirmişlerdir.

Ertekin ve on (2014) alışmalarında farklı gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin 26 adet izolatın hidrofobisitesi 0 ile 50,82 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. En yüksek hidrofobisiteye sahip izolat ise *L.plantarum* (O21) olduğu, *P.pentosaceus* (O27) izolatının hidrofobik özelliğinin olmadığı bildirmişlerdir.

Abdou (2014) alışmasında *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (ZN551) izolatının kloroforma %63,24, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (ZN541) izolatının %10, *L.delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (ZN661) izolatının %44,97, *L.delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (ZN951) izolatının %22,41, *L.delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (ZN461) izolatının ise kloroforma %10,38 oranlarında hidrofobisite gösterdiğini bildirmiştir.

Rehaïem, Belgacem, Edalatian, Martınez, Rodrıguez, Manai, Prez Guerra, (2014) *Enterococcus faecium* (MMRA)'nın yüksek bir hidrofobiklik değerine sahip olduğunu bildirmişlerdir (%74,06). Bunun bakteri hücrelerinin konak dokulara yapışmasına katkıda bulunabileceğini ve insan gastrointestinal sisteminde bakteriyel bakımın desteklenmesini sağlayabileceğini ifade etmişlerdir.

Bautista-Gallego, Alessandria, Fontana, Bisotti, Taricco, Dolci vd. (2014) alışmalarında izolatların çoğu (%89,42) %0 ile %5 arasında hidrofobiklik değerlere sahip olduğu bildirilmiştir. Bu sonuç, bu çalışmada izole edilen laktobasillerin çoğunun zayıf bir şekilde hidrofobik olduğunu gösterirken, ancak bazıları; *L.rhamnosus* (18E5, 18E10 ve 21E8) %40'ın üzerinde hidrofobiklik değerlere sahip olduğu bildirilmiştir.

Gonzlez-Rodrıguez, Ruiz, Gueimonde, Margolles ve Snchez (2013) alışmalarında bifidobakterilerin %20 ile %0 arasında hidrofobiklik değerinin değiştiğini bildirmiştir.

Wang vd. (2018) alışmalarında hücre yüzeyi hidrofobikliği ile ilgili olarak, *L.plantarum* (CB10), izolatların geri kalanıyla karşılaştırıldığında en yüksek hidrofobik aktiviteyi (%40,34 hidrofobiklik değeri) gösterdiğini, diğer izolatların ise %3,62 ila %13,14 arasında değişen değerler gösterdiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızdaki izolatların hidrofobik yeteneklerinin *L.plantarum* (M15F), *L.brevis* (M18F), *L.fermentum* (M3F), *L.pentosus* (M7F) izolatlarında yüksek olduğu diğer izolatların ise daha düşük hidrofobisiteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu izolatların bakteri hücrelerinin konak dokulara yapışmasına katkıda bulunabileceğini ve insan gastrointestinal sisteminde bakteriyel bakımın desteklenmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Çalışmamız Bautista

vd. (2014) ve Wang vd. (2018) çalışmalarından daha yüksek hidrofobisite değeri gösterirken TR (2018), Sirichokchatchawan vd. (2018), Ertekin ve Çon (2014), Abdou (2014), Rehaïem vd. (2014) ve González vd. (2013) ile paralellik göstermektedir.

4.14. LAB izolatlarının EPS üretimi

LAB izolatlarının EPS üretim miktarları 1,78-5,75 mg/L arasında değiştiği belirlenmiş olup sonuçlar Çizelge 4.13' de verilmiştir. Yapılan çoklu karşılaştırma testine göre İzolatların EPS üretimi sonuçları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuş ($p<0,05$), sonuçlar farklı harflerle gösterilmiştir. *L.plantarum* (M15F) bakterisi 5,75 mg/L EPS üretimi ile ilk grupta (a) yer alırken bunu 4,07 mg/L ile *L.pentosus* (M7F) ve 3,23 mg/L ile *L.brevis* izlemiştir. En düşük EPS üretimi *L.fermentum* (M3F) ve *Ln.citreum* (M26F) sırasıyla 1,78 ile 1,95 mg/L EPS ürettiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 13. LAB İzolatlarının EPS Üretim Sonuçları

İzolat Adı	EPS (mg/L)
<i>Leuconoctoc citreum</i> M26F	1,95±1,40 ^b
<i>Leuconostoc lactis</i> M31F	2,98±2,13 ^{ab}
<i>Lactococcus lactis</i> M24F	3,07±0,63 ^{ab}
<i>Lactococcus paracasei</i> M32F	3,15±1,83 ^{ab}
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> M15F	5,75±1,28 ^a
<i>Lactobacillus pentosus</i> M7F	4,07±2,42 ^{ab}
<i>Levilactobacillus brevis</i> M18F	3,23±3,04 ^{ab}
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> M3F	1,78±1,00 ^b

± Standart sapmayı ifade etmektedir. Aynı sütunda yer alan rakamlar üzerinde üstsel olarak gösterilen harfler gruplar arasındaki istatistikî farklılıkları ($P<0,05$) belirtmektedir.

Çoğu LAB, bir kapsül oluşturan dış hücre duvarına bağlı kalan veya çevreye sümüksü veya kıvamlı EPS şeklinde salınan hücre dışı polisakkaritleri (ekzopolisakkaritler, EPS) sentezlemektedir. Bu bakteriler, farklı bileşim, yapı, moleküler kütle ve konformasyona sahip çok çeşitli EPS üretmektedirler. Üretilen EPS'ler gıdalarda viskozite ve reoloji, patojenik bakteri inhibe edici, bağırsakta kolonizasyonu destekleyen probiyotikler ve bağırsak mikroflorası özelliğinin dengesini koruma gibi fizyolojik özelliklerini sağladığı bildirilmiştir (Bengoa vd., 2018). Ayrıca, kolesterol düşürücü özellikler, antioksidan, inflamasyonu düzenleyen, anti-tümör, anti-pıhtılaşma ve antivirüs aktiviteleri gibi bazı benzersiz biyolojik aktiviteler sergileme yeteneği de LAB türevi EPS'lerde yaygın olduğu ifade edilmektedir (Zhou

vd., 2019). EPS, mikrobiyal hücrenin korunmasında, katı yüzeylere yapışmada ve biyofilm oluşumunda rol oynamaktadır (TR, 2018).

Son yıllarda çeşitli mikroorganizmaların ekzopolisakkarit üretme kabiliyetleri önemli bir ilgi alanı haline gelmiştir. LAB, farklı kimyasal bileşime ve yapıya sahip çok çeşitli EPS'ler üretir ve böylece gıda endüstrilerinde uygun fonksiyonel özellikler sağlar. Bağışıklık sisteminin modülasyonunda kaçınılmaz etkileri, serbest radikalleri temizlemesi, antiviral, antibiyofilm, antihipertansif, anti-hiper kolesterolemik aktiviteler ve kanser hücresi büyümesinin engellenmesi, normal hücrelere toksik olmamasından dolayı büyük önem kazanmıştır. Son raporlar, EPS ve türevlerinin farmasötik ve tıp endüstrilerindeki muazzam potansiyelini ortaya çıkarmış, bu da EPS'leri ilaç dağıtım sisteminde sentetik sistemlere göre kesin avantajlar gösteren önemli araçlar haline getirmiştir (Saadat, Khosroushahi ve Gargari, 2019). Ayrıca EPS, fermente gıdaların dokusu, ağız hissi, tat algısı ve stabilitesi üzerinde olumlu bir etkiye sahip olup bazı EPS için prebiyotik etkiler de tanımlanmıştır (Dal Bello, Walter, Hertel ve Hammes, 2001). Gezinç ve Kılınç (2019) çalışmalarında en yüksek ekzopolisakkarit üreten bakteri kombinasyonları ile üretilen yoğurtların duyuşal özelliklerinin panelistler tarafından daha çok beğenildiği bildirilmiştir.

Demir, Kaygusuz, Kılıç, Sedef, Yüce ve Soyuçok, (2017) çalışmalarında yoğurt örneklerinden izole edilmiş LAB'lerin EPS üretim miktarları 5,89 ile 134,60 mg/L arasında değiştiğini ve en yüksek EPS üretimi glukoz cinsinden (mg/L) *L.bulgaricus* (La24B), en düşük EPS üretimi ise 5,89 mg/L ile *L.bulgaricus* (Lc7E) olduğunu bildirmişlerdir.

Alp ve Kuleaşan (2019) çalışmalarında farklı kaynaklardan izole edilmiş LAB'lerin ürettiği EPS miktarının 11,9 ile 1,1 mg/L arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Beyaz peynirden izole edilen *L.fermentum* (DA134) izolatından 1,1 mg/L, turşudan izole edilen *L.plantarum* (DA100) izolatı 9 mg/L, dut bitkisinden izole edilen *L.plantarum* (DA255) izolatı 11,9 mg/L EPS ürettiklerini bildirmişlerdir.

Doğan (2017) çalışmasında boza, peynir, çiğ süt ve kefirde izole ettiği LAB'lerin EPS üretim miktarları laktobasil suşları 21-298 mg/L aralığında, Entrokok suşları 8,5-200 mg/L aralığında olduğunu bildirmiştir. Laktobasil suşlarından bozadan izole edilen *L.brevis* 21,1 mg/L ve Entrokok suşlarından peynirden izole edilen *E.faecium* 8,42 mg/L EPS ürettiğini bildirmiştir.

Adebayo-Tayo ve Popoola (2017) çalışmalarında LAB'lerin EPS üretiminin 256-640,9 mg/L arasında değiştiğini ve en yüksek verim *L. casei* (LPW2)'den, ardından *L. fermentum* (LPF6)'dan elde edildiğini bildirmişlerdir.

Başka bir çalışmada *L. plantarum* (MBTU-HT)'nin 382,3 mg/L EPS ürettiği, *L. plantarum* (MBTUHK1) izolatının ise 367,3 mg/L EPS ürettiği bildirilmiştir (TR, 2018).

Notararigo, Náchter-Vázquez, Ibarburu, Werning, de Palencia, Dueñas vd. (2013) çalışmalarında *L. suebicus* (CUPV225) 144 mg/L, *P. parvulus* 378 mg/L, *L. lactis* (NZ9000) 561 mg/L ve *L. mesenteroides* (RTF10) 1870 mg/L miktarlarda EPS ürettiği bildirilmiştir.

Salazar vd. (2009) çalışmalarında *Streptococcus thermophilus* (ST-body-1) 15,5 mg/100 mL, *L. rhamnosus* (E43R) 51,4 mg/100 mL, *L. plantarum* (H2) 18,9 mg/100 mL EPS üretildiğini bildirmişlerdir.

Gezginç ve Kılınç (2019) geleneksel yoğurttan izole edilen izolatlardan EPS üretim miktarları 408,74-38,15 mg/L arasında olduğu en yüksek EPS üreticisi *St. thermophilus* (BioStr 56) iken en düşük eps üreticisi *St. thermophilus* (BioStr 132) olduğu bildirilmiştir.

Osmanağaoğlu, Akepaer ve Beyatlı (2015) çalışmalarında izolatların EPS üretim miktarları 127,30–245,00 mg/L arasında değiştiğini ve EPS üretimi en yüksek olan izolatın *Ent. faecium* (3) (245,00 mg/L) EPS üretimi en düşük izolat ise *Lc. lactis* (102) (127,30 mg/L) olduğunu bildirmişlerdir.

Patel, Prajapati, Holst ve Ljungh (2014) çalışmalarında EPS üretim miktarları 250-960 mg/L arasında olduğunu ve en yüksek verimin 960 mg/L ile *L. plantarum*'un olduğunu, en düşük verimin ise *L. fermentum*'da olduğunu bildirmişlerdir.

Li, Huang, Shah, Tao, Xiong ve Wei (2014) çalışmalarında EPS üretimi 45,49-290,17 mg/L arasında olduğunu ve en düşük verimin 45,49 mg/L ile *L. plantarum* (PFK03), en yüksek verimin ise 290,17 mg/L ile *L. plantarum* (R315)'da olduğunu bildirmişlerdir.

LAB tarafından üretilen EPS'nin miktarı ve bileşimi, pH, sıcaklık ve ortam bileşimi gibi kültür ve fermentasyon koşullarından güçlü bir şekilde etkilenir (Dueñas, Munduate, Perea ve Irastorza, 2003).

Çalışmamızda üretilen EPS miktarı Demir vd. (2017), Alp ve Kuleaşan (2019) sonuçlarıyla paralellik gösterse de EPS üretim miktarımız diğer literatürlere göre düşük

bulunmuştur. EPS üretimi sonrası kurutulduktan sonra toz haline getirilmiş halleri Şekil 4.8’ de görülmektedir.



Şekil 4. 8. EPS örneklerinin kurutulduktan sonra toz halleri

4.14.1. Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrometresi (FTIR) ile EPS’lerin Konformasyonel Özellikleri

Bu çalışmada izole edilmiş ve tanımlanan LAB’lerin ürettiği ekzopolisakkaritlerin kimyasal yapılarının (Yağ asitleri, proteinler, karbonhidratlar vb.) belirlenmesi ve bileşik yapılarının aydınlatılması için FTIR analizleri Çizelge 4.14’ de verilmiştir. EPS’lerin geçirgenliği (transmittence) dalga boyu orta dalga boylu kızıl ötesi (MIR:400-4000 cm^{-1}) spektral aralığında belirlenmiştir. FTIR spektrumunun grafikleri OriginPro 2016 SR0 programı ile oluşturulmuştur.

