



T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ TULUM PEYNİRLERİNDEN İZOLE EDİLMİŞ LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN BAZI TEKNOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Erhan KAZANCIGİL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Mayıs-2018
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS

ÇEŞİTLİ TULUM PEYNİRLERİNDEN İZOLE EDİLMİŞ LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN BAZI TEKNOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Erhan KAZANCIGİL

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nihat AKIN

2018, 98 Sayfa

Jüri
Prof. Dr. Nihat AKIN
Prof. Dr. Cemalettin SARIÇOBAN
Dr. Öğr. Üyesi Durmuş SERT

Geleneksel gıda üretim ve tüketiminin çok azaldığı endüstrileşmiş ülkelerde, yeni suşların tanımlanma ve kullanılma olasılığı Türkiye gibi geleneksel gıda üretiminin yaygın olduğu ülkelere nazaran oldukça azdır. Buradan hareketle ülkemiz endüstriyel ölçekte kullanılabilecek mikroorganizmalar için ciddi bir kaynak olarak görülmektedir. Geleneksel deri tulumlarından olgunlaşma süresince izole edilen ve tanımlanan çok sayıda laktik asit bakterisinin özelliklerinin tespit edilmesinin de bu kaynağa önemli bir katkıda bulunacağı düşünülmektedir. Bu çalışma kapsamında da deri tulum peynirlerinden, bakterilerin teknolojik özelikleri belirlenmek suretiyle starter kültür potansiyeli olan veya bu potansiyele sahip olmayıp asitliği hızlı geliştirebilen dolayısıyla endüstride üretim prosesine faydalar sağlayabilecek yan kültürler ortaya çıkarılması arzu edilmektedir.

Çalışmada çeşitli tulum peynirlerinden izole edilen *Lactococcus* türünden toplam 10 adet suşun probiyotik ve teknolojik özellikleri belirlenmiştir. Bu kapsamda probiyotik özelliklerin belirlenmesi amacıyla Safra tuzuna dayanıklılık, Mide özsuyuna ve pankreas özsuyuna dayanıklılık, Asit toleransı, Otoagregasyon, Antibakteriyal aktivite, Diasetil üretimi, H_2O_2 üretimi, EPS üretimi olmak üzere 8, teknolojik özelliklerin belirlenmesi amacıyla Farklı sıcaklıklarda gelişme, Alkole dayanıklılık, NaCl'ye dayanıklılık ve H_2O_2'ye dayanıklılık olmak üzere 4 ve toplamda 12 adet analiz gerçekleştirilmiştir. Probiyotik özelliklerin belirlenmesi amacı ile yapılan çalışmalar sonucunda *Lactococcus garvieae CAU1397* ve *Lactococcus lactis* FM19LAB suşları en iyi probiyotik starter kültür özelliğine sahip olduğu ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Lactococcus*, laktik asit bakterisi, probiyotik, starter kültür

ABSTRACT

MS THESIS

DETERMINATION OF SOME TECHNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM VARIOUS TULUM CHEESES

Erhan KAZANCIGİL

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN FOOD ENGINEERING

Advisor: Prof. Dr. Nihat AKIN
2018, 98 Pages

Jury
Prof. Dr. Nihat AKIN
Prof. Dr. Cemalettin SARIÇOBAN
Assoc. Prof. Dr. Durmuş SERT

In industrialized countries, where traditional food production and consumption are very low, the identification of new strains and the possibility is quite low compared to countries with widespread production of traditional foods such as Turkey. Accordingly, our country is seen as a serious resource for microorganisms that can be used on an industrial scale. It is considered that the determination of the properties of a large number of lactic acid bacteria isolated and identified during the maturation from traditional skin coverings will be a significant contribution to this source. Within the scope of this study, it is desired to discover subcultures that can provide benefits to the production process of the industry, because of the potential of starter culture or the ability to develop acidity rapidly without having such potential, by determining the technological properties of bacteria.

A total of 10 strains of probiotic and technological properties of *Lactococcus* species isolated from various Tulum Cheeses were determined in the study. In this context, 8 analyzes were carried out in order to determine probiotic properties: Resistance to bile salt, Resistance to stomach juice and pancreas juice, Tolerance to acid, Autoaggregation, Antibacterial activity, Diacetyl production, H_2O_2 production and EPS production and in order to determine the technological properties, Development at different temperatures, Resistance to alcohol, Resistance to NaCl and Resistance to H_2O_2 4 analyses and total of 12 analyses were performed. As a result of studies with the aim of determining probiotic properties, *Lactococcus garvieae* CAU1397 and *Lactococcus lactis* FM19LAB strains were found to have the best probiotic starter culture characteristics.

Keywords: lactic acid bacteria, *Lactococcus*, probiotic, starter culture

ÖNSÖZ

Tez çalışmam ve yüksek lisansım boyunca bana yol gösteren, desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Nihat AKIN'a;

Yüksek lisans boyunca birlikte çalıştığım Arş. Gör. Talha DEMİRCİ, Hale İnci ÖZTÜRK, Didem SÖZERİ ve Sümeyye AYDIN'a ;

Hayatım boyunca desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen annem Hayal KAZANCIGİL, babam Erol KAZANCIGİL ve kardeşim Gizem KAZANCIGİL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Erhan KAZANCIGİL
KONYA-2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

İÇİNDEKİLER ..... **vii**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **x**