Çizelge 4.14’ de görüldüğü gibi 800-3400 cm^{-1} spektral bölgesinde benzer tipik pikler verdiği belirlenmiştir. *Ln.citreum* (M26F), *Ln.lactis* (M31F), *L.pentosus* (M7F) bakterisi, *L.brevis* (M18F) ve *L.fermentum* (M3F) bakterileri 3000-3500 cm^{-1} spektral bölgede yayvan benzer pikler vermiştir. Literatürlerde bu bölgenin -OH gerilimi olduğu bu yapının polimer yapıda karbonhidratların -OH grubunu gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca araştırmacılar 3500-3400 cm^{-1} arasındaki bandın -OH ve -O arasındaki molekül içi hidrojen bağları ile ilişkili olduğu, 3400-3100 cm^{-1} arasındaki bantların moleküller arasında hidrojen bağlarından kaynaklandığı bildirmektedir. Bu çalışmada FTIR kromatogramları incelendiğinde; 3225-3310 cm^{-1} bandında OH gerilimi olduğu polimer yapıda karbonhidratların OH grubunu gösterdiği, 2920-

2934 cm^{-1} bandında asimetrik CH_2 grubuna bağlı C-H gerilimi tespit edilmiştir. Bu kısım protein, şeker gibi organik maddeler içerebilir. Ayrıca 11 ve 12 nolu örneklerde 2361 ve 2358 cm^{-1} bandında piklerde dallanma olduğu belirlenmiştir. 1627-1645 cm^{-1} bandında C=O bandı Amid I ve N-H bandı Amid II'yi göstermektedir. Bu kısımda mannoz ve galaktoz bulunma olasılığı olmakla birlikte proteinlerin karbonil kaynaklı Amid I bağına işaret etmektedir. 1725-1631 cm^{-1} bandının asetat ve karboksilat grubu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. 1411-1405 cm^{-1} bandında -C=H grubu gerilim titreşimi tespit edilirken ayrıca 8 ve 10 nolu örnekte 1456-1457 cm^{-1} 'de dallanma meydana gelmiştir. 1233-1218 cm^{-1} bandında C-C gerilimi, 1052-1030 bandında C-O gerilim titreşimi ve C-O-C gerilimi tespit edilmiştir. 1000-1200 cm^{-1} bandı C-O-C ve C-O karbonhidratların alkol grupları ile karakterize edilmektedir. Ayrıca bu aralıkta pik vermesi polisakkaritlerin α piranoz içerdikleri ifade edilmektedir. Ayrıca 2, 3, 4 11 ve 12 nolu örnekte 916-970 cm^{-1} 'de dallanma olduğu görülmektedir. 816-810 cm^{-1} bandı C-H bükülme titreşimini göstermektedir. Buna ilave olarak 3, 4, 6, ve 11 ve 616-625 cm^{-1} bandında dallanma olduğu 12 nolu örnekte ise ayrıca 874 cm^{-1} 'de ayrı bir pik geldiği görülmektedir. 811-874 cm^{-1} bandında α D gkukoz ile karakterize edilebileceği bildirilmektedir (İspirli vd., 2019). Ana absorpsiyon bandının 1036-1050 cm^{-1} aralığında olduğu C-O-C glikozidik bağlara işaret ettiği parmak izi bölgesinin 1200 cm^{-1} bandının altında olduğu için polisakkaritlerin varlığını gösterdiği bu kısmın ekzopolisakkaritlerin parmak izi bölgesi olduğu düşünülmektedir. LAB izolatlarının EPS üretimi ve örneklerin FTIR spektrumlarında tanımlanan pik bölgeleri ve olası kimyasal işaretler Çizelge 4.14' de verilmiştir.

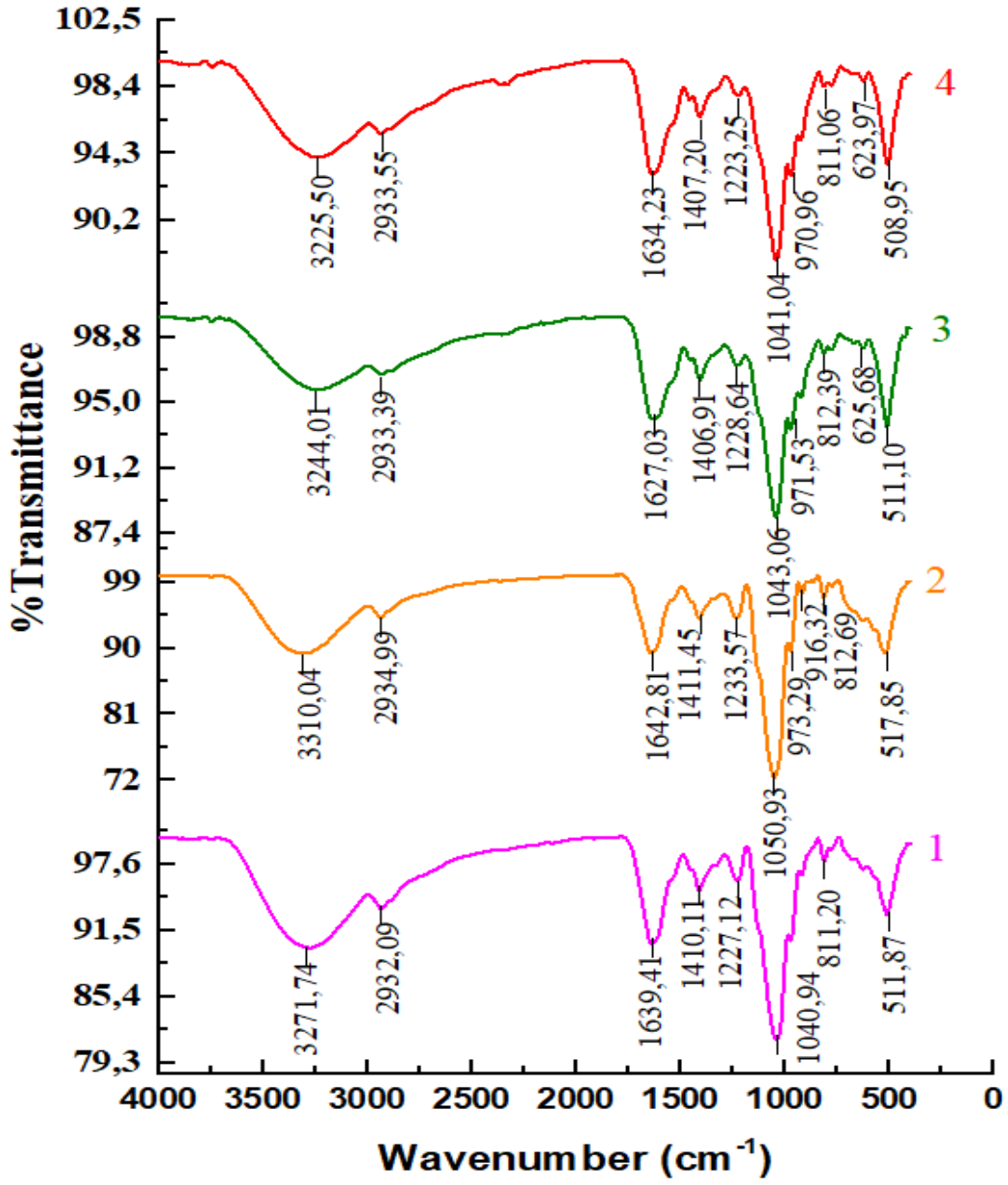
EPS'lerin Fourier Dönüştürümlü Kıızıl Ötesi Spektrometresi (FTIR) birleştirilmiş ve ayrıntılı Spektrumları Şekil 4.9, 4.10 ve 4.11' da verilmiştir.

Çizelge 4. 14. EPS örneklerinin FTIR spektrumlarında tanımlanan pik bölgeleri ve olası kimyasal işaretler

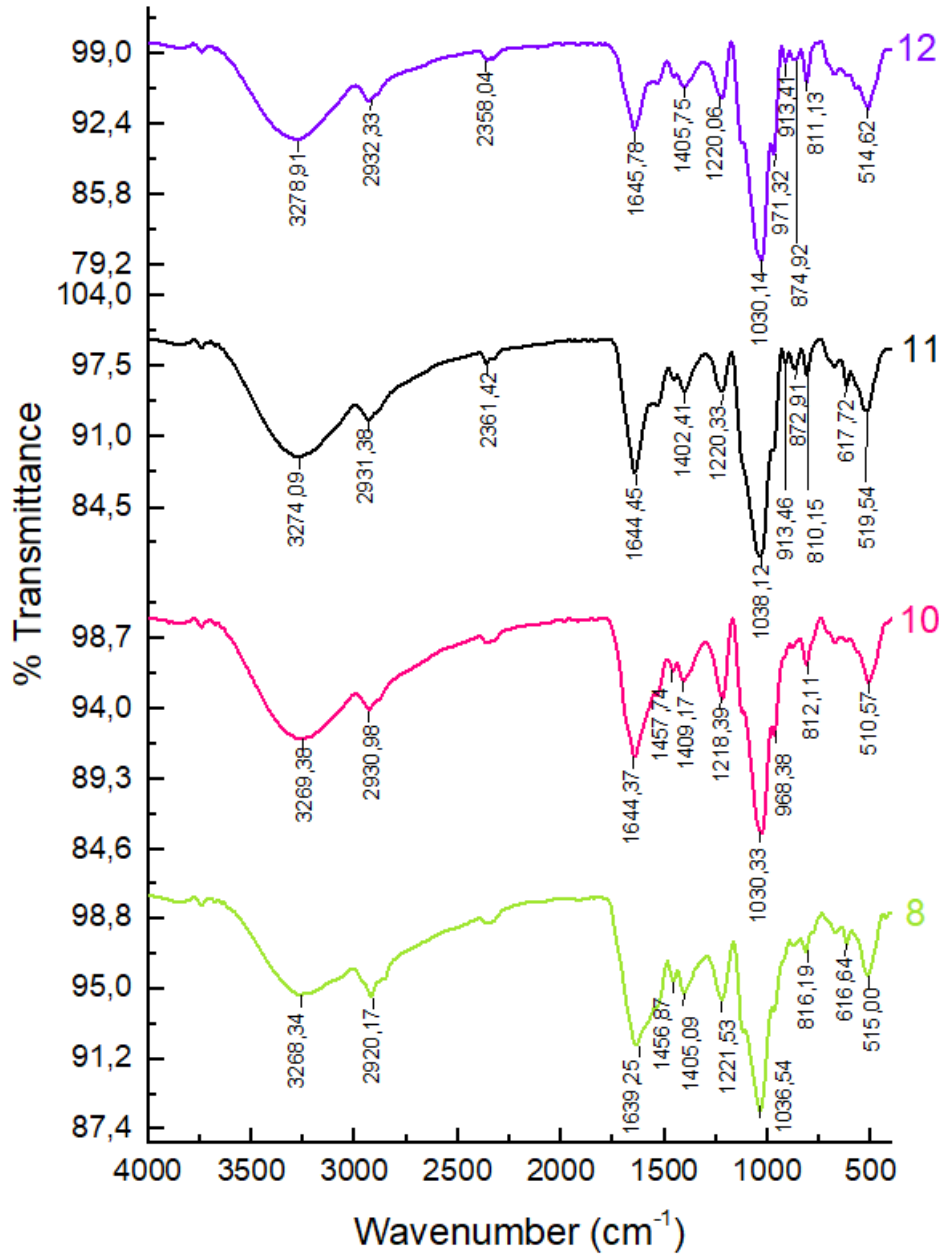
Örnek Adı İzolat kodu Örnek No	<i>Ln. citreum</i> M26F (1)	<i>Ln. lactis</i> M31F (2)	<i>Lc. lactis</i> M24F (3)	<i>Lc. paracasei</i> M32F (4)	<i>L.plantarum</i> M15F (8)	<i>Lc pentosus</i> M7F (10)	<i>L.brevis</i> M18F (11)	<i>L.fermentum</i> M3F (12)	Bölge Açıklama
Pikler bölgeleri cm-1	3271	3310	3244	3225	3268	3269	3274	3278	-OH bandı
	2932	2934	2933	2933	2920	2930	2931	2932	C-H gerilimi CH ₂ grubuna bağlı
	1639	1642	1627	1634	1639	1644	1644	1645	C=O bandı Amid I ve N-H bandı Amid II
	1410	1411	1406	1407	1456	1457	1402	1405	-C=H grubu gerilim titreşimi
	1221	1233	1228	1223	1221	1218	1220	1220	C-C bandı
	1040	1050	1043	1041	1036	1030	1036	1036	C-O gerilim titreşimi, C-O-C gerilimi
	811	812	812	811	816	812	810	874	C-H bükülme titreşimi
	511	517	511	508	515	510	519	514	



Şekil 4. 9. EPS'lerin Fourier Dönüşümlü Kıızıl Ötesi Spektrometresi (FTIR) Spektrumları (birleştirilmiş)



Şekil 4. 10. EPS'lerin Fourier Dönüşümlü Kıızıl Ötesi Spektrometresi (FTIR) Spektrumları(Ayrıntılı)



Şekil 4. 11. EPS'lerin Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrometresi (FTIR) Spektrumları(Ayrıntılı)

Şekil 4.9, 4.10 ve 4.11' de görüldüğü gibi 800-3400 cm^{-1} spektral bölgesinde benzer tipik pikler verdiği belirlenmiştir. *Ln.citreum* M26F (1), *Ln.lactis* M31F (2), *L.pentosus* M7F (10) bakterisi, *L. brevis* M18F (11) ve *L.fermentum* M3F (12) 3000-3500 cm^{-1} spektral bölgede yayvan benzer pikler vermiştir. Literatürlerde O-H gerilimi ve N-H bandı 3275 cm^{-1} ; C=O gerilimi (amide I), 1625 cm^{-1} ; N-H bandı (amide II), 1533 cm^{-1} ; C-N gerilimi (amide III) 1236 cm^{-1} olarak ifade edilmiştir (Uranga vd. 2020). Ayrıca araştırmacılar 3500-3400 cm^{-1} arasındaki bandın -OH ve -O arasındaki molekül içi hidrojen bağları ile ilişkili olduğu, 3400-3100 cm^{-1} arasındaki bantların moleküller arasında hidrojen bağlarından kaynaklandığı bildirmektedir.

Yapılan çalışmalarda 3330 cm⁻¹ titreşim geriliminde -OH olduğu (Wang, Li, Liu, Ahmed, Xiao ve Bai, 2010), 1645-1627 cm⁻¹ bandının benzer şekilde proteinlerin karbonil kaynaklı proteinlerin Amid I bağından dolayı pik verdiği bildirilmiştir. Bir diğer çalışmada 3410 ve 2935 cm⁻¹ gelen piklerin sırasıyla -OH ve C-H bandını gösterdiğini 1620 cm⁻¹ pikinin HOH titreşimini gösterdiğini, 1057 cm⁻¹'in ise C-H gerilim titreşimi gösterdiğini bildirmiştir. 1000-1200 cm⁻¹ arasındaki bandın C-O-C karakteristik grubu C-O karbonhidratların alkol gruplarını göstermektedir (Shingel, 2002; Li, Gao, Wang, Tian, Yuan ve Zhu 2016).

Başka bir çalışmada 3448 cm⁻¹'de görülen pikin karbonhidratların hidroksil grubunu karakterize eden -OH grubunu gösterdiğini (Lim, Joo ve Kim, 2005), 2578 cm⁻¹'de görülen pikin C-H geriliminin metil ve metilen gruplarına ait olduğunu (İsmail ve Nampoothiri, 2010), 2131-2095 cm⁻¹ bandının serbest karboksil gruplarına ait olduğunu (Osman, 2012), 1673 cm⁻¹ gerilim titreşiminin C=O grubunu gösterdiğini (Yadav, Prappulla, Jha ve Poonia, 2011), 1219 cm⁻¹ bandının C-O geriliminin alkol gruplarına ait olabileceğini, ana absorpsiyon bandının 927 cm⁻¹'de C-O-C glikozidik bağı gösterdiğini (Paulo, Boffo ve Branco, 2012), parmak izi bölgesinin 1500 cm⁻¹'in altında olduğunu bu bandın polisakkaritlerin varlığına işaret ettiğini Wang vd. (2014), 836 cm⁻¹ pikinin α D- gluklan ile karakterize edildiğini bildirmişlerdir (İspirli, Sagdic, Yılmaz ve Dertli, 2019).

Başka bir çalışmada belirlenen *L.plantarum*'un ürettiği EPS'lerin FTIR analiz sonuçlarına göre; 3320 cm⁻¹ titreşim gerilimi karbondidratların -OH grubunu, 2922 cm⁻¹ gerilimin C-H asimetric metil gruplarını, 1642 cm⁻¹ titreşimi geriliminin C=O polisakkaritleri, 1200-950 cm⁻¹ arasındaki bandın parmak izi bölgesinde ekzopolisakkaritleri gösterdiğini, 1024cm⁻¹ pikinin α (1-6) glikozidik bandını gösterdiğini, 950-700 cm⁻¹ bandının anomorik bölge mannoz varlığını, 1000-1200 cm⁻¹ bölgede polisakkaritlerin □ piranoz içerdiklerini bildirmişlerdir (Bremer ve Geesey, 1991; Chi, Su ve Lu, 2007).

EPS'ler üzerine yapılan başka bir çalışmada FTIR sonuçlarına göre 3032-3610 cm⁻¹ bandındaki piklerin polimer yapıda olan karbonhidratların -OH grubunu (Wang vd., 2010) 2932 cm⁻¹ pikinin alifatik asimetric CH₂ grubunun C-H gerilim titreşimini gösterdiği bununda ortamda protein, şeker vb. organik maddelerin varlığına işaret ettiği 1647 cm⁻¹ pikinin mannoz ve galaktoza işaret ettiği (Kavita, Singh, Mishra ve Jha, 2014), 1549 cm⁻¹ pikinin N-H proteinlerin Amid II bandının varlığını gösterdiği (Lin vd., 2005), 1626-1695 cm⁻¹ bandındaki gerilim titreşiminin C-O Amid I ve 1500-1600 cm⁻¹ bandındaki titreşim geriliminin N-H proteinleri Amid II bandını göstermektedir (Lin vd., 2005). 1000-1200 cm⁻¹ absorbans pikinin

C-O ve C-O-C karbonhidratların oluşumunda glikosidik bağlara işaret ettiği (Zang vd., 2013), 1056 cm^{-1} pikinin ise polisakkaritlerin varlığını gösterdiği bildirilmiştir (Jin, Wang, XuC, Huang ve Wang, 2010; Wang, Zhao, Tian, Yang ve Yang, 2015).

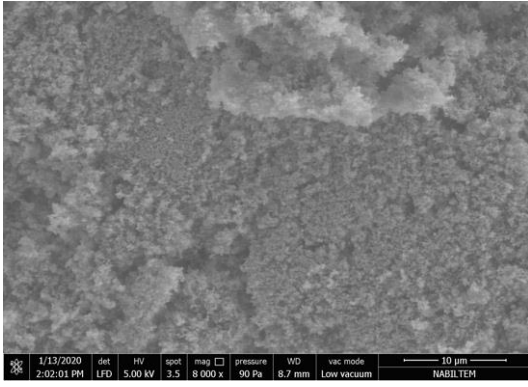
Nguyen vd. (2018) yaptıkları çalışmada 3425 cm^{-1} bandının -OH grubunu, 2934 cm^{-1} bandının CH_2 , 1457 cm^{-1} bandının -CH grubunu, 1224 cm^{-1} bandının C-C grubunu, 1645 cm^{-1} bandının C=O grubunu ve 1056 cm^{-1} bandının C-O grubunu ifade ettiğini bildirmişlerdir.

Weissella ciberia'nın ürettiği EPS'lerin yapısal özelliklerinin incelendiği başka bir çalışmada FTIR spektrumlarının 3340 cm^{-1} gerilim titreşiminin karbonhidratlardan -OH grubunu, 2925 cm^{-1} absorpsiyon pikinin asimetrik C-H gerilim titreşiminden metil grubunu, 1646 cm^{-1} pikinin polisakkaritleri gösterdiğini (Bremer vd., 1991) karbonhidratların 950-1200 cm^{-1} bandında yüksek absorbans gösterdiği ve bu kısmın ekzopolisakkaritlerin parmak izi bölgesi olduğunu (Manrique ve Lajolo, 2002; Park, Ahn, Kim ve Chung, 2013) ve 1152-1105 ve 1017 cm^{-1} piklerinin ise polisakkaritlerden α piranozun varlığına işaret ettiğini (Chi vd., 2007), başka bir çalışmada 1014 cm^{-1} pikinin dekstran varlığına işaret ettiği çevresindeki bağların α -1,6 glikozidik bağların olduğunu (Saravanan ve Shetty, 2016) 915 cm^{-1} pikinin ise α glikozidik bağları gösterdiğini, bildirmişlerdir (Tain, Zhao, Zeng ve Zhang, 2016) diğer bir çalışmada 863 cm^{-1} pikinin α glikozidik bağ olduğunu, 950-700 cm^{-1} bandının anomerik bölge polisakkaritler ile karakterize edildiğini 812 cm^{-1} pikinin ise mannoz varlığına işaret ettiğini bildirmişlerdir (Mathlouhi ve Koenig, 1986).

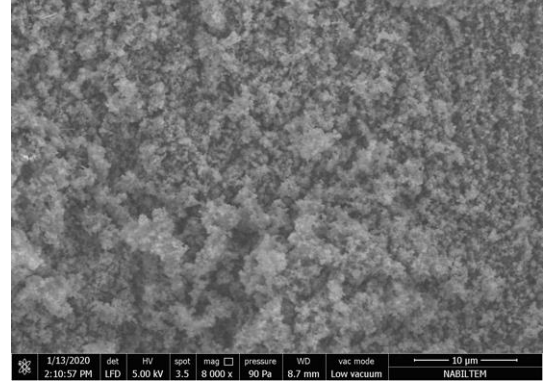
4.14.2. EPS örneklerinin SEM Görüntüleri

LAB'lerin üretmiş olduğu EPS'lerin mikroyapıları, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile görüntülenmiştir. Polimer yapılarının yüzey özelliklerinin incelenmesi, karakterizasyonu ortaya konulması için çok önemlidir. EPS Örneklerine ait SEM görüntüleri Şekil 4.12' de gösterilmiştir. SEM migrograflarının elde edilmesinde EPS örnekleri kurutulduktan sonra toz örnekler kullanılmıştır.

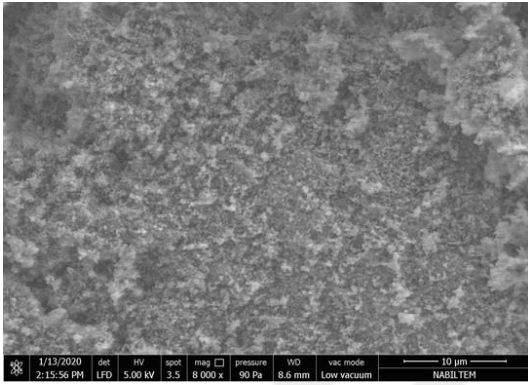
SEM görüntülerinde birbiri ile benzerlik göstermekle birlikte özellikle *L.plantarum*'un üretmiş olduğu EPS daha büyük partüküllere sahip olduğu diğer örneklerde homojen ve az pürüzlü yapıya sahip olduğu görülmektedir. *L.pentosus* bakterisinin ise az pürüzlü olduğu düzgün bir yapıya sahip olduğu görülmektedir.



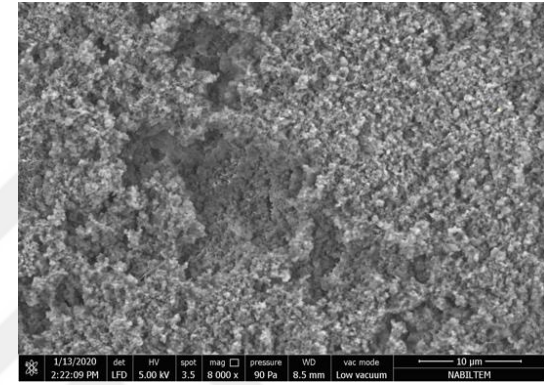
Leuconostoc citreum M26F (1)



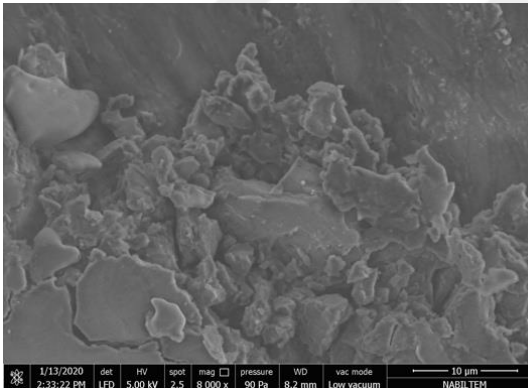
Leuconostoc lactis M31F (2)



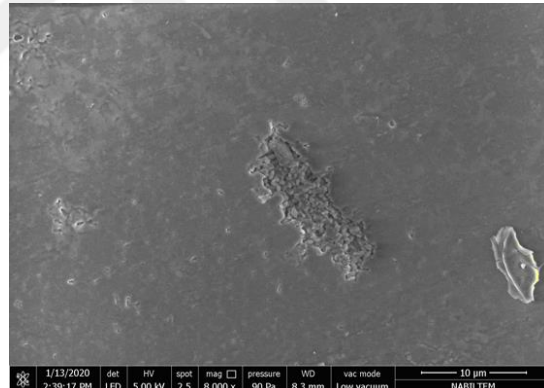
Lactococcus lactis M24F (3)



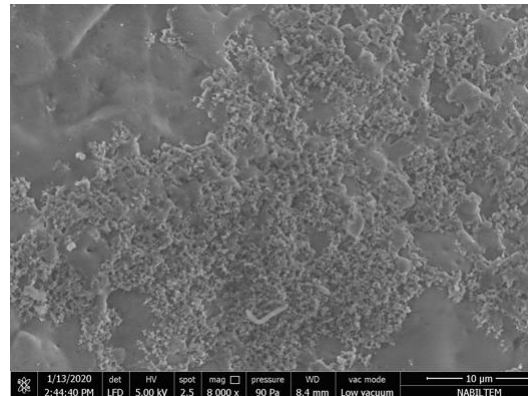
Lacticaseibacillus paracasei M32F (4)



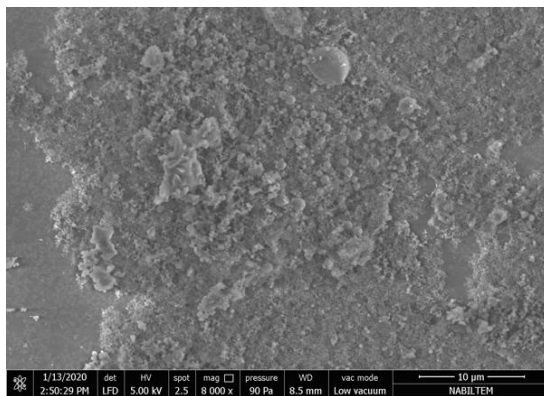
Lactiplantibacillus plantarum M15F (8)



Lactobacillus pentosus M7F (10)



Levilactobacillus brevis M18F (11)



Limosilactobacillus fermentum M3F (12)

Şekil 4. 12. LAB izolatlarının ürettiği EPS'lerin SEM Görüntüleri

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Trakya Bölgesi Velimeşe Beldesinde geleneksel olarak üretilen 5 farklı Bozadan izole edilmiş ve PZR yöntemi ile tanımlanmış izolatların *L.fermentum* (M3F), *L.brevis* (M18F), *Ln.citreum* (M26F), *L.pentosus* (M7F), *L.plantarum* (M15F), *Ln.lactis* (M31F), *Lc.lactis* (M2F) ve *L.paracasei* (M32F) olarak tanımlanmıştır. İzolatların asit üretimi *Ln.citreum* (M26F), *Ln.lactis* (M31F), *Lc.lactis* (M24F), *L.paracasei* (M32F) izolatları başlangıçta 7,13 olan pH değerini 48 saatin sonunda 5,63 değerine düşürmüş ve bu bakterilerin geliştikleri ortamların pH değeri 48. saat sonra 5,63-5,67 arasında değişmiştir. *L.plantarum* (M15F), *L.pentosus* (M7F), *L.brevis* (M18F), *L.fermentum* (M3F) izolatları başlangıçta 5,6 pH'ya sahip olan ortamların 48 saat sonunda pH değerleri 3,78'e kadar düşürmüş ve bu bakterilerin geliştiği ortamların pH değerleri 48. saatte 3,78-4,22 arasında ölçülmüştür. Tüm izolatlar geliştikleri ortamın asitliğini düşürmüştür. Bu özellikleri nedeniyle tüm izolatların antogonistik ilişki içerisinde patojen bakterilerin gelişmesini durdurabileceği düşünülmektedir. İzolatların laktik asit ve/veya etanol veya asetik asit üretmek için karbonhidratları fermente eden bakteriler olduğundan ürettiği organik asitler, ortamın pH'sını düşürmesi nedeniyle asidik koşullara duyarlı olan bakterilerin gelişmesini inhibe edebileceği düşünülmektedir.

İzolatların hiçbirinin H₂S üretmediği belirlenmiştir. Bazı bakterilerin besin ortamındaki kükürtlü amino asitleri kullanarak hidrojen sülfür oluşturdukları, Hidrojen sülfür üretiminin sülfid redüktaz ve sistein desülfhidraz enzim aktivitesine bağlı olduğunu bundan dolayı bazı laktik asit bakterilerinin hidrojen sülfür üretmediğini bildirilmiştir. Laktobasillerin jelatini kullanmadığı, kazeini de kullanmamalarına karşın az miktarda çözülmüş haldeki nitrojeni enerji zincirleri aracılığı ile kullandıkları ve bu işlem sonucunda indol ve H₂S oluşmadığı bildirilmiştir (Şen, Toprak, Güneş ve Halkman, 2004).

İzolatların hidrojen peroksit üretim miktarı 1,21-5,92 µg/mL değerleri arasında değişmektedir. En yüksek hidrojen peroksit değeri 5,92 µg/mL ile *L.plantarum* bakterisinde olduğu, bunu 4,25 µg/mL ile *L.fermentum* izlediği, en düşük hidrojen peroksit değerinin ise 1,21 µg/mL ile *Ln.lactis* olduğu belirlenmiştir. Bazı laktik asit bakterileri pek çok mikroorganizmanın gelişmesini engelleyecek hidrojen peroksit üretebilir. H₂O₂ üretimi diğer mikroorganizmaların hassas membran lipidlerini ve proteinlerini okside ederek antimikrobiyal etki sağlamaktadır. Diğer bir antimikrobiyal metabolit olan diasetil üretimi izolatlarımızdan sadece *L.plantarum* diasetil üretmiş diğer izolatların hiçbiri diasetil üretememiştir. Laktik asit

fermantasyonları sonucu ortaya çıkan diasetil gibi aromatik bileşikler fermente gıdalarda kendine özgü tad ve aroma veren ürünler arasında olup diğer mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal özellik göstermektedirler.

Tüm izolatların *E.coli*, *E.coli* O157:H7, *S.Enteritidis* üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği, benzer şekilde tüm izolatların en etkili *V.parahaemolyticus* üzerine antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir. *L.pentosus* tüm test bakterileri üzerine etki ederken, *L.plantarum* *L.monocytogenes* hariç diğer patojenler üzerine oldukça etkili olduğu belirlenmiştir. Probiyotikleri seçerken, suşların mide-bağırsak yolunda patojenik bakteri üremesini engellemesi büyük önem taşımaktadır. Patojenlere karşı antibakteriyel aktivite, sindirim sürecini iyileştirme gibi farklı faydalı etkileri olan LAB tüketicilerinin sağlığı için faydalı olabileceği düşünülmektedir. İzolatlarımızın patojenik ve bozucu bakterilerin büyümesini önleyebilen farklı antimikrobiyal bileşikler üretme kabiliyetinde olduğu ifade edilebilir.