1. GİRİŞ **1**

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **3**

2.1. Laktik Asit Bakterileri 3
2.1.1. Laktik asit bakterilerinin taksonomisi 3
2.1.2. Laktik asit bakterilerinin genel özellikleri 3
2.1.3. Laktik asit bakterilerinin sınıflandırılması 5
2.1.3.1. *Enterococcus, Lactococcus, Streptococcus* ve *Vagococcus* 5
2.1.3.2. *Aerococcus, Pediococcus* ve *Tetragenococcus* 7
2.1.3.3. *Leuconostoc, Oenococcus* ve *Weisella* 7
2.1.3.4. *Lactobacillus* ve *Carnobacterium* 8
2.1.4. Laktik asit bakterilerinin karakterizasyonunda kullanılan özellikler 9
2.1.4.1. Gastrointestinal sistem 10
2.1.4.2. Asit toleransı 11
2.1.4.3. Agregasyon 11
2.1.4.4. Antimikrobiyal aktivite 12
2.1.4.5. Ekzopolisakkaritleri 13
2.1.4.6. Hidrojen peroksit 13
2.1.4.7. Fizikokimyasal faktörler 13
2.2. Laktokoklar 14
2.2.1. Laktokokların genel özellikleri 14
2.2.2. Laktokokların fenotip ve genotip olarak tanımlanması 15
2.2.3. Laktokokların teknolojik ve fonksiyonel özellikleri 16
2.2.3.1. Protein metabolizması 16
2.2.3.2. Laktoz metabolizması 17
2.2.3.3. Sitrat metabolizması 17
2.2.3.4. Bakteriyosin üretimi 18
2.2.3.5. *Lactococcus*-spesifik bakteriyofajlar 18
2.2.4. Fenotipe dayalı cins içindeki biyoçeşitlilik 19
2.2.4.1. Hücre morfolojisi 19
2.2.4.2. Ekzopolisakkaritleri 19
2.2.4.3. Fizyoloji ve büyüme gereksinimleri 20
2.2.4.4. Hücre duvarı özellikleri 20
2.2.5. Fenotipe dayalı tür içindeki biyoçeşitlilik 20
2.2.6. *Lactococcus* cinsinin ve türünün önemi 21
2.2.6.1. Ekoloji ve ekosistem önemi 21
2.2.6.2. Ekonomik ve endüstriyel önemi 21
2.2.6.3. Tıbbi önemi 22

2.3. Probiyotikler 23
2.3.1. Probiyotik tanımı ve tarihçesi 23
2.3.2. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar 23
2.3.3. Probiyotik suşların seçilmesi 24
2.3.3.1. Probiyotik suşların *in vivo* direnci 26
2.3.3.2. Probiyotik suşların bağırsak hücrelerine tutunma ve sindirim sistemine kolonizasyon özellikleri 27
2.3.3.3. Antimikrobiyal aktivite 27
2.3.3.4. Güvenlik Kriterleri 28
2.3.4. Probiyotiklerin teknolojik yönleri 29
2.3.4.1. Probiyotik süt ürünleri 29
2.3.4.1.1. Fermente sütler 30
2.3.4.1.2. Peynir ürünleri 31
2.3.4.1.3. Sütlü içecekler 32
2.3.4.1.4. Dondurma ve dondurulmuş sütlü tatlılar 33
2.3.4.1.5. Kurutulmuş ürünler 34
2.3.4.2. Süt ürünü olmayan probiyotik ürünler 35
2.3.4.2.1. Probiyotik meyve ve sebze ürünleri 35
2.3.4.2.2. Probiyotik tahıl ve soya ürünleri 36
2.3.4.2.3. Probiyotik et ürünleri 37

3. MATERYAL VE YÖNTEM 39

3.1. Materyal 39
3.1.1. *Lactococcus* suşları 39
3.1.2. İndikatör patojen bakteriler 39
3.2. Yöntem 39
3.2.1. Kullanılacak bakterilerin analize hazırlanması 39
3.2.2. Çalışmada kullanılan besiyerleri 40
3.2.3. Mikrobiyolojik analizler 41
3.2.3.1. Safra tuzuna dayanıklılık 41
3.2.3.2. Mide özsuyuna ve pankreas özsuyuna dayanıklılık 41
3.2.3.3. Asit toleransı 42
3.2.3.4. Otoagregasyon 42
3.2.3.5. Antibakteriyel aktivite 43
3.2.3.6. Diasetil üretimi 44
3.2.3.7. H_2O_2 üretimi 44
3.2.3.8. EPS üretimi 44
3.2.3.9. Farklı sıcaklıklarda gelişme 44
3.2.3.10. Alkole dayanıklılık 45
3.2.3.11. NaCl'ye dayanıklılık 45
3.2.3.12. H_2O_2'ye dayanıklılık 45
3.2.4. Araştırma verilerinin değerlendirilmesi 45

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 46

4.1. Probiyotik Özelliklerin Değerlendirilmesi 46
4.1.1. Safra tuzuna dayanıklılık 46
4.1.2. Mide özsuyuna ve pankreas özsuyuna dayanıklılık 47
4.1.3. Asit toleransı 50
4.1.4. Otoagregasyon 51

4.1.5. Antibakteriyel aktivite 54
4.1.6. Diasetil üretimi 55
4.1.7. H_2O_2 üretimi 56
4.1.8. EPS üretimi 57
4.2. Teknolojik Özelliklerin Değerlendirilmesi 58
4.2.1. Farklı sıcaklıklarda gelişme 58
4.2.2. Alkole dayanıklılık 59
4.2.3. NaCl'ye dayanıklılık 60
4.2.4. H_2O_2'ye dayanıklılık 61