İzolatların protein sentezini inhibe eden Tetracycline (TE) antibiyotiğine karşı *Ln.lactis* (M31F), *L.brevis* (M18F) izolatlarının orta, diğer izolatlarının ise duyarlı oldukları Cefixime (CFM) antibiyotiğine karşı *L.pentosus* (M7F), *L.plantarum* (M15F) izolatlarının duyarlı olduğu; *Ln.lactis* (M31F), *Lc.lactis* (M24F), *Ln.citreum*(M26F), *L.paracasei*(M32F), *L.brevis* (M18F), *L.fermentum* (M3F) izolatlarının direçli oldukları belirlenmiştir. Amoxicilline (AML) ve hücre duvar sentezini inhibe eden Ampicillin (AMP) antibiyotiğine karşı tüm izolatların duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Streptomycine (S) antibiyotiğine karşı tüm izolatların direç gösterdikleri belirlenmiştir. Yaygın olarak kullanılan insan ve veteriner antibiyotiklerine duyarlılığın değerlendirilmesi potansiyel probiyotik suşları için önemlidir. Konakçı için zararlı olabilecek patojenlerin antibiyotiğe duyarlı olması, probiyotik olarak nitelendirdiğimiz bazı LAB'lerinin ise bu antibiyotiklere karşı direç göstermesi önemlidir.

İzolatlardan *L.plantarum* (M15F), *L.pentosus* (M7F), *L.brevis* (M18F) ve *L.fermentum* (M3F) 4°C'de zayıf gelişme gösterirken, diğer sıcaklıklarda iyi gelişme gösterdiği, 30°C'de ise aynı bakteriler iyi gelişme gösterdiği, *L.plantarum* (M15F) ise 30°C'de çok iyi gelişme gösterdiği tespit edilmiştir. Tüm izolatlarda 4, 15, 30 ve 45°C'de geliştiği tespit edilirken özellikle 4 ve 45°C'de gibi sıcaklıklarda düşük düzeyde de olsa gelişme gösterdiği belirlenmiştir. İzolatların mezofil şartlarda iyi geliştiği sonucuna varılmıştır.

Tüm izolatların %2 NaCl ve %6 NaCl varlığında iyi gelişme gösterdiği, %10 NaCl varlığında *L.plantarum*, *L.pentosus*, *L.brevis*, *L.fermentum*'un zayıf gelişme gösterdiği, diğer

izolatların hiçbirinde ise gelişme görülmediği tespit edilmiştir. *L.plantarum*, *L.pentosus*, *L.brevis*, *L.fermentum* izolatları kontrol örnekleri yani NaCl'siz ortamda çok iyi gelişme gösterirken, %2 NaCl varlığında *L.brevis*, *Ln.citreum*, *Ln.lactis*, *Lc.lactis* ve *L.paracasei* iyi gelişme göstermiş, *L.plantarum*, *L.pentosus* ve *L.fermentum* ise çok iyi gelişme göstermiştir. Benzer şekilde izolatların farklı pH değerinde gelişimi sonuçlarına göre 6 ve 9,6 pH da gelişme belirlenirken, 2 ve 3,5 pH da *L.plantarum*, *L.pentosus*, *L.brevis*, *L.fermentum* izolatların gelişme gösterdiği diğer izolatların ise bu pH değerlerinde gelişmediği tespit edilmiştir. Probiyotik olarak kullanılan bazı laktik asit bakterileri, farklı tuzluluk seviyelerine direnç gösterdiği bilinmektedir. Bağırsak yolunda kolonileşen bakteriler, besinler ve alan için rekabet yoluyla patojenik bakterileri inhibe etmektedir. Probiyotik potansiyeli belirlemek amacıyla bağırsak yolunu kolonize etme yeteneğinin belirlenmesinin yanında bakterinin pH, NaCl ve safra tuzlarına direnç gibi spesifik in vitro testlerin önemli olduğu ve probiyotik seçiminin bu özelliklere göre şekillenebileceği düşünülmektedir. Probiyotik bakterilerin diğer izole edilmiş bakteriler ile karşılaştırıldığında hem asit pH (2,5) hem de alkali pH (9,0) için pH direncinin olduğu, bu özellik ile probiyotik bakterilerin konağın diyetinde kullanılabileceği yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur.

İzolatların otoliz oranı (RA) ve Otoliz derecesi (EA) sonuçlarına göre, en yüksek RA ve EA değerine sahip *L.brevis* olduğu tespit edilmiştir. Diğer izolatlar ise *L.brevis* izolatına göre çok daha düşük RA ve EA derecesine sahiptir. Otoliz oranı en düşük 0,01 ile 0,209 arasında değiştiği belirlenmiştir. Otoliz derecesi incelendiğinde, en yüksek otoliz derecesi 0,429 ile *L.brevis* olurken, bunu 0,286 ile *L.fermentum* takip etmiştir. Diğer izolatlar bu iki bakteriye göre daha düşük otoliz derecesine sahip olup 0,014 ile 0,13 arasında bir değere sahiptir. Bakteri hücre yapılarında özellikle hücre zarı peptidoglikan tabakaları içermektedirler. LAB hücre içinde bulunan ve aromatik peptitlerin açığa çıkarma özelliklerine sahip peptidazların substratla karşılaşması bu bakterilerin otolizi ile gerçekleştiği ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Bunun sonucu olarak uçucu aroma bileşiklerinin oluşumunda ön bileşik olan aromatik, dallanmış zincirli ve sülfür içeren amino asitler açığa çıkabilmektedir.

İzolatlardan sadece *L.plantarum* M15F izolatı diasetil ürettiği, diğer izolatların ise diasetil üretmedikleri belirlenmiştir. İzolatların %3 ve %6 alkol varlığında tüm izolatların iyi gelişme gösterdiği tespit edilirken, %12 alkol varlığında *L.plantarum*, *L.pentosus*, *L.brevis* izolatlarında gelişme olmadığı diğer izolatlarda (*Ln.citreum*, *Ln.lactis*, *L.paracasei*, *Lc.lactis* ve

L.fermentum) ise zayıf bir gelişmenin olduğu tespit edilmiştir. %15 alkol varlığında ise sadece *Ln.lactis* izolatının zayıf bir gelişme gösterdiği belirlenmiştir. İzolatlardan *L.paracasei*, *L.plantarum*, *Lc.lactis* gibi bazılarının homofermentatif, *L.brevis*, *L.fermentum* gibi bazılarının da heterofermentatif bakteriler olduğu bilinmektedir. LAB'nin yüksek oranda alkole dayanıklı olması özellikle fermente ürünlerde kullanılabilme potansiyelinin olduğunun bir göstergesidir.

LAB izolatlarının 4. saat sonunda %0,30 safra tuzuna karşı canlılık oranı 102%-110% arasında değiştiği tespit edilmiştir. %0,30 safra tuzuna karşı dayanıklılıkları 4.saatte en yüksek izolat *L.fermentum*'dur. 24 saat sonrasında ise canlılık oranı 87%-121,6% arasında değiştiği ve canlılık oranı en yüksek izolat %121,6 ile *L.pentosus* olduğu belirlenmiştir. Safra tuzu, mikroorganizmaların hücre duvarını parçalayarak bakterisit etkisi yapmaktadır. Safra tuzlarının, bakteriyal hücreler üzerine hücre membranının organizasyonunu bozarak toksik etkisi olduğu için probiyotiklerin en önemli özelliklerindedir. Yapılan çalışmaların safra tuzuna toleransın, temel bir probiyotik özellik olduğunu ve %0,15 ile %0,3 safra konsantrasyonu, probiyotiklerin seçimi ideal olduğunu göstermektedir.

İzolatların hidrofobisite yetenekleri xylene göre en yüksek izolat %90,99 ile *L.plantarum* iken, bunu sırasıyla %64,23 ile *L.brevis*, %60,57 ile *L.fermentum* izlemiştir. Xylene göre en düşük izolat %9,97 ile *Ln.citreum* olduğu tespit edilmiştir. LAB suşlarının hücre yüzeyi hidrofobikliği kloroforma göre en yüksek izolat %98,55 ile *L.brevis* belirlenirken, bunu sırasıyla %95,74 ile *L.plantarum*, %83,49 ile *L.pentosus*, %71,47 ile *L.fermentum* izlemiştir. Kloroforma göre en düşük izolat %17,08 ile *Lc.lactis* belirlenmiştir. İzolatların bu özelliği bu tür suşların konakçı GIT'in epitel hücrelerine yapışma potansiyelini gösteren hayati bir özellik olması açısından çok önemlidir. Yüksek hidrofobiklik, LAB suşlarımızın iyi bağlanma özelliklerine sahip olduğunu ve probiyotik olarak alındığında konakçıda yeterli bariyer işlevi gösterebileceği düşünülmektedir.

LAB izolatlarının EPS üretim miktarları 1,78-5,75 mg/L arasında değiştiği belirlenmiştir. *L.plantarum* bakterisi 5,75 mg/L EPS üretimi ile en çok EPS üretirken bunu 4,07 mg/L ile *L.pentosus* ve 3,23 mg/L ile *L.brevis* izlemiştir. En düşük EPS üretimi *L.fermentum* ve *Ln.citreum* sırasıyla 1,78 ile 1,95 mg/L EPS ürettiği tespit edilmiştir. Üretilen EPS'ler gıdalarda viskozite ve reoloji, patojenik bakteri inhibe edici, bağırsakta kolonizasyonu destekleyen probiyotikler ve bağırsak mikroflorası özelliğinin dengesini koruma gibi fizyolojik özelliklerini sağlayabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, kolesterol düşürücü özellikler,

antioksidan, inflamasyonu düzenleyen, anti-tümör, anti-pıhtılaşma ve antivirüs aktiviteleri gibi bazı benzersiz biyolojik aktiviteler sergileme yeteneği de LAB türevi EPS'lerde yaygın olduğu ifade edilmektedir (Zhou vd., 2019).

Sonuç olarak; Bozadan izole edilmiş izolatların LAB'leri düşük pH, yüksek safra tuzu ve NaCl konsantrasyonlarını tolere edebildiğini göstermiştir. Ayrıca patojen test bakterileri üzerine antimikrobial etki gösterdiği Streptomycine antibiyotiğine dirençli oldukları, Tetracycline, Cefixime, Amoxycillin, Ampicillin antibiyotiklerine karşı hassas oldukları belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre izolatlardan bazıları probiyotik özellik göstermesine rağmen izolatların daha geniş kapsamlı çalışılması daha doğru sonuçların alınmasına neden olacaktır. Probiyotik özellikleri kanıtlamak için simüle edilmiş mide suyunda hayatta kalabilme, otoagregasyon ve koagregasyon, hemolitik aktivite, bakteriyosin üretimi gibi analizlerin de yapılması büyük önem arz etmektedir.

Ayrıca tüm bu veriler ışığında, çalışmamıza ek olarak bakteriyofajlara duyarlılıkları, asit ve aroma bileşikleri oluşturma kabiliyetleri, proteoliz kapasiteleri ve bakteriyosin üretme potansiyelleri ile starter kültür olma potansiyelini ortaya konulabilir.

KAYNAKLAR

- Aarti, C., Khusro, A., Varghese, R., Arasu, M. V., Agastian, P., Al-Dhabi, N. A., ... & Choi, K. C. (2017). In vitro studies on probiotic and antioxidant properties of *Lactobacillus brevis* strain LAP2 isolated from Hentak, a fermented fish product of North-East India. *LWT*, 86, 438-446.
- Aazmi, S., Teh, L. K., Ramasamy, K., Rahman, T., & Salleh, M. Z. (2015). Comparison of the anti-obesity and hypocholesterolaemic effects of single *Lactobacillus casei* strain Shirota and probiotic cocktail. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(7), 1589-1597.
- Abdou, M. (2014). *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgarius* türüne ait suşların eps üretimlerinin agregasyon özellikleri üzerine etkisinin ve hidrofobisitelerinin araştırılması (Yüksek Lisans Tezi), Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara
- Abushelaibi, A., Al-Mahadin, S., El-Tarabily, K., Shah, N. P., & Ayyash, M. (2017). Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from camel milk. *LWT-Food Science and Technology*, 79, 316-325.
- Adebayo-Tayo, B. C., & Popoola, A. O. (2017). Biogenic synthesis and antimicrobial activity of silver nanoparticle using exopolysaccharides from lactic acid bacteria. *International Journal of Nano Dimension*, 8(1), 61-69.
- Adesulu-Dahunsi, A. T., Jeyaram, K., & Sanni, A. I. (2018). Probiotic and technological properties of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria isolated from cereal-based nigerian fermented food products. *Food Control*, 92, 225-231.
- Adiana MA, Mazura MP. (2011). Study on *Senna alata* and its different extracts by Fourier transform infrared spectroscopy and two dimensional correlation infrared spectroscopy. *J Mol Struct*, 991 (2011) 84-91.

- Ahmad, V., Khan, M. S., Jamal, Q. M. S., Alzohairy, M. A., Al Karaawi, M. A., & Siddiqui, M. U. (2017). Antimicrobial potential of bacteriocins: in therapy, agriculture and food preservation. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 49(1), 1-11.
- Akepaer, M. (2015). Bazı *Enterococcus Lactococcus* ve *Pediococcus* bakterilerinin probiyotik özelliklerinin araştırılması (Yüksek Lisans Tezi), Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara
- Akpınar, A. (2015). Orijini farklı kıymızlardan izole edilen laktik asit bakterileri ile mayaların tanımlanması ve keçi sütünden kıymız üretimi (Doktora Tezi), Ege Üniversitesi Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, Bornova-İZMİR
- Al Kassaa, I., Hamze, M., Hober, D., Chihib, N. E., & Drider, D. (2014). Identification of vaginal lactobacilli with potential probiotic properties isolated from women in North Lebanon. *Microbial ecology*, 67(3), 722-734.
- Alakomi, H. L., Skyttä, E., Saarela, M., Mattila-Sandholm, T., Latva-Kala, K., & Helander, I. M. (2000). Lactic acid permeabilizes Gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Applied and environmental microbiology*, 66(5), 2001-2005.
- Alan, Y. & Dığrak, M. (2012). Doğal turşulardan izole edilen *Lactobacillus plantarum* suşlarının izolasyonu ve tanımlanması. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 15(2), 46-49.
- Albayrak, Ç. B. (2017). Antifungal Aktivite Üreten Laktik Asit Bakterileri. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14(1), 79-85.
- Al-Dohail, M. A., Hashim, R., & Aliyu-Paiko, M. (2009). Effects of the probiotic, *Lactobacillus acidophilus*, on the growth performance, haematology parameters and immunoglobulin concentration in African Catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) fingerling. *Aquaculture Research*, 40(14), 1642-1652.