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 62

5.1 Sonuçlar 62
5.2 Öneriler 63

KAYNAKLAR 64

ÖZGEÇMİŞ 88

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

α:	Alfa
β:	Beta
γ:	Gama
g:	Gram
µg:	Mikrogram
µl:	Mikrolitre
µm:	Mikrometre
l:	Litre
ml:	Mililitre
mm:	Milimetre
Mm:	Milimolar
M:	Molarite
nm:	Nanometre
ppm:	Milyonda bir birim
rpm:	Revolutions per minute

Kısaltmalar

ATP:	Adenozin trifosfat
BHI:	Brain Hearth Infusion
BLIS:	Bakteriyosin benzeri inhibe edici maddeler
BSH:	Safra tuz hidrolaz enzimi
$CaCI_2$:	Kalsiyum Klorür
CO_2:	Karbondioksit
DNA:	Deoksiribonükleotid
EPS:	Ekzopolisakkarit
FAO:	Gıda ve Tarım Örgütü
FDA:	ABD Gıda ve İlaç Dairesi
GRAS:	Genellikle güvenli
H_2O_2:	Hidrojen peroksit
HCI:	Hidroklorik Asit
KCI:	Potasyum klorür
KH_2PO_4:	Mono Potasyum Fosfat
kob:	Koloni oluşturan birim
KOH:	Potasyum hidroksit
LAB:	Laktik asit bakterileri
log:	Logaritma
$Na_2HPO_4.7H_2O$:	Sodyum Fosfat Dibasic Heptahidrat
NaCl:	Sodyum Klorür
PBS:	Fosfat buffer
PEP:	Fosfoenolpiruvat
pH:	Hidrojen iyonu konsantrasyonu
PTS:	Laktoz fosfotransferaz sistemi
WHO:	Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Laktik asit bakterileri (LAB) kavramı, 1900'lü yılların başında gelişmiş ve 19. yüzyılın son dönemlerinde bilimsel ve teknik gelişmelere öncülük etmiştir. LAB'ın gıdalardaki etkileşimleri bilim insanlarının ilgisini çekmiş ve 1857'de Pasteur'ün laktik asit fermantasyonu üzerine yaptığı önemli katkıyla beraber bunu takiben 1873'te Lister saf bir bakteri kültürü olan *Bacterium Iactis*'in ilk izolasyonunu sağlamıştır. Starter kültürlerin peynir ve ekşi süt üretimi için kullanılması, Kiel'de Weigrnann ve Kopenhag'da Starch tarafından neredeyse eş zamanlarda 1890'da tanıtılmıştır. Bu da gıda fermentasyonlarının sanayileşme yolunu açmıştır (Währen, 1990).

LAB özellikle peynir, ayran ve fermente süt gibi birçok fermente gıda ürünlerinde kullanılır. LAB, fermente gıdaların lezzetine, dokusuna ve raf ömrüne katkıda bulunan laktik asit ve diasetil/asetoin üretir (Liong ve Shah, 2006; Corr ve ark., 2007).

LAB son yıllarda çoğunlukla probiyotik açıdan incelenmektedir. Bunlar gastrointestinal sistemin istenen mikrofloralarıdır ve bu nedenle 'genel olarak güvenli' olarak kabul edilmektedirler (Tannock, 1997).

Fuller (1989) yılında "probiyotik" terimini ilk kez ortaya atan kişi olmuştur. Probiyotik LAB, konakçının sağlığı üzerinde faydalı bir etki yaratan canlı gıda bileşenlerini temsil etmektedir (Liong ve Shah, 2006; Corr ve ark., 2007).

Probiyotik tüketiminin çocuk diyaresi, antibiyotiğe bağlı diyare, tekrarlanan *Clostridium difficile* kolit, *Helicobacter pylori* enfeksiyonları, iltihaplı bağırsak hastalığından kansere ve kadın üro-genital enfeksiyonlara kadar değişen çeşitli hastalıkların üstesinden gelmek için yararlı olduğu gösterilmiştir (Reid ve ark., 2003). Probiyotiklerin diğer faydalı etkileri ise laktoz intoleransını iyileştirmeyi, serum kolesterol seviyesini düşürmeyi, besinlerin kullanımını arttırmayı ve antibiyotik kullanımını azaltmayı içerir (Guo ve ark., 2010).

Probiyotik gıdalar fonksiyonel gıda sektörüne aittir (Liong ve Shah, 2006; Corr ve ark., 2007). Probiyotik gıda ürünleri, hem satış hacminde (toplam fonksiyonel gıda pazarının %60-%70'i) hem de sunulan ürün çeşitliliğinde genişleyen fonksiyonel gıdalar pazarının önemli bir parçası olarak görülmektedir (Mohammadi ve ark., 2012).

Geleneksel gıda üretim ve tüketiminin çok azaldığı endüstrileşmiş ülkelerde, yeni suşların tanımlanma ve kullanılma olasılığı Türkiye gibi geleneksel gıda üretiminin yaygın olduğu ülkelere nazaran oldukça azdır. Buradan hareketle ülkemiz endüstriyel

ölçekte kullanılabilecek mikroorganizmalar için ciddi bir kaynak olarak görülmektedir. Daha evvel çeşitli araştırmacılar tarafından muhtelif hastalıklara karşı (Diyare, Crohn hastalığı, Ülseratif kolit, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu, Poşitis, Kanser vb.) olumlu etkileri kanıtlanan probiyotik bakterilerin gıdalarda kullanımı popülerliğini devam ettirmektedir. Bu nedenle, bu tez çalışmasında LAB'den 10 Laktokok suşun endüstride starter kültür olarak veya yan kültür olarak kullanılabilecek probiyotik özelliklerinin ve teknolojik özelliklerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Laktik Asit Bakterileri

2.1.1. Laktik asit bakterilerinin taksonomisi

Geçmiş yıllarda bilimsel açıdan yapılan çalışmalar post modern çağımızda sıklıkla gözden kaçmakta ya da unutulmaktadır. Özellikle LAB için 19. yüzyılda yapılan erken mikrobiyolojik araştırmalar kilit konumundadır. 19. yüzyılın ikinci kısmı, mikrobiyolojinin bir bilim olarak ortaya çıkması ile karakterizedir. Bakterilerle ilgili eski çalışmaların birçoğu sosyo ekonomik veya tıbbi önemi olan çeşitli LAB türleri üzerinde yapıldığına dikkati çekmekte fayda vardır. Muhtemelen endüstriyel amaçlarla uygulanan ilk starter kültürler 1890'da Danimarka, Almanya ve ABD'de peynir ve ekşi süt üretimi için tanıtıldı ve bu girişim, endüstriyel mikrobiyoloji ve modern biyoteknolojinin çeşitli kollarının geliştirilmesine zemin hazırlamıştır. LAB taksonomisinin tarihi, *Leuconostoc* cinsi için örneklendiği gibi gıda bozulması ve gıda fermentasyonları ile ilgili temel gelişmeleri ve anlayışı da yansıtmaktadır (Holzapfel ve Wood, 2014). LAB terimi daha önceleri "süt ekşitici organizmalar" anlamına geliyordu. Bir bakterinin ilk saf kültürü, 1873'te J. Lister tarafından elde edilen "*Bacterium lactis*" (muhtemelen *Lc. lactis*) idi. Bu, bakterilerin sınıflandırılmasında önemli bir ilerleme kaydetti ve süt ekşitici bakteriler ile diğer kaynaklardan gelen laktik asit üreten bakteriler arasında benzerlik olduğu kanısına varıldı (Salminen ve Von Wright, 2004). Cienkowski 1878 yılında şeker fabrikalarında bozulma organizmaları olarak *Leuconostoc* cinsinin suşlarını saptadı ve sukrozdan karakteristik bir sümüksü madde ürettiğini gösterdi. Bu suşlar Fransız botanikçi Van Tieghem (1878) tarafından *Leuconostoc* olarak adlandırılmış olsa da, Orla-Jensen (1919) bunu dikkate almadı ve "*Betacoccus*" genel ismini kullandı (Holzapfel ve Wood, 2014). Müller-Thurgau (1908) tarafından yapılan bir çalışmada *Bacterium gracili* tanımlandı ve sümüksü madde üretmeyen bir *Leuconostoc* türü olarak kaydedildi.

2.1.2. Laktik asit bakterilerinin genel özellikleri

'LAB' terimi organizmaların filogenetik sınıfıyla değil, daha çok türlerin metabolik kabiliyetleriyle ilgilidir. LAB tarihsel olarak her yerde var olan ve çeşitli

besinleri öncelikle laktik aside fermente edebilen canlı türleridir. LAB, farklı habitatların çeşitliliğinde bulunan genellikle katalaz negatif, mikroaerofilik, asit toleranslı, spor yapmayan çubuklar ve koklardır (Klaenhammer ve ark., 2002; Kleerebezem ve Hugenholtz, 2003; Klaenhammer ve ark., 2005). LAB, süt endüstrisinde starter kültür, diyet takviyeleri, probiyotikler ve biyo dönüştürücü ajanlar arasında değişen sayısız endüstriyel uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. En çok incelenen ve kullanılan bakteriler arasında, *Firmicutes* ve *Actinobacteria* olmak üzere iki farklı filumda bulunur. *Firmicutes* filumunda, LAB'nin en önemli cinsleri *Enterococcus, Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Streptococcus* ve *Weissella* olmak üzere hepsi *Lactobacillales* ailesine ait olan düşük GC içerikli organizmalardır (%31-49). *Actinobacteria* filumunda ise LAB yüksek GC içeriğine (%58-61) sahip olan *Bifidobacterium* cinsine aittir (Schleifer ve Ludwig, 1995; Klaenhammer ve ark., 2005; Pfeiler ve Klaenhammer, 2007; Horvath ve ark., 2009).