- Ale, E. C., Perezlindo, M. J., Pavón, Y., Peralta, G. H., Costa, S., Sabbag, N., ... & Binetti, A. G. (2016). Technological, rheological and sensory characterizations of a yogurt containing an exopolysaccharide extract from *Lactobacillus fermentum* Lf2, a new food additive. *Food Research International*, 90, 259-267.
- Alp, D., & Kuleşan, H. (2019). Farklı Kaynaklardan İzole Edilmiş Laktik Asit Bakterilerinin Ekzopolisakkarit Üretimi ve Kolesterol Asimilasyon Yeteneklerinin Belirlenmesi. *GIDA/The Journal of FOOD*, 44(2).
- Alp, D., & Öner, Z. (2014). Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri Ve Aroma Maddeleri Oluşturma Özelliklerinin Belirlenmesi. *Gıda/The Journal of FOOD*, 39(6).
- Amenu, D. (2013). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from “Ergo”, Ethiopian traditional fermented milk. *Curr. Res. Microbiol. Biotechnol*, 1(6), 278-284.
- An, S. Y., Lee, M. S., Jeon, J. Y., Ha, E. S., Kim, T. H., Yoon, J. Y., ... & Lee, K. W. (2013). Beneficial effects of fresh and fermented kimchi in prediabetic individuals. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 63(1-2), 111-119.
- Anandharaj, M., & Sivasankari, B. (2014). Isolation of potential probiotic *Lactobacillus oris* HMI68 from mother's milk with cholesterol-reducing property. *Journal of bioscience and bioengineering*, 118(2), 153-159.
- Andiç, S., Tunçtürk, Y., & Boran, G. (2015). Changes in volatile compounds of cheese. In *Processing and impact on active components in food. Academic Press* (pp. 231-239).
- Angmo, K., Kumari, A., & Bhalla, T. C. (2016). Probiotic characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented foods and beverage of Ladakh. *LWT-food Science and Technology*, 66, 428-435.

- Annuk, H., Shchepetova, J., Kullisaar, T., Songisepp, E., Zilmer, M., & Mikelsaar, M. (2003). Characterization of intestinal lactobacilli as putative probiotic candidates. *Journal of Applied Microbiology*, 94(3), 403-412.
- Anonim, (1992). TS 9778 Boza Standardı, Türk Standartları Enstitüsü Necatibey Caddesi 112, Bakanlıklar, Ankara.
- Arici, M., & Daglioglu, O. (2002). Boza: a lactic acid fermented cereal beverage as a traditional Turkish food. *Food Reviews International*, 18(1), 39-48.
- Aslım, Belma., Toksoy, A., & Beyatlı, Y. (1999). Sucuk ve sosislerden izole edilen *Lactobacillus plantarum* suşlarının bazı metabolik ve antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi.
- Atassi, F., & Servin, A. L. (2010). Individual and co-operative roles of lactic acid and hydrogen peroxide in the killing activity of enteric strain *Lactobacillus johnsonii* NCC933 and vaginal strain *Lactobacillus gasseri* KS120. 1 against enteric, uropathogenic and vaginosis-associated pathogens. *FEMS microbiology letters*, 304(1), 29-38.
- Badis, A., Guetarni, D., Boudjema, B. M., Henni, D. E., & Kihal, M. (2004). Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiology*, 21(5), 579-588.
- Balcázar, J. L., De Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Cunningham, D., Vendrell, D., & Múzquiz, J. L. (2006). The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary microbiology*, 114(3-4), 173-186.
- Balzaretti, S., Taverniti, V., Guglielmetti, S., Fiore, W., Minuzzo, M., Ngo, H. N., ... & Laws, A. P. (2017). A novel rhamnose-rich hetero-exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus paracasei* DG activates THP-1 human monocytic cells. *Applied and environmental microbiology*, 83(3).

- Bautista-Gallego, J., Alessandria, V., Fontana, M., Bisotti, S., Taricco, S., Dolci, P., ... & Rantsiou, K. (2014). Diversity and functional characterization of *Lactobacillus spp.* isolated throughout the ripening of a hard cheese. *International journal of food microbiology*, 181, 60-66.
- Bengoia, A. A., Llamas, M. G., Iraporda, C., Dueñas, M. T., Abraham, A. G., & Garrote, G. L. (2018). Impact of growth temperature on exopolysaccharide production and probiotic properties of *Lactobacillus paracasei* strains isolated from kefir grains. *Food microbiology*, 69, 212-218.
- Bokhorst-van de Veen, H., Bron, P. A., & Kleerebezem, M. (2015). Improving the Digestive Tract Robustness of Probiotic Lactobacilli. In *Probiotics and Prebiotics: Current Research and Future Trends*. Caister Academic Press.
- Botelho, PS., Maciel MI., Bueno, LA., Maria de Fatima FM, Marques DN., Silva TMS. (2014). Characterization of a new exopolysaccharide obtained from of fermented kefir grains in soymilk, *Carbohydrate polymers*, 107: 1-6.
- Boutrou, R., Sepulchre, A., Pitel, G., Durier, C., Vassal, L., Gripon, J. C., & Monnet, V. (1998). *Lactococcal lysis* and curd proteolysis: two predictable events important for the development of cheese flavour. *International Dairy Journal*, 8(7), 609-616.
- Bremer PJ., Geesey GG. (1991). An evaluation of biofilms developmentutilizing non-destructive attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy, *Biofouling*, 3, 89-100.
- Byczkowski, J. Z., & Gessner, T. (1988). Biological role of superoxide ion-radical. *International Journal of Biochemistry*, 20(6), 569-580.
- Caggianiello, G., Kleerebezem, M., & Spano, G. (2016). Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(9), 3877-3886.

- Carr, P., Geman, H., Madan, D. B., & Yor, M. (2002). The fine structure of asset returns: An empirical investigation. *The Journal of Business*, 75(2), 305-332.
- Castro, M. P., Palavecino, N. Z., Herman, C., Garro, O. A., & Campos, C. A. (2011). Lactic acid bacteria isolated from artisanal dry sausages: characterization of antibacterial compounds and study of the factors affecting bacteriocin production. *Meat science*, 87(4), 321-329.
- Cerit, Z. G., Baloğlu, M. C., & Yılmaz, R. (2021). Beyaz peynir mikrobiyotasında kültüromik ve shotgun metagenomik teknolojilerin değerlendirilmesi. *Gıda*, 46(3), 566-582.
- Chi Z., Su CD, Lu WD. (2007). A new exopolysaccharide produced by marine Cyanothecce sp. 113, *Bioresource Technology*, 98, 1329-1332.
- Choi, E. A., & Chang, H. C. (2015). Cholesterol-lowering effects of a putative probiotic strain *Lactobacillus plantarum* EM isolated from kimchi. *LWT-food Science and Technology*, 62(1), 210-217.
- Cibik, R., & Chapot-Chartier, M. P. (2004). Characterisation of autolytic enzymes in *Lactobacillus pentosus*. *Letters in applied microbiology*, 38(6), 459-463.
- Cogan, T. M. (1980). Les levains lactiques mésophiles. *Une revue. Le lait*, 60(597), 397-425.
- Collado, M. C., Gueimonde, M., Hernandez, M., Sanz, Y., & Salminen, S. (2005). Adhesion of selected Bifidobacterium strains to human intestinal mucus and the role of adhesion in enteropathogen exclusion. *Journal of food protection*, 68(12), 2672-2678.
- Collado, M. C., Meriluoto, J., & Salminen, S. (2008). Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains. *European food research and technology*, 226(5), 1065-1073.
- Cui, F., Liu, L., Zhao, Q., Zhang, Z., Li, Q., Lin, B., ... & Xie, Q. (2012). Arabidopsis ubiquitin conjugase UBC32 is an ERAD component that functions in brassinosteroid-mediated salt stress tolerance. *The Plant Cell*, 24(1), 233-244.

- Cui, M., Kim, H. Y., Lee, K. H., Jeong, J. K., Hwang, J. H., Yeo, K. Y., ... & Park, K. Y. (2015). Antiobesity effects of kimchi in diet-induced obese mice. *Journal of Ethnic Foods*, 2(3), 137-144.
- Çadırcı, B.H. (2003). Bazı Lactobacillus cinsi bakterilerin çeşitli Gram (+) ve Gram (-) bakteriler üzerine antagonistik etkisi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
- Çon, A. H., & Gökalp, H. Y. (2000). Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyal Metabolitleri ve Etki şekilleri.
- Çon, A. H., Doğu, M., & Gökalp, H. Y. (2002). Afyon'da büyük kapasiteli et işletmelerinde üretilen sucuk örneklerinin bazı mikrobiyolojik özelliklerinin periyodik olarak belirlenmesi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 26(1), 11-16.
- Daeschel, M. A. (1993). Applications and interactions of bacteriocins from lactic acid bacteria in foods and beverages. In *Bacteriocins of lactic acid bacteria* (pp. 63-91). *Academic Press*.
- Dahiya, R. S., & Speck, M. L. (1968). Hydrogen peroxide formation by lactobacilli and its effect on *Staphylococcus aureus*. *Journal of Dairy Science*, 51(10), 1568-1572.
- Dako, E., El Soda, M., Vuilleumard, J. C., & Simard, R. E. (1995). Autolytic properties and aminopeptidase activities of lactic acid bacteria. *Food Research International*, 28(5), 503-509.
- Dal Bello, F., Walter, J., Hertel, C., & Hammes, W. P. (2001). In vitro study of prebiotic properties of levan-type exopolysaccharides from lactobacilli and non-digestible carbohydrates using denaturing gradient gel electrophoresis. *Systematic and applied microbiology*, 24(2), 232-237.
- Dalié, D., A. Deschamps & F. Richard-Forget, (2010). Lactic acid bacteria – potential for control of mould growth and mycotoxins: A Review. *Food Control*, 21, 370–380.

- Darilmaz, D. O., & Beyatli, Y. (2012). Investigating hydrophobicity and the effect of exopolysaccharide on aggregation properties of dairy propionibacteria isolated from Turkish homemade cheeses. *Journal of food protection*, 75(2), 359-365.
- Das, G., Paramithiotis, S., Sivamaruthi, B. S., Wijaya, C. H., Suharta, S., Sanlier, N., ... & Patra, J. K. (2020). Traditional fermented foods with anti-aging effect: A concentric review. *Food Research International*, 109269.
- De Vries, M. C., Vaughan, E. E., Kleerebezem, M., & de Vos, W. M. (2006). *Lactobacillus plantarum*—survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract. *International Dairy Journal*, 16(9), 1018-1028.
- De Vuyst, L., De Vin, F., Vaningelgem, F., & Degeest, B. (2001). Recent developments in the biosynthesis and applications of heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 11(9), 687-707.
- Demir, E., Kaygusuz, E., Kılıç, G. B., Sedef, Yüce., & Soyuçok, A. (2017). Yoğurt örneklerinden izole edilmiş laktik asit bakterilerinin moleküler yöntemlerle tanımlanması ve ekzopolisakkarit üretimlerinin belirlenmesi. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(Ek (Suppl.) 1), 262-267.
- Demirok, N. T., & Alpaslan, M. (2017). Ticari Starter Kültür Kullanılmamış Fermente Süt Ürünlerinden İzole Edilen *Lactobacillus spp.*'nin Fenotipik ve Moleküler İdentifikasyonu ile Bu Bakterilerin Probiyotik Özelliklerinin İnvitro Koşullarda Araştırılması
- Dewey-Mattia, D., Manikonda, K., Chen, J., Kisselburgh, H., Pilewski, C., Sundararaman, P., & Crowe, S. (2017). Surveillance for foodborne disease outbreaks—United States, 2015: *annual report*.

- Díaz-Muñiz, I., Banavara, D. S., Budinich, M. F., Rankin, S. A., Dudley, E. G., & Steele, J. L. (2006). *Lactobacillus casei* metabolic potential to utilize citrate as an energy source in ripening cheese: a bioinformatics approach. *Journal of applied microbiology*, 101(4), 872-882.
- Dinçer, E.; Kıvanç, M.; Karaca, H. (2009) Biyokoruyucu Olarak Laktik Asit Bakterileri ve Bakteriyosinler, *Gıda*, 3, 26-34.
- Doğan, M. (2017). Bazı gıdalardan izole edilen bakterilerin probiyotik özelliklerinin araştırılması (Doktora Tezi), İstanbul Aydın Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul
- Duboc, P., & Mollet, B. (2001). Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *International Dairy Journal*, 11(9), 759-768.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.
- Dueñas, M., Munduate, A., Perea, A., & Irastorza, A. (2003). Exopolysaccharide production by *Pediococcus damnosus* 2.6 in a semidefined medium under different growth conditions. *International journal of food microbiology*, 87(1-2), 113-120.
- EFSA (2007). Scientific committee. introduction of a qualified presumption of safety (QPS) approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA1. *Opinion of the Scientific Committee* (Question No EFSA-Q-2005-293. EFSA J. 587, 1–16.
- Egan, K., Field, D., Rea, M. C., Ross, R. P., Hill, C., & Cotter, P. D. (2016). Bacteriocins: novel solutions to age old spore-related problems? *Frontiers in Microbiology*, 7, 461.
- Eklund, T. (1984). The effect of carbon dioxide on bacterial growth and on uptake processes in bacterial membrane vesicles. *International Journal of Food Microbiology*, 1(4), 179-185.
- El Soda, M. A. (1993). The role of lactic acid bacteria in accelerated cheese ripening. *FEMS Microbiology Reviews*, 12(1-3), 239-251.

- Elçiöğlu, Ö. (2010). Kargı tulum peynir'inden izole edilen laktik asit bakterilerinin starter ve probiyotik kültür özelliklerinin belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi), Eskisehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- El-Ziney, M. G. E. (1999). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria metabolites: The role of lactic acid, enterocin 5701 and reuterin.
- Er, S. (2016). Vajenden Probiyotik Bakterilerin İzolasyonu ve Bunların Antikanserojen Etkisinin Araştırılması (Doktora Tezi), Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir
- Ertekin, Ö., & Çon, A. H. (2014). Farklı gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin endüstriyel ve probiyotik zellikleri. *Akademik Gıda*, 12(4), 6-16.
- Ertürkmen, P., & Zübeyde, Öner. (2015). Beyaz peynir örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin başlatıcı (starter) kültür özelliklerinin biyokimyasal yöntemlerle belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 19(3), 9-16.
- Eryılmaz, F. T. (2011). Vajinal Sekresyondan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerine Ait Bazı Suşların Potansiyel Probiyotik zelliklerin Belirlenmesi, Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- Evren, M., Albayram, C. ve Apan, M., (2006). Laktik asit bakterilerinin oluşturduğu antimikrobiyal maddeler, *Türkiye 9. Gıda Kongresi*; 24-26 Mayıs Bolu.
- Gaenzle, M. G. (2015). Lactic metabolism revisited: metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Current Opinion in Food Science*, 2, 106-117.
- G-Alegria, E., Lpez, I., Ruiz, J. I., Senz, J., Fernndez, E., Zarazaga, M., ... & 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(1), 53-61.
- Genç Karadeniz, D. (2019) Meyve posalarının ekzopolisakkarit (EPS) üretimine etkisinin araştırılması (Yüksek Lisans Tezi), Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
- Gerez, C. L., Torres, M. J., De Valdez, G. F., & Rollán, G. (2013). Control of spoilage fungi by lactic acid bacteria. *Biological Control*, 64(3), 231-237.
- Gezginç, Y. (2010). Geleneksel yoğurtlardan izole edilen laktik asit bakterilerinin plazmit içeriği ve biyojenik amin üretimi bakımından gıda endüstrisinde kullanılabilirliğinin araştırılması. Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni ABD, Doktora tezi, 245s.
- Gezginç, Y., & Kılınç, A. E. (2019). Determination of The Potential Use of Exopolysaccharide-Producing *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* in Yogurt. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22, 401-408.
- Ghanbari, M., Jami, M., Kneifel, W., & Domig, K. J. (2013). Antimicrobial activity and partial characterization of bacteriocins produced by lactobacilli isolated from Sturgeon fish. *Food Control*, 32(2), 379-385.
- Gibson, G. R., J. M. Saveedra, S. MacFarlane, and G. T. MacFarlane. (1997). Probiotics and intestinal infections. Pages 10–39 in *Probiot-ic. 2: Applications and Practical Aspects*. R. Fuller, ed. Chapman & Hall, New York, NY.
- Gilliland, S. E. (1979). Beneficial Interrelationships Between Certain Microorganisms and Humans: Candidate Microorganisms for Use as Dietary Adjuncts 1, 2. *Journal of Food Protection*, 42(2), 164-167.