LAB birçok endüstriyel fermantasyon prosesinde ve insan beslenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Gastrointestinal sistemdeki varlıklarından ötürü bazı üyelerin insan kaynaklı oldukları ve insan sağlığına faydalar sağladığı için probiyotikler olarak adlandırılmıştır (Makarova ve ark., 2006; Klaenhammer ve ark., 2008). LAB üyelerini karakterize eden işlevsel tanıma rağmen, taksonomik bakış açısında oldukça farklı yapıdadırlar (Hammes ve Vogel, 1995; Zhang ve ark., 2011; Salvetti ve ark., 2013). LAB içerisindeki türler arasındaki filogenetik ilişkiler tartışmalıdır. LAB farklı türlerdeki 16S ribozomal ribonükleik asit (16S rRNA) dizilerinin filogenetik ilişkisine dayanarak *Clostridium* dalı ve *Actinomycetes* dalı olmak üzere iki ana dala bölünmüştür (Woese, 1987). *Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Streptococcus, Enterococcus* ve *Pediococcus* gibi tipik LAB *Clostridium* dalına aittir. Buna karşın, *Bifidobacterium* cinsi *Actinomycetes* dalına aittir (Schleifer ve Ludwig, 1995; Stiles ve Holzapfel, 1997). LAB filogenisinde başta gelen tartışmalardan biri, *Lactobacillaceae* ve *Leuconostocaceae* familyalarına ait olan *Lactobacillus, Pediococcus* ve *Leuconostoc* genlerinde bulunan türler ile ilgilidir ve bu tartışmalar mevcut veri kümelerine uygulanan analiz türleri ile ilgili ciddi anlaşmazlıklar nedeniyle ortaya çıkmıştır (Collins ve ark., 1991; Carr ve ark., 2002; Makarova ve ark., 2006; Pfeiler ve Klaenhammer, 2007; Claesson ve ark., 2008; Cai ve ark., 2009).

2.1.3. Laktik asit bakterilerinin sınıflandırılması

Tüm LAB türlerinin sınıflandırılmasını açıklamak imkansızdır. Sadece *Lactobacillus* cinsi yaklaşık 80 tanınmış türü içermektedir (Euzéby, 1997). Orla-Jensen'in bazı kavramlarının halen uygulanabilir olmasına rağmen, LAB'nin doğru sınıflandırılması moleküler biyoloji yöntemlerine dayanmaya başlamıştır. Bu, belki de türlerdeki sınıflandırma için en uygun yöntemdir ve bazı durumlarda sadece nükleik asit seviyesindeki analiz, sınıflandırma problemlerini çözmektedir. Klasik fenotipik tanımlama, soyların özelliklerini öğrenmenin yanı sıra ön sınıflandırma için de önemlidir. Ancak tür seviyesindeki sınıflandırmada tuz ve pH toleransı, belirli sıcaklıklarda büyüme ve üretilen laktik asit konfigürasyonu da oldukça yararlıdır (Salminen ve Von Wright, 2004).

2.1.3.1. *Enterococcus, Lactococcus, Streptococcus* ve *Vagococcus*

Enterococcus, Lactococcus, Streptococcus ve *Vagococcus* cinsleri daha önce bir cins olan *Streptococcus*'a dahil edilmiştir (Salminen ve Von Wright, 2004). Schleifer ve Kilpper-Balz (1987) yılında yaptıkları bir çalışmada "streptokokların" büyük taksonomik revizyonu ile ilgili fenotipik, biyokimyasal ve moleküler özelliklerini özetlemiştir. Tarihsel olarak, Lancefield gruplamasıyla (1933) serolojik yazım, streptokokların sınıflandırılmasında çok önemlidir. Bu yöntemin sınıflandırmada artık daha az önemi olduğu düşünülse de yine de büyük patojenlerin hızlı tanımlanmasında oldukça yararlıdır (Sharpe ve ark., 1979; Hardie, 1986; Schleifer, 1987; Cleary ve Cheng, 2006).

Yeni cins oluşumuna rağmen, *Streptococcus sensu stricto* cinsi hala çok büyüktür ve sınıflandırması zordur. Cins genel olarak üç gruba ayrılır: piyojenik, oral ve "diğer" streptokoklar (Hardie ve Whiley, 1995). Daha önce cinse "anaerobik streptokok" olarak dahil edilen bazı anaerobik koklar (Hardie, 1986), diğer tüm streptokoklardan ilgisiz olduğu gösterilmiştir (Schleifer, 1987). Piyojenik grup *S. pyogenes* ve *agalactiae* gibi birkaç ünlü patojeni içerir. Başka bir patojen olan *S. pneumoniae*, daha önce bu gruba dahil edilmesine rağmen çoğunlukla insanların ve hayvanların ağız boşluğuyla ilişkili türler içeren oral gruba aktarıldı. *S. mutans* gibi bazı oral streptokoklar diş çürüğü ve enfektif endokarditin nedeni olabilmektedir (Hardie, 1986).

Gıda teknolojisi ile ilişkili tek streptokok türü *S. thermophilus* olup yoğurt üretiminde (*Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ile birlikte) ve bazı peynirlerde kullanılır. *S. thermophilus*, Schleifer ve Kilpper-Balz (1987) ve Hardie (1986) tarafından "diğer streptokoklar" grubuna dahil edildi. Ancak şu anda oral gruba dahil edilmişlerdir (Hardie ve Whiley, 1995). *S. salivarius* ile DNA seviyesinde yakın bir ilişki kurulmuştur (Farrow ve Collins, 1984; Hardie ve Whiley, 1995). Farrow ve Collins (1984) yaptıkları bir çalışmada *S. thermophilus*'un *S. salivarius*'un bir alttürü olarak düşünülmesini önerdiler, zira %70'den fazla DNA-DNA benzerliği belirlemişlerdir. Bununla birlikte öneri daha sonra reddedildi, çünkü çok sayıda suşun araştırılması sonucunda bazı suşlar için daha düşük DNA-DNA benzerliği ortaya koyulmuştur (Schleifer, 1987).

Laktokoklar süt ürünleriyle yakından bağlantılıdır, ancak tanınan beş türden şu anda sadece *Lc. lactis* süt teknolojisinde kullanılmaktadır (Teuber ve Geis, 2006). *Lc. lactis* in üç alttürü ayırt edilebilir: *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ve *Lc. lactis* subsp. *hordniae.* Süt imalatında sadece *Lc. lactis* subsp. *lactis* ve *Lc. lactis* subsp. *cremoris* önemlidir (Schleifer ve Kilpper-Bälz, 1984).

Belirtildiği gibi yeni tanımlanan *Vagococcus* türleri laktokoklarla kolayca karışabilmesine rağmen, cinsler yağ asidi bileşimi ile açık bir şekilde ayırt edilebilmektedir (Collins ve ark., 1989; Pot ve ark., 1994). Vagokoklar için cins ve türe özgü oligonükleotid araştırmalar mevcuttur (Williams ve Collins, 1992). Bu araştırmalar bu bakterilerin güvenilir şekilde tanımlanmasını mümkün kılmaktadır (Salminen ve Von Wright, 2004).

Enterokokların gıda teknolojisinde özel bir önemi olmadığı düşünülmektedir. Bazı türler, özellikle de *E. faecalis* (daha önce *S. faecalis*), fırsatçı patojenlerdir ve bu nedenle gıdalarda istenmemektedir (Parker, 1977; Franz ve ark., 1999). Ayrıca fekal enterokokların antibiyotiklere dirençli olma eğilimi ve bu tür özelliklerin mobil genetik parçalarla aktarılması konusunda bazı endişeler de vardır (Teuber ve ark., 1999; Giraffa, 2002). Birçok enterokokun doğal yaşam alanı insanların ve hayvanların bağırsakları olduğundan dolayı, enterekoklara probiyotik yaklaşımı da çok uzak değildir (Mundt, 1986). *Enterococcus* türlerinin güney Avrupa'daki bazı yerel peynir türlerinde olduğu gösterilmiştir (Van den Berg ve ark., 1993).

2.1.3.2. *Aerococcus, Pediococcus* ve *Tetragenococcus*

Aerococci, Pediococci ve *Tetragenococci* tetrad oluşturan LAB'ni oluşturur. *Aerococcus* cinsi şu anda beş tür içermektedir. *Aerococci* genellikle gıda teknolojisi konusunda fazla ilgi görmemektedir (Salminen ve Von Wright, 2004).

Pediococcus gıda teknolojisinde hem negatif hem de pozitif anlamda önemlidir. *P. damnosus,* diasetil/asetoin oluşumuna yol açar ve bira üretiminde büyük bir bozulma organizmasıdır (Garvie, 1986). *P. acidilactici* ve *P. pentosaceus*, sosis yapımında starter kültür olarak ve silaj aşılayıcıları olarak kullanılırlar (Seale, 1986; Hammes ve ark., 1990). *Pediococci,* peynir olgunlaşmasında yer alan, starter olmayan LAB olarak bilinen kompleksin önemli bileşenlerinden biridir (Fox ve ark., 1990; Olson, 1990). Türler arasında ayırt edici ana özellik, fermente edilen şekerlerin aralığı, argininin hidrolizi, farklı pH seviyelerinde (7.0 ve 4.5) büyüme ve üretilen laktik asit konfigürasyonudur (Garvie, 1986; Simpson ve Taguchi, 1995).

Tetragenococcus cinsi daha önce *P. halophilus* olarak kabul edilen suşları içerir. Hali hazırda sadece iki tür *T. halophilus* ve *T. muriaticus* tanınmaktadır, ancak bir enterokok türü olan *E. solitarius*'un, *Tetragenococcus*'la filogenetik olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir (Williams ve ark., 1991). Diğer LAB'den ayıran aşırı tuz toleransına (%18 NaCl) ilaveten, tetragenokoklar genellikle büyüme için %5 NaCl aralığında tuza ihtiyaç duyar (Garvie, 1986). Tetragenokok türleri yüksek tuz içeren gıdaların, örneğin soya sosu, laktik fermentasyonunda önemlidir (Garvie, 1986; Abe ve Uchida, 1989; Satomi ve ark., 1997).

2.1.3.3. *Leuconostoc, Oenococcus* ve *Weisella*

Leuconostoc cinsi daha önce glikozdan sadece D-laktik asit üreten ve arginin'den amonyak üretmeyen, heterofermentatif, kokoid LAB olarak tanımlanmıştır. *Leuconostoc*'lar bu nedenle, morfoloji ve bazı temel özelliklerle LAB'nin diğer koklarından ayrılmıştır. Bununla birlikte *Leuconostoc'*ları, heterofermentatif laktobasillerin bazı "kokoid çubukları" ile karıştırmak kolaydır. *Leuconostoc'*ların filogenetik analizi cinsin belirgin heterojenitesini ortaya koymuştur (Yang ve Woese, 1989; Martinez-Murcia ve Collins, 1990). *Ln. paramesenteroides*, bazı heterofermentatif laktobasiller (örneğin *Lb. confusus* ve *Lb. viridescens*) ile birlikte yeni bir cinsin çekirdeğini temsil edebilir, çünkü bu grup hem diğer *leuconostoc*'lardan hem

de laktobasillerden ayrılmıştır. Daha sonra, bu gruba giren diğer heterofermentatif LAB et kaynaklarından izole edilmiştir ve *Weissella* cinsinin bu "*Leuconostoc* benzeri" bakterileri içermesi önerilmiştir (Collins ve ark., 1993). Bu nedenle *Weissella* hem kok hem de çubukları içerir. Bu filogenetik çalışmalar, şarap *Leuconostoc*'ları olarak adlandırılanların (*Ln. oenos*) sadece diğer *Leuconostoc*'larla uzaktan ilişkili olduğunu ve bu nedenle bu türlerin ayrı bir cinsi olduğunu ortaya koydu (Yang ve Woese, 1989; Martinez-Murcia ve Collins, 1990). Daha sonra, bu bakteri için *Oenococcus* cinsi önerildi (Dicks ve ark., 1995). Böylece, *Ln. oenos* artık *O. oeni* olarak adlandırılmıştır (Salminen ve Von Wright, 2004).

Leuconostoc'lar sütteki sitrattan önemli miktarlarda diasetil oluşturabilir ve özellikle *Ln. mesenteroides* subsp. *cremoris*, süt endüstrisinde bu amaçla kullanılır. Ayrıca *Leuconostoc*'lar spontan sebze fermantasyonlarında laktik fermantasyonun başlamasında öncülük ederler (Daeschel ve ark., 1987).

2.1.3.4. *Lactobacillus* ve *Carnobacterium*

Lactobacillus cinsi, LAB'de yer alan cinslerin en büyüğüdür. Aynı zamanda heterojen olup fenotipik, biyokimyasal ve fizyolojik özelliklerin çeşitliliğine sahip türleri kapsamaktadır. Heterojenlik, cins içinde bulunan türlerin DNA'sının mol %G + C aralığına göre yansıtılır. Bu aralık, genellikle tek bir cins için kabul edilen aralığın iki katı olan %32-55'tir (Stackebrandt ve Schleifer, 1983). Heterojenlik ve çok sayıda tür, cinsin esas olarak çubuk şeklinde LAB olan tanımından kaynaklanmaktadır. Böyle bir tanım, tüm kokoid LAB'nin bir cins içinde bulunduğu bir düzenleme ile karşılaştırılabilir. Bununla birlikte, koklar arasında fenotipik özellikler erken tanınmış ve bu da cinslere göre farklılaşmıştır. Bu durum çubuk şeklindeki LAB için daha zor olsa bile, Orla-Jensen (1919) esasen bu grubu kok ile benzer bir şekilde bölmeye çalışmıştır. Böylece, Laktobasillerin alttakımları yaratılmıştır: *Thermobacterium, Streptobacterium* ve *Betabacterium* (Kandler, 1986; Hammes ve Vogel, 1995).

Lactobacilli doğada yaygın olarak bulunur ve birçok türü gıda endüstrisinde kullanılmaktadır. Bunlar genellikle LAB'nin aside en toleranslı olanlarıdır (Kashket, 1987). Bu nedenle silaj ve sebze fermantasyonları gibi birçok spontan laktik fermantasyonu sona erdirmektedir (Daeschel ve ark., 1987).

Carnobacterium cinsinin türleri esas olarak *Lb. diverjens, Lb. karnis* ve *Lb. piscicola* altında III. Grup laktobasiller olarak sınıflandırılmıştır (Kandler, 1986; Collins

ve ark., 1987). Sonraki çalışmalar ise bu bakterilerin laktobasillerden ayrı olduğunu ve ayrı bir cinsi temsil ettiğini göstermiştir (Collins ve ark., 1987). Yapılan bir başka çalışmada glikoz metabolizmasının ağırlıklı olarak homofermentatif olduğu tespit edilmiştir (De Bruyn ve ark., 1988). Genel olarak, *Carnobacterium* türleri nispeten yüksek pH'da (pH 9) büyürken, laktobasiller büyüyememektedir (Schillinger ve Holzapfel, 1995).

2.1.4. Laktik asit bakterilerinin karakterizasyonunda kullanılan özellikler

Yeni kültürlerin ortaya çıkarılması; beslenme düzeninde ve gıda portföyünde hali hazırda neredeyse hazır gıdalar haricinde gıda bulunmayan gelişmiş ülkelerden ziyade, geleneksel gıdalarla beslenmeye devam edilen gelişmekte olan ülkeler ve az gelişmiş ülkeler tarafından devam ettirilmektedir. Bu konuda son yıllarda Angmo ve ark. (2016) Hindistan'ın geleneksel fermente Ladakh içeceğinden, Lee ve ark. (2011) Kore'nin geleneksel bir gıdası olan Kimchi'den, Leite ve ark. (2015) Brezilya'daki kefir danelerinden, Yang ve ark. (2014) Kore'ye özgü bir pırasa çeşidinden, Terzic-Vidojevic ve ark. (2015) geleneksel yolla yapılan Sırp peynirlerinden Zlatar'dan ve yine Terzic-Vidojevic ve ark. (2014) Travnik yöresinde yapılan geleneksel peynirlerinden, Golic ve ark. (2013) Hırvatistan'ın ovalarından ve Sırbistan'ın dağlık yörelerinden aldıkları geleneksel peynirlerinden, Manini ve ark. (2016)'da İtalyan ekşi hamurlarından LAB izole edip, tanımlayarak probiyotik özelliklerini ve teknolojik özelliklerini belirlemişlerdir. Angmo ve ark. (2016), 25 LAB; düşük pH'ya tolerans, safra tuzu direnci, otoagregasyon, antimikrobiyal bileşikler üretimi, ekzopolisakkarit (EPS) üretimine bağlı olan probiyotik özelliklerini araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda; *Lactobacillus plantarum* KJ722784 izolatının probiyotik özellikler için referans olarak alınan *Lactobacillus casei* Shirota ile benzerlik gösterdiğini belirtmişlerdir.