- Goldbohm, R. A., Chorus, A. M., Galindo Garre, F., Schouten, L. J., & van den Brandt, P. A. (2011). Dairy consumption and 10-y total and cardiovascular mortality: a prospective cohort study in the Netherlands—. *The American journal of clinical nutrition*, 93(3), 615-627.
- Goldin, B. R., & Gorbach, S. L. (1992). Probiotics for humans. *Probiotics*, 355-376.
- Gong, H., Liu, M., Chen, J., Han, F., Gao, C. ve Zhang, B. (2012). Synthesis and characterization of carboxymethyl guar gum and rheological properties of its solutions. *Carbohydrate polymers*, 88(3), 1015-1022.
- González-Rodríguez, I., Ruiz, L., Gueimonde, M., Margolles, A., & Sánchez, B. (2013). Factors involved in the colonization and survival of bifidobacteria in the gastrointestinal tract. *FEMS microbiology letters*, 340(1), 1-10.
- Goswami, G., Bora, S. S., Parveen, A., Boro, R. C., & Barooah, M. (2017). Identification and functional properties of dominant lactic acid bacteria isolated from Kahudi, a traditional rapeseed fermented food product of Assam, India. *Journal of Ethnic Foods*, 4(3), 187-197.
- Grosu-Tudor, S. S., Stancu, M. M., Pelinescu, D., & Zamfir, M. (2014). Characterization of some bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from fermented foods. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(9), 2459-2469.
- Guo, X. H., Kim, J. M., Nam, H. M., Park, S. Y., & Kim, J. M. (2010). Screening lactic acid bacteria from swine origins for multistrain probiotics based on in vitro functional properties. *Anaerobe*, 16(4), 321-326.
- Gülbandılar, A., Mehtap, Okur., & Dönmez, M. (2017). Fonksiyonel gıda olarak kullanılan probiyotikler ve özellikleri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 10(1), 44-47.
- Habıbi, N. M., & Lee, B. H. (2007). Debittering of tryptic digests from β -casein and enzyme modified cheese by x-prolyl dipeptidylpeptidase from *Lactobacillus casei subsp. casei*. Ilg.

- Haller, D., Colbus, H., Gänzle, M. G., Scherenbacher, P., Bode, C., & Hammes, W. P. (2001). Metabolic and functional properties of lactic acid bacteria in the gastro-intestinal ecosystem: a comparative in vitro study between bacteria of intestinal and fermented food origin. *Systematic and Applied Microbiology*, 24(2), 218-226.
- Hanol Bektaş, Z. (2016). Tatlı su balıklarından izole edilen laktik asit bakterilerinin moleküler biyolojik tanısı ve gökkuşağı alabalığında probiyotik olarak kullanılabilme potansiyellerinin araştırılması (Doktora Tezi), Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova-İzmir
- Hassan, M. U., Nayab, H., Shafique, F., Williamson, M. P., Almansouri, T. S., Asim, N., ... & Akbar, N. (2020). Probiotic Properties of *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus plantarum* Isolated from Traditional Pakistani Yoghurt. *BioMed research international*, 2020.
- Hayaloglu, A. A., Guven, Mehmet., & Fox, P. F. (2002). Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish White cheese 'Beyaz Peynir'. *International Dairy Journal*, 12(8), 635-648.
- Hernandez, D., Cardell, E., & Zarate, V. (2005). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from Tenerife cheese: initial characterization of plantaricin TF711, a bacteriocin-like substance produced by *Lactobacillus plantarum* TF711. *Journal of applied microbiology*, 99(1), 77-84.
- Hirayama, K., & Rafter, J. (2000). The role of probiotic bacteria in cancer prevention. *Microbes and infection*, 2(6), 681-686.
- Holzappel, W. H., Geisen, R., & Schillinger, U. (1995). Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes. *International journal of food microbiology*, 24(3), 343-362.

- Hossain, M. I., Sadekuzzaman, M., & Ha, S. D. (2017). Probiotics as potential alternative biocontrol agents in the agriculture and food industries: A review. *Food Research International*, 100, 63-73.
- Höltzel, A., Gänzle, M. G., Nicholson, G. J., Hammes, W. P., & Jung, G. (2000). The first low molecular weight antibiotic from lactic acid bacteria: reutericyclin, a new tetramic acid. *Angewandte Chemie International Edition*, 39(15), 2766-2768.
- Hu, G., Fu, S., Liu, H., & Lucia, L. A. (2015). Adsorption of cationized eucalyptus heteropolysaccharides onto chemical and mechanical pulp fibers. *Carbohydrate polymers*, 123, 324-330.
- Hugenholtz, J., Perdon, L., & Abee, T. (1993). Growth and energy generation by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar diacetylactis during citrate metabolism. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(12), 4216-4222.
- Iglesias, M. B., Viñas, I., Colás-Medà, P., Collazo, C., Serrano, J. C. E., & Abadias, M. (2017). Adhesion and invasion of *Listeria monocytogenes* and interaction with *Lactobacillus rhamnosus* GG after habituation on fresh-cut pear. *Journal of Functional Foods*, 34, 453-460.
- Isolauri, E., Sütas, Y., Kankaanpää, P., Arvilommi, H., & Salminen, S. (2001). Probiotics: effects on immunity. *The American journal of clinical nutrition*, 73(2), 444s-450s.
- Ispirli, H., & Dertli, E. (2017). Isolation and characterisation of lactic acid bacteria from traditional koumiss and kurut. *International journal of food properties*, 20(sup3), S2441-S2449.
- İsmail B., Nampoothiri KM. (2010). Production, purification and structural characterization of an exopolysaccharide produced by a probiotic *Lactobacillus plantarum* MTCC 9510, *Archives of Microbiology*, 192:12, 1049-1057.

- İspirli H., Sagdic O, Yılmaz MT., Dertli E. (2019). Physicochemical characterisation of an a glucan from *Lactobacillus reuteri* E 81 as a potential exopolysaccharide suitable for food applications, *Process Biochemistry*, 79, 91-96.
- Jatobá, A., Pereira, M. O., Vieira, L. M., Bitencourt, M., Rodrigues, E., Fachini, F. A., & Moraes, A. V. (2018). Action time and feed frequency of *Lactobacillus plantarum* for Nile tilapia. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 70(1), 327-332.
- Jay, J. M., Rivers, G. M., & Boisvert, W. E. (1983). Antimicrobial properties of α -dicarbonyl and related compounds. *Journal of food protection*, 46(4), 325-329.
- Jaspers, V., Menten, J., Smet, H., Poradosu, S., Abdellati, S., Verhelst, R., Hardy, L., Buvé, A. ve Crucitti, T. (2012), “Quantification of bacterial species of the vaginal microbiome in different groups of women, using nucleic acid amplification tests,” *BMC Microbiol.*, 12:1-10.
- Jia, F. F., Zhang, L. J., Pang, X. H., Gu, X. X., Abdelazez, A., Liang, Y., ... & Meng, X. C. (2017). Complete genome sequence of bacteriocin-producing *Lactobacillus plantarum* KLDS1. 0391, a probiotic strain with gastrointestinal tract resistance and adhesion to the intestinal epithelial cells. *Genomics*, 109(5-6), 432-437.
- Jin M, Wang Y, Xu C, Lu Z, Huang M, Wang Y. (2010). *Carbohydr Polymer* 81:607-611.
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Meeting, & World Health Organization. (2006). Safety evaluation of certain contaminants in food (Vol. 82). *Food & Agriculture Org.*
- Jyoti, B. D., Suresh, A. K., & Venkatesh, K. V. (2003). Diacetyl production and growth of *Lactobacillus rhamnosus* on multiple substrates. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19(5), 509-514.
- Kandler, O. (1983). Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 49(3), 209-224.

- Kang, C. H., Gu, T., & So, J. S. (2018). Possible probiotic lactic acid bacteria isolated from oysters (*crassostrea gigas*). *Probiotics and antimicrobial proteins*, 10(4), 728-739.
- Kavita K., Singh VK., Mishra A., Jha B, (2014). *Carbohydr Polymer* 101:29-35
- Kaya, H. İ. (2019). Laktik asit bakterileri tarafından üretilen patojene spesifik bakteriyosinlerin karakterizasyonu ve kokteyl olarak kullanımı.
- Kezer, G. (2019). Doğal Ekşi Hamurlardan Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Tanımlanması ile Bazı Probiyotik Özelliklerinin Saptanması.
- Kheadr, E., Dabour, N., Le Lay, C., Lacroix, C., & Fliss, I. (2007). Antibiotic susceptibility profile of bifidobacteria as affected by oxgall, acid, and hydrogen peroxide stress. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(1), 169-174.
- Kılıç, S. (2008). Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri, *Ege Üniversitesi Ziraat Fak. Yayınları* No:542, 2. Baskı, İzmir.
- Kıray, E. (2017). İnsan kaynaklı vajen laktik asit bakterilerinin bazı probiyotik özelliklerinin araştırılması (Doktora Tezi), Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kırşehir
- Kırmacı, H, A. (2010). Geleneksel urfa peynirinde yer alan laktik asit bakterilerinin izolasyonu, moleküler karakterizasyonu ve starter kültür olarak kullanım olanakları (Doktora Tezi), Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Şanlıurfa
- Kıvanç, M., & Erikçi, Ş. Y. (2018). Sofralık Fermente Zeytinlerden (*Olea europaea L.*) İzole edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin ve Bazı Metabolik Özelliklerinin Belirlenmesi. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi-C Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji*, 7(1), 41-51.

- Kim, B., Park, K. Y., Kim, H. Y., Ahn, S. C., & Cho, E. J. (2011). Anti-aging effects and mechanisms of kimchi during fermentation under stress-induced premature senescence cellular system. *Food Science and Biotechnology*, 20(3), 643-649.
- Kim, J. Y., Young, J. A., Gunther IV, N. W., & Lee, J. L. (2015). Inhibition of *Salmonella* by Bacteriocin-Producing Lactic Acid Bacteria Derived from US Kimchi and Broiler Chicken. *Journal of Food Safety*, 35(1), 1-12.
- Kim, S., Huang, E., Park, S., Holzapfel, W., & Lim, S. D. (2018). Physiological characteristics and anti-obesity effect of *Lactobacillus plantarum* K10. *Korean journal for food science of animal resources*, 38(3), 554.
- King, N. (1948). Modification of Voges-Proskauer test for rapid colorimetric determination of acetyl methyl carbimol plus diacetyl in butter. *Dairy Ind*, 13(860), e866.
- Kleerebezem, M., Boekhorst, J., van Kranenburg, R., Molenaar, D., Kuipers, O. P., Leer, R., ... & Siezen, R. J. (2003). Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(4), 1990-1995.
- Kong, S., & Davison, A. J. (1980). The role of interactions between O₂, H₂O₂, ·OH, e⁻ and O₂⁻ in free radical damage to biological systems. *Archives of biochemistry and biophysics*, 204(1), 18-29.
- Kook, S. Y., Chung, E. C., Lee, Y., Lee, D. W., & Kim, S. (2019). Isolation and characterization of five novel probiotic strains from Korean infant and children faeces. *PloS one*, 14(10), e0223913.
- Kotsou, M. G., Mitsou, E. K., Oikonomou, I. G., & Kyriacou, A. A. (2008). In vitro assessment of probiotic properties of *Lactobacillus* strains from infant gut microflora. *Food biotechnology*, 22(1), 1-17.

- Kumar MA., Anandapandian KTK., Parthiban K. (2011). Production and characterization of exopolysaccharide (EPS) from biofilm forming marine bacterium, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54:2, 259-265.
- Lambert, J. M., Bongers, R. S., de Vos, W. M., & Kleerebezem, M. (2008). Functional analysis of four bile salt hydrolase and penicillin acylase family members in *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *Applied and environmental microbiology*, 74(15), 4719-4726.
- Lau, L. Y. J., & Chye, F. Y. (2018). Antagonistic effects of *Lactobacillus plantarum* 0612 on the adhesion of selected foodborne enteropathogens in various colonic environments. *Food control*, 91, 237-247.
- Le, B., & Yang, S. H. (2018). Probiotic potential of novel *Lactobacillus* strains isolated from salted-fermented shrimp as antagonists for *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of microbiology*, 56(2), 138-144.
- Lee, B. H., & Simard, R. E. (1984). Evaluation of methods for detecting the production of H₂S, volatile sulfides, and greening by lactobacilli. *Journal of food science*, 49(4), 981-983.
- Lee, N. K., Kim, S. Y., Han, K. J., Eom, S. J., & Paik, H. D. (2014). Probiotic potential of *Lactobacillus* strains with anti-allergic effects from kimchi for yogurt starters. *LWT-Food Science and Technology*, 58(1), 130-134.
- Lepargneur, J., Rousseau. (2002). Role protecteur de la flore de Doderlein. *J. Gynecol. Obstet. Reprod.* 31, 485–494
- Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 15(2), 67-78.
- Li H, Gao T, Wang J, Tian S, Yuan X, Zhu H. (2016). Structural identification and antitumor activity of the extracellular polysaccharide from *Aspergillus terreus*. *Process Biochemistry*.

- Li, S., Huang, R., Shah, N. P., Tao, X., Xiong, Y., & Wei, H. (2014). Antioxidant and antibacterial activities of exopolysaccharides from *Bifidobacterium bifidum* WBIN03 and *Lactobacillus plantarum* R315. *Journal of Dairy Science*, 97(12), 7334-7343.
- Liasi, S. A., Azmi, T. I., Hassan, M. D., Shuhaimi, M., Rosfarizan, M., & Ariff, A. B. (2009). Antimicrobial activity and antibiotic sensitivity of three isolates of lactic acid bacteria from fermented fish product, Budu. *Malaysian Journal of Microbiology*, 5(1), 33-37.
- Liévin-Le Moal, V. (2016). A gastrointestinal anti-infectious biotherapeutic agent: the heat-treated *Lactobacillus* LB. *Therapeutic advances in gastroenterology*, 9(1), 57-75.
- Lim LM, Joo JH., Kim HO et al (2005). Structural analysis and molecular characterization of exopolysaccharides produced by submerged mycelial culture of *Collybia maculata* TG1, *Carbohydrate Polymers*, vol. 61, no 3, pp 296-303.
- Lim, J., Kale, M., Kim, D. H., Kim, H. S., Chon, J. W., Seo, K. H., ... & Kim, H. (2017). Antiobesity effect of exopolysaccharides isolated from kefir grains. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(46), 10011-10019.
- Lim, S. M., Jeong, J. J., Jang, S. E., Han, M. J., & Kim, D. H. (2016). A mixture of the probiotic strains *Bifidobacterium longum* CH57 and *Lactobacillus brevis* CH23 ameliorates colitis in mice by inhibiting macrophage activation and restoring the Th17/Treg balance. *Journal of Functional Foods*, 27, 295-309
- Lin M., Al-Holy M., Chang SS, Huang Y., Cavinato AG, Kang DH, Rasco BA (2005). *International Journal Food Microbiol.* 105: 369-376.
- Lindgren, S. E., & Dobrogosz, W. J. (1990). Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS microbiology reviews*, 7(1-2), 149-163.

- Lorea Baroja, M., Kirjavainen, P. V., Hekmat, S., & Reid, G. (2007). Anti-inflammatory effects of probiotic yogurt in inflammatory bowel disease patients. *Clinical & Experimental Immunology*, 149(3), 470-479.
- Magnusson, J., & Schnürer, J. (2001). *Lactobacillus coryniformis subsp. coryniformis* strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(1), 1-5.
- Mahrous, H., Mohamed, A., Abd El-Mongy, M., El-Batal, A. I., & Hamza, H. A. (2013). Study bacteriocin production and optimization using new isolates of *Lactobacillus spp.* isolated from some dairy products under different culture conditions. *Food and Nutrition Sciences*, 4(03), 342.
- Manrique GD, Lajolo FM. (2002). FTIR spectroscopy as a tool for measuring degree of methyl esterification in pectins isolated from ripening papaya fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 25, 99-107.
- Martinez, F. A. C., Domínguez, J. M., Converti, A., & de Souza Oliveira, R. P. (2015). Production of bacteriocin-like inhibitory substance by *Bifidobacterium lactis* in skim milk supplemented with additives. *The Journal of dairy research*, 82(3), 350.
- Mathlouthi M., Koenig JL. (1986). Vibrational spectra of carbohydrates. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 44, 7-89.
- McSweeney, P. L. (2004). Biochemistry of cheese ripening. *International journal of dairy technology*, 57(2-3), 127-144.
- Mende, S., Rohm, H., & Jaros, D. (2016). Influence of exopolysaccharides on the structure, texture, stability and sensory properties of yoghurt and related products. *International Dairy Journal*, 52, 57-71.

- Messens, W., & De Vuyst, L. (2002). Inhibitory substances produced by Lactobacilli isolated from sourdoughs—a review. *International journal of food microbiology*, 72(1-2), 31-43.
- Michel, D., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Fred, S. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356.
- Mishra, A. K., & Ghosh, A. R. (2018). Characterization of functional, safety, and probiotic properties of *Enterococcus faecalis* AG5 isolated from Wistar rat, demonstrating adherence to HCT 116 cells and gastrointestinal survivability. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 10(3), 435-445.
- Mishra, S. S., Ray, R. C., Panda, S. K., & Montet, D. (2017). Technological innovations in processing of fermented foods an overview. *Fermented Foods*, 21-45.
- Molloy, E. M., Hill, C., Cotter, P. D., & Ross, R. P. (2011). Bacteriocins, *Encyclopedia of Dairy Sciences*.
- Monsan, P., Bozonnet, S., Albenne, C., Joucla, G., Willemot, R. M., & Remaud-Siméon, M. (2001). Homopolysaccharides from lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 11(9), 675-685.
- Mora, D., Musacchio, F., Fortina, M. G., Senini, L., & Manachini, P. L. (2003). Autolytic activity and pediocin-induced lysis in *Pediococcus acidilactici* and *Pediococcus pentosaceus* strains. *Journal of Applied Microbiology*, 94(4), 561-570.
- Morales, F., Morales, J. I., Hernández, C. H., & Hernández-Sánchez, H. (2011). Isolation and partial characterization of halotolerant lactic acid bacteria from two Mexican cheeses. *Applied biochemistry and biotechnology*, 164(6), 889-905.

- Mota de Carvalho, N., Costa, E. M., Silva, S., Pimentel, L., Fernandes, T. H., & Pintado, M. E. (2018). Fermented foods and beverages in human diet and their influence on gut microbiota and health. *Fermentation*, 4(4), 90.
- Mozzi, F., Vaningelgem, F., Hébert, E. M., Van der Meulen, R., Moreno, M. R. F., de Valdez, G. F., & De Vuyst, L. (2006). Diversity of heteropolysaccharide-producing lactic acid bacterium strains and their biopolymers. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(6), 4431-4435.
- Mugampoza, D., Gkatzionis, K., Swift, B., Rees, C. E., & Dodd, C. E. (2020). Diversity of *Lactobacillus* species of stilton cheese relates to site of isolation. *Frontiers in Microbiology*, 11, 904.
- Mulaw, G., Sisay Tessema, T., Muleta, D., & Tesfaye, A. (2019). In vitro evaluation of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from some traditionally fermented Ethiopian food products. *International journal of microbiology*, 2019.
- Nácher-Vázquez, M., Ballesteros, N., Canales, Á., Saint-Jean, S. R., Pérez-Prieto, S. I., Prieto, A., ... & López, P. (2015). Dextrans produced by lactic acid bacteria exhibit antiviral and immunomodulatory activity against salmonid viruses. *Carbohydrate polymers*, 124, 292-301.
- Nagpal, R., Kumar, A., Kumar, M., Behare, P. V., Jain, S., & Yadav, H. (2012). Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods: a review. *FEMS microbiology letters*, 334(1), 1-15.
- Naseri-Nosar, M., & Ziora, Z. M. (2018). Wound dressings from naturally-occurring polymers: A review on homopolysaccharide-based composites. *Carbohydrate Polymers*, 189, 379-398.
- Nguyen HKT, Nghe VDLVC, Doan TTV. (2018). Detection of the potential inactivation of Tetrodotoksin by Lactic Acid Bacterial Exopolysaccharide, *Toxins*, 10, 3-11

- Notararigo, S., Náchér-Vázquez, M., Ibarburu, I., Werning, M. L., de Palencia, P. F., Dueñas, M. T., ... & Prieto, A. (2013). Comparative analysis of production and purification of homo- and hetero-polysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Carbohydrate polymers*, 93(1), 57-64.
- Nout, M. J. R. (2014). Food technologies: fermentation. In *Encyclopedia of Food Safety, Volume 3: Foods, Materials, Technologies and Risks* (pp. 168-177). *Academic Press*.
- O'Bryan, C. A., Crandall, P. G., Ricke, S. C., & Ndahetuye, J. B. (2015). Lactic acid bacteria (LAB) as antimicrobials in food products: types and mechanisms of action. *Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality*, 6, 117-29.
- O'sullivan, L., Ross, R. P., & Hill, C. (2002). Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. *Biochimie*, 84(5-6), 593-604.
- Osman MEA., Shouny W., Talat R., El-Zahaby H. (2012). Polysaccharides production from some *Pseudomonas syringae pathovars* are effected by different types of culture media, *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 1:5, 1305.
- Osmanağaoğlu, Ö. T. D., Akepaer, M. Y., & Beyatlı, Y. T. D. (2015). Bazı *Enterococcus Lactococcus* ve *Pediococcus* bakterilerinin probiyotik özelliklerinin araştırılması (Doctoral dissertation, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı).
- Otero, M. C., & Nader-Macías, M. E. (2006). Inhibition of *Staphylococcus aureus* by H₂O₂-producing *Lactobacillus gasseri* isolated from the vaginal tract of cattle. *Animal reproduction science*, 96(1-2), 35-46.
- Ouwehand, A. C., Tuomola, E. M., Tölkkö, S., & Salminen, S. (2001). Assessment of adhesion properties of novel probiotic strains to human intestinal mucus. *International journal of food microbiology*, 64(1-2), 119-126.

- Paixão, P. E. G., Couto, M. V. S., Costa Sousa, N., Abe, H. A., Dias, J. A. R., Meneses, J. O., ... & Yudi Fujimoto, R. (2020). In vitro selection of autochthonous lactic acid bacterium from clownfish *Amphiprion ocellaris*. *Aquaculture Research*, 51(2), 848-851.
- Pan, D., Liu, J., Zeng, X., Liu, L., Li, H., & Guo, Y. (2015). Immunomodulatory activity of selenium exopolysaccharide produced by *Lactococcus lactis subsp. lactis*. *Food and Agricultural Immunology*, 26(2), 248-259.
- Panwar, H., Rashmi, H. M., Batish, V. K., & Grover, S. (2013). Probiotics as potential biotherapeutics in the management of type 2 diabetes—prospects and perspectives. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 29(2), 103-112.
- Parada, J. L., Caron, C. R., Medeiros, A. B. P., & Soccol, C. R. (2007). Bacteriocins from lactic acid bacteria: purification, properties and use as biopreservatives. *Brazilian archives of Biology and Technology*, 50(3), 512-542.
- Park JH, Ahn HJ, Kim SG, Chung CH. (2013). Dextran-like polysaccharide producing *Leuconostoc* and *Weissella* from kimchi and ingredients. *Food Science and Biotechnology*, 22, 1047-1053.
- Patel, A., Prajapati, J. B., Holst, O., & Ljungh, A. (2014). Determining probiotic potential of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria isolated from vegetables and traditional Indian fermented food products. *Food Bioscience*, 5, 27-33.
- Paulo, EM., Boffo EF., Branco A, et al. (2012). Extraction and characterization of exopolysaccharides produced by the native *Leuconostoc pseudomesenteroides* r2 strain, *Anais da Academia Brasileira de Ciencias* 84:2, 495-508.

- Pektaş, S. (2014), Süt ve süt ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin ekzopolisakkarit üretim yeteneklerinin araştırılması, Yüksek lisans tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Peng, M., & Biswas, D. (2017). Short chain and polyunsaturated fatty acids in host gut health and foodborne bacterial pathogen inhibition. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(18), 3987-4002.
- Perez, R. H., Zendo, T., & Sonomoto, K. (2014). Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): various structures and applications. *Microbial cell factories*, 13(1), 1-13.
- Piraino, P., Zotta, T., Ricciardi, A., McSweeney, P. L., & Parente, E. (2008). Acid production, proteolysis, autolytic and inhibitory properties of lactic acid bacteria isolated from pasta filata cheeses: A multivariate screening study. *International dairy journal*, 18(1), 81-92.
- Price, R. J., & Lee, J. S. (1970). Inhibition of *Pseudomonas* species by hydrogen peroxide producing lactobacilli. *Journal of Milk and Food Technology*, 33(1), 13-18.
- Purutoğlu, K., İspirli, H., Yüzer, M. O., Serencam, H., & Dertli, E. (2020). Diversity and functional characteristics of lactic acid bacteria from traditional kefir grains. *International Journal of Dairy Technology*, 73(1), 57-66.
- Rehaim, A., Belgacem, Z.B., Edalatian, M.R., Martínez, B., Rodríguez, A., Manai, M., Pérez Guerra, N., (2014). Assessment of potential probiotic properties and multiple bacteriocin encoding-genes of the technological performing strain *Enterococcus faecium* MMRA. *Food Control* 37, 343–350.
- Reinheimer, J. A., Demkow, M. R., & Candiotti, M. C. (1990). Inhibition of coliform bacteria by lactic cultures. *Australian Journal of Dairy Technology*, 45(1), 5-9.

- Reuben, R. C., Roy, P. C., Sarkar, S. L., Alam, A. R. U., & Jahid, I. K. (2020). Characterization and evaluation of lactic acid bacteria from indigenous raw milk for potential probiotic properties. *Journal of dairy science*, 103(2), 1223-1237.
- Ricciardi, A., Parente, E., & Zotta, T. (2009). Modelling the growth of *Weissella cibaria* as a function of fermentation conditions. *Journal of applied microbiology*, 107(5), 1528-1535.
- Ricke, S. C. (2003). Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poultry science*, 82(4), 632-639.
- Ross, R. P., Morgan, S., & Hill, C. (2002). Preservation and fermentation: past, present and future. *International journal of food microbiology*, 79(1-2), 3-16.
- Ruas-Madiedo, P., & De Los Reyes-Gavilán, C. G. (2005). Invited review: methods for the screening, isolation, and characterization of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Journal of dairy science*, 88(3), 843-856.
- Ruas-Madiedo, P., Hugenholtz, J., & Zoon, P. (2002). An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 12(2-3), 163-171.
- Saadat, Y. R., Khosroushahi, A. Y., & Gargari, B. P. (2019). A comprehensive review of anticancer, immunomodulatory and health beneficial effects of the lactic acid bacteria exopolysaccharides. *Carbohydrate polymers*, 217, 79-89.
- Sadishkumar, V., & Jeevaratnam, K. (2017). In vitro probiotic evaluation of potential antioxidant lactic acid bacteria isolated from idli batter fermented with Piper betle leaves. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(2), 329-340.
- Sağdıç, O., Arici, M., & Simşek, O. (2002). Selection of starters for a traditional Turkish yayık butter made from yoghurt. *Food Microbiology*, 19(4), 303-312.

- Salazar, N., Prieto, A., Leal, J. A., Mayo, B., Bada-Gancedo, J. C., de Los Reyes-Gavilán, C. G., & Ruas-Madiedo, P. (2009). Production of exopolysaccharides by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains of human origin, and metabolic activity of the producing bacteria in milk. *Journal of dairy science*, 92(9), 4158-4168.
- Sanders, M. E. (2008). Probiotics: definition, sources, selection, and uses. *Clinical infectious diseases*, 46(Supplement_2), S58-S61.
- Sandine, W. E., Daly, C., Elliker, P. R., & Vedamuthu, E. R. (1972). Causes and control of culture-related flavor defects in cultured dairy products. *Journal of Dairy Science*, 55(7), 1031-1039.
- Saravanan, C., & Shetty, P. K. H. (2016). Isolation and characterization of exopolysaccharide from *Leuconostoc lactis* KC117496 isolated from idli batter. *International journal of biological macromolecules*, 90, 100-106.
- Sayes, C., Leyton, Y., & Riquelme, C. (2018). Probiotic bacteria as an healthy alternative for fish aquaculture. Antibiotics use in animals, Savic, S, editor. Rijeka, Croatia: *InTech Publishers*, 115-132.
- Schaeffer, D. J., & Krylov, V. S. (2000). Anti-HIV activity of extracts and compounds from algae and cyanobacteria. *Ecotoxicology and environmental safety*, 45(3), 208-227.
- Sharma, A., Lavania, M., Singh, R., & Lal, B. (2021). Identification and probiotic potential of lactic acid bacteria from camel milk. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(3), 1622-1632.
- Shen JW., Shi CW, Xu CP. (2013). Exopolysaccharides from *Pleurotus pulmonarius*: Fermentation optimization, characterization and antioxidant activity, *Food Technology and Biotechnology*, 51:4, 520.
- Shingel K. (2002). Determination of structural peculiarities of dexran, pullulan and irradiated pullulan by Fourier transform IR spectroscopy. *Carbohydrate Research*, 337, 1445-1451.