Sabir ve ark. (2010), yaptıkları çalışmada, kefirden izole ettikleri *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp. ve *Pediococcus* spp. türlerine ait 8 suşun laktik asit, EPS ve hidrojen peroksit (H_2O_2) üretme özelliklerini araştırmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda bulunan verilerin *Lactobacillus acidophilus* Z1L suşunun probiyotik potansiyelini desteklediğini belirtmişlerdir.

Almeida Júnior ve ark. (2015), keçi sütünden izole edilen LAB'nin; geleneksel peynirde probiyotik olarak kullanımı ve güvenliğinin değerlendirilmesi için izolatların gastrointestinal kanal toleransı, antibakteriyel aktivite, EPS üretimi, NaCl'ye tolerans ve

diasetil üretimi özelliklerini incelemişlerdir. UNIVASF CAP 14 ve 20'nin; pH 2'ye kadar canlı kalma, NaCl'ye direnç ve *Klebsiella pneumoniae*'ye karşı antibakteriyel etki özellikleriyle diğerlerinden ayrıldığı bildirilmiştir. UNIVASF CAP 4 ve 29 ise mide suyuna direnç ve *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes*'e karşı antibakteriyel etkileriyle karakterize edilmiştir. UNIVASF CAP 27. 38. 43. 139 diasetil üretimi ve *Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis*'e karşı antibakteriyel etki gösterdiği belirtilmiştir. Araştırıcılar UNIVASF CAP 35 ve 138'in ise *E. coli* ve *Shigella flexneri*'ye karşı antibakteriyel etki gösterdiği, proteolitik aktivite ve EPS üretimiyle karakterize edildiğini saptamışlardır.

Jeronymo-Ceneviva ve ark. (2014), yaptıkları çalışmada *Lactobacillus casei* SJRP35. *Leuconostoc citreum* SJRP44. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* SJRP57 ve *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* SJRP58 bakterilerinin probiyotik özelliklerini incelemişlerdir. Suşların otoagregasyon ve hücre yüzeyi hidrofobisitesi yüksek bulunmuştur.

Lee ve ark. (2015) kimçiden izole edilen *Lactococcus lactis* KC24 suşunda probiyotik özelliklerini belirlemek için yaptıkları çalışmada mide özsuyu ve safra tuzuna dayanıklılık, otoagregasyon ve koagregasyon yeteneği gibi analizler yapmışlardır ve yapılan analizler sonucunda *Lactococcus lactis* KC24'ün bağırsak florasının dengesini koruduğunu, gastrik koşullarda stabilite olduğunu göstermiştir ve bu sonuçlar *Lactococcus lactis* KC24'ün çok fonksiyonlu yeni probiyotik ürünlerin üretiminde potansiyel olarak kullanılabileceğini belirlemişlerdir.

Pingitore ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada *Lactobacillus plantarum* Q823 suşunun gastrointestinal sistemin koşullarında hayatta kaldığını ve bu nedenle *Lactobacillus plantarum* Q823 suşunun fonksiyonel gıdalarda güvenli bir şekilde starter kültür olarak kullanılabileceğini belirlemişlerdir.

2.1.4.1. Gastrointestinal sistem

LAB gastrointestinal sisteminn normal sakinleridir. Mide içindeki LAB sayısı < 3 log cfu/ml, ince bağırsağın alt kısmında 5±2 log cfu/g ve kalın bağırsağın kolon bölümünde 9±4 log cfu/g'dır (Gorjbach ve ark., 1967). Bağırsakların probiyotik bakteriler tarafından kolonize edilmesi, organik asitler ve antimikrobiyal bileşiklerin üretimi yoluyla zararlı bakterilerin büyümesini önler (Fuller, 1989; Mogensen, 1995). Gastrointestinal sistemde bakteriler probiyotik olarak davranabilmek için midedeki

asidik koşullardan kurtulabilmeli ve ince bağırsağın başlangıcında safra asitlerine direnebilmelidir (Molly ve ark., 1996; Salminen ve ark., 1996a; Holzapfel ve ark., 1998). İnsan gastrointestinal sistem koşullarına karşılık gelen düşük pH ve safra tuzlarına karşı yüksek tolerans bu nedenle önemli seçim kriterleri olarak kabul edilmiştir (Conway ve ark., 1987; Tuomola ve Salminen, 1998). Midede her gün, yaklaşık pH'sı 2.0 olan mide suyu salgılanır (Charteris ve ark., 1998). Safra tuzları karaciğerde kolesterolden sentezlenir, safra kesesinde depolanır ve yağlı bir yemeğin mideye alımından sonra ince bağırsak içine salınır. Bu arıtıcı direnci hücre zarları lipitlerden ve yağ asitlerinden oluştuğu için mikroorganizmalar için kritiktir. Bununla birlikte, bazı mikroorganizmalar safra tuz hidrolaz enzimi (BSH) ile safra tuzlarını hidrolize ederek çözünürlüğünü azaltır ve böylece arıtıcı etkisini zayıflatır (Hofmann ve Mysels, 1992). Probiyotik suşların seçiminde %0.3'lük safra tuzuna dayanıklılık ayırt edici bir özelliktir (Klingberg ve ark., 2005).

2.1.4.2. Asit toleransı

LAB büyümesi, hücre dışı ortamda biriken fermantasyonun asidik son ürünlerinin üretilmesi ile karakterize edilir. Bu bakterilerin belirgin bir miktarda ürettiği organik asit, diğer birçok organizma için elverişsiz bir ortam yaratır. Bu özellik, fermantasyon yoluyla