- Silanikove, N., Leitner, G., & Merin, U. (2015). The interrelationships between lactose intolerance and the modern dairy industry: global perspectives in evolutionary and historical backgrounds. *Nutrients*, 7(9), 7312-7331.
- Silva, C. C., Silva, S. P., & Ribeiro, S. C. (2018). Application of bacteriocins and protective cultures in dairy food preservation. *Frontiers in microbiology*, 9, 594.
- Simsek, H., Savas, C., Akkiz, H., & Telatar, H. (1996). Interferon-Induced Vitiligo in a Patient with Chronic Viral Hepatitis C Infection. *Dermatology*, 193(1), 65-66.
- Singh, T. P., Kaur, G., Kapila, S., & Malik, R. K. (2017). Antagonistic activity of *Lactobacillus reuteri* strains on the adhesion characteristics of selected pathogens. *Frontiers in microbiology*, 8, 486.
- Sirichokchatchawan, W., Pupa, P., Praechansri, P., Am-In, N., Tanasupawat, S., Sonthayanon, P., & Prapasarakul, N. (2018). Autochthonous lactic acid bacteria isolated from pig faeces in Thailand show probiotic properties and antibacterial activity against enteric pathogenic bacteria. *Microbial pathogenesis*, 119, 208-215.
- Sjögren, J., Magnusson, J., Broberg, A., Schnürer, J., & Kenne, L. (2003). Antifungal 3-hydroxy fatty acids from *Lactobacillus plantarum* MiLAB 14. *Applied and environmental microbiology*, 69(12), 7554-7557.
- Sluijs, I., Forouhi, N. G., Beulens, J. W., Van Der Schouw, Y. T., Agnoli, C., Arriola, L., ... & Wareham, N. J. (2012). The amount and type of dairy product intake and incident type 2 diabetes: results from the EPIC-InterAct Study. *The American journal of clinical nutrition*, 96(2), 382-390.

- Sneath, P. H. A., Mair, N. S., Sharpe, M. E., & Holt, J. G. (1986). *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol. 2. by SNEATH, PHA, NAIR, NS, and SHARPE, ME, The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1104-1139.
- Solieri, L., Bianchi, A., Mottolese, G., Lemmetti, F., & Giudici, P. (2014). Tailoring the probiotic potential of non-starter *Lactobacillus* strains from ripened Parmigiano Reggiano cheese by in vitro screening and principal component analysis. *Food Microbiology*, 38, 240-249.
- Son, S. H., Jeon, H. L., Jeon, E. B., Lee, N. K., Park, Y. S., Kang, D. K., & Paik, H. D. (2017). Potential probiotic *Lactobacillus plantarum* Ln4 from kimchi: Evaluation of β -galactosidase and antioxidant activities. *LWT-Food Science and Technology*, 85, 181-186.
- Sonestedt, E., Wirfält, E., Wallström, P., Gullberg, B., Orho-Melander, M., & Hedblad, B. (2011). Dairy products and its association with incidence of cardiovascular disease: the Malmö diet and cancer cohort. *European journal of epidemiology*, 26(8), 609-618.
- Spanò, A., Laganà, P., Visalli, G., Maugeri, T. L., & Gugliandolo, C. (2016). In vitro antibiofilm activity of an exopolysaccharide from the marine thermophilic *Bacillus licheniformis* T14. *Current microbiology*, 72(5), 518-528.
- Succi, M., Tremonte, P., Reale, A., Sorrentino, E., Grazia, L., Pacifico, S., & Coppola, R. (2005). Bile salt and acid tolerance of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese. *FEMS microbiology letters*, 244(1), 129-137.
- Sugita, H., Ohta, K., Kuruma, A., & Sagesaka, T. (2007). An antibacterial effect of *Lactococcus lactis* isolated from the intestinal tract of the Amur catfish, *Silurus asotus* Linnaeus. *Aquaculture Research*, 38(9), 1002-1004.
- Şen, A., Toprak, N., Güneş, E., & Halkman, A. K. (2004) Bitki Kökenli Laktobasiller Üzerine Bir Araştırma.

- Şimşek, Ö. (2015). Denizli İlinden Toplanan Çiğ Süt ve Peynirlerden Otolitik Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, Tanımlanması ve Otolitik Özelliklerinin Belirlenmesi (Master's thesis, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Tagg, J. R., Dajani, A. S., & Wannamaker, L. W. (1976). Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Bacteriological reviews*, 40(3), 722.
- Tain YT., Zhao YT., Zeng HI., Zhang BD. (2016). Structural characterization of a novel neutral polysaccharide from *Lentinus giganteus* and its antitumor activity through inducing apoptosis, *Carbohydr Polym*, 154: 231-240.
- Tamang, J. P., Shin, D. H., Jung, S. J., & Chae, S. W. (2016). Functional properties of microorganisms in fermented foods. *Frontiers in microbiology*, 7, 578.
- Tang, H., Qian, B., Xia, B., Zhuan, Y., Yao, Y., Gan, R., & Zhang, J. (2018). Screening of lactic acid bacteria isolated from fermented *Cornus officinalis* fruits for probiotic potential. *Journal of Food Safety*, 38(6), e12565.
- Tangüler, H., Erten, H., & Cabaroğlu, T. (2010). Flavours in beers. *GIDA-Journal of Food*, 35(6), 453-460.
- Tejero-Sariñena, S., Barlow, J., Costabile, A., Gibson, G. R., & Rowland, I. (2012). In vitro evaluation of the antimicrobial activity of a range of probiotics against pathogens: evidence for the effects of organic acids. *Anaerobe*, 18(5), 530-538.
- Teneva-Angelova, T., Hristova, I., Pavlov, A., & Beshkova, D. (2018). Lactic Acid Bacteria—From Nature Through Food to Health. In *Advances in Biotechnology for Food Industry* (pp. 91-133). *Academic Press*.
- Terefe, N.S. (2016). Food fermentation. In *Reference Module in Food Sciences*. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03420-X1>

- Teusink, B., & Smid, E. J. (2006). Modelling strategies for the industrial exploitation of lactic acid bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 4(1), 46-56.
- TMC (Transparency Market Research). (2017). Digestive Health Products Market (Product Type – Dairy Products, Bakery Products and Cereals, Non-alcoholic Beverages; Ingredient – Probiotics, Prebiotics, Food Enzymes; Sales Channel – Modern Trade, Convenience Stores, Online Retailers) – Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends and Forecast 2017–2022. Accessed Jul. 31, 2018
- Tokatlı, M., Gülgör, G., Elmacı, S., Arslanköz, N., Özçelik, F., (2015). In Vitro Properties of Potential Probiotic Indigenous Lactic Acid Bacteria Originating from Traditional Pickles. *BioMed Research International*. Article ID 315819. s 8.
- Toksoy, A. (1993) Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Oluşturduğu Antimikrobiyal Maddelerin Kontaminant Mikroorganizmalar Üzerine İnhibisyon Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, G.Ü. Fen Bil. Enst., Ankara.
- Toksoy, A. (1996). *Lactobacillus plantarum* ve *Pediococcus pentosaceus* suşlarının metabolik ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi (Doctoral dissertation, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara).
- Toksoy, A., Beyatlı, Y., & Aslım, B. (1999). Sucuk ve sosislerden izole edilen *Lactobacillus plantarum* suşlarının bazı metabolik ve antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi. *Turk Journal of Veterinary and Animal Science*, 23, 533-540.
- Tortum, M. Y. (2019). Trakya Bölgesinde üretilen bozalardan laktik asit bakterileri ve mayaların izolasyonu ve pcr yöntemi ile taranması (Yüksek Lisans Tezi), Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tekirdağ

- TR, K. (2018). Probiotic potency of *Lactobacillus plantarum* KX519413 and KX519414 isolated from honey bee gut. *FEMS microbiology letters*, 365(4), fnx285.
- Turhan Eryılmaz, F. (2011). Vajinal sekresyondan izole edilen laktik asit bakterilerine ait bazı suşların potansiyel probiyotik özelliklerin belirlenmesi (Doktora Tezi), Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara
- Tziveleka, L. A., Vagias, C., & Roussis, V. (2003). Natural products with anti-HIV activity from marine organisms. *Current topics in medicinal chemistry*, 3(13), 1512-1535.
- Uranga, J.; Etxabide, A.; Cabezudo, S.; de la Caba, K.; Guerrero, P. (2020) Valorization of marine-derived biowaste to develop chitin/fish gelatin products as bioactive carriers and moisture scavengers. *Sci. Total Environ.* 706, 135747–135756. [CrossRef]
- Urga, K., Gashe, B. A., Fite, A., & Negatu, A. (1992). Change in Acidity and Lactic Acid Production During Ititu Fermentation. *Ethiopian Journal of Agricultural Science* (Ethiopia).
- Uzundağ, D., Yuksekdağ, Z., & Uludağ, M. (2020). Lactobacillus Cinsi Bakterilerin Liyofilize Ekzopolisakkaritlerinin Bifidobakterilerin Gelişimini Düzenleyici Etkisinin Belirlenmesi. *Gıda*, 45(3), 496-505.
- Van Dyk JS., Kee NLA., Frost CL., Pletschke BI. (2012). Extracellular polysaccharide production in *Bacillus lecheniformis* SVDI and its immunomodulatory effect, *BioResources*, 7:4, 4976-4993.
- Van Hoorde, K., Verstraete, T., Vandamme, P., & Huys, G. (2008). Diversity of lactic acid bacteria in two Flemish artisan raw milk Gouda-type cheeses. *Food Microbiology*, 25(7), 929-935.
- Vaningelgem, F., Zamfir, M., Mozzi, F., Adriany, T., Vancanneyt, M., Swings, J., & De Vuyst, L. (2004). Biodiversity of exopolysaccharides produced by *Streptococcus thermophilus* strains is

- reflected in their production and their molecular and functional characteristics. *Applied and environmental microbiology*, 70(2), 900-912.
- Verma, A. K., Banerjee, R., Dwivedi, H. P., & Juneja, V. K. (2014). *Bacteriocins|potential in food preservation*.
- Vieira, F. D. N., Jatobá, A., Mouriño, J. L. P., Vieira, E. A., Soares, M., Silva, B. C. D., ... & Vinatea, L. A. (2013). In vitro selection of bacteria with potential for use as probiotics in marine shrimp culture. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48(8), 998-1004.
- Wada, T., Noda, M., Kashiwabara, F., Jeon, H. J., Shirakawa, A., Yabu, H., ... & Sugiyama, M. (2009). Characterization of four plasmids harboured in a *Lactobacillus brevis* strain encoding a novel bacteriocin, brevicin 925A, and construction of a shuttle vector for lactic acid bacteria and *Escherichia coli*. *Microbiology*, 155(5), 1726-1737.
- Wang J., Zhao X., Tian Z., Yang Y., Yang Z. (2015). Characterization of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* YW11 isolated from Tibet Kefir, *Carbohydrate Polymers*, 125: 16-25.
- Wang K., Lis W, Rui X, Chen X, Jiang M, Dong M. (2014). Characterization of a novel exopolysaccharide with antitumor activity from *Lactobacillus plantarum* 70810, *International Journal of Biological Macromolecules*, 63:133-139.
- Wang, J., Yang, K., Liu, M., Zhang, J., Wei, X., & Fan, M. (2018). Screening for potential probiotic from spontaneously fermented non-dairy foods based on in vitro probiotic and safety properties. *Annals of Microbiology*, 68(12), 803-813.
- Wang, Y., Li, C., Liu, P., Ahmed, Z., Xiao, P., & Bai, X. (2010). Physical characterization of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* KF5 isolated from Tibet Kefir. *Carbohydrate Polymers*, 82(3), 895-903.

- Welman, A. D., & Maddox, I. S. (2003). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: perspectives and challenges. *Trends in biotechnology*, 21(6), 269-274
- Wen, L. S., Philip, K., & Ajam, N. (2016). Purification, characterization and mode of action of plantaricin K25 produced by *Lactobacillus plantarum*. *Food Control*, 60, 430-439.
- Wijesekara, I., Pangestuti, R., & Kim, S. K. (2011). Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. *Carbohydrate polymers*, 84(1), 14-21.
- Wisselink, H. W., Weusthuis, R. A., Eggink, G., Hugenholtz, J., & Grobber, G. J. (2002). Mannitol production by lactic acid bacteria: a review. *International Dairy Journal*, 12(2-3), 151-161.
- Witvrouw, M., & De Clercq, E. (1997). Sulfated polysaccharides extracted from sea algae as potential
- Yadav V., Prappulla G., Jha A., Poonia A. (2011). A novel exopolysaccharide from probiotic *Lactobacillus fermentum* cfr 2195: Production, purification and characterization, *Biotechnology Bioinf Bioeng*, 1:415-421.
- Yang, Z. (2000). Antimicrobial compounds and extracellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria: structures and properties. Z. Yang.
- Yıldız, H. (2011). Turşu ve zeytinlerden laktik asit bakterileri ile mayaların izolasyonu, identifikasyonu ve elde edilen izolatların bazı özelliklerinin belirlenmesi (Doctoral dissertation, PHD dissertation, Atatürk University, Turkey).
- Yılmaz, R., & Temiz, A. (2003). *Streptococcus salivarius subs. thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*' un klasik ve moleküler yöntemler kullanılarak tanımlanması ve karakterizasyonu. *Orlab Mikrobiyol. Derg*, 1(3), 19-42.

- Yüce, S. (2017). Peynir ve Yoğurtlardan İzole Edilmiş Olan Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Teknolojik Özelliklerinin Araştırılması (Yüksek Lisans Tezi), Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Burdur
- Yüksekdağ, Z. N., & Beyatlı, Y. (2003). Kefir mikroflorası ile laktik asit bakterilerinin metabolik, antimikrobiyal ve genetik özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(2), 49-69.
- Yüksekdağ, Z. N.; Beyatlı, Y. (2009) Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Fizyolojik, Biyokimyasal, Plazmit DNA ve Protein Profil Özelliklerinin İncelenmesi, *GIDA*, 34 (2), 91-98.
- Zang L., Liu C., Li D., Zhao Y., Zhang X, Zeng X, Yang Z, Li S., (2013). *Int. Biol Macromol* 54: 270-275
- Zhou, Y., Cui, Y., & Qu, X. (2019). Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: Structure, bioactivity and associations: A review. *Carbohydrate polymers*, 207, 317-332.
- Zotta, T., Ricciardi, A., Ianniello, R. G., Storti, L. V., Glibota, N. A., & Parente, E. (2018). Aerobic and respirative growth of heterofermentative lactic acid bacteria: a screening study. *Food microbiology*, 76, 117-127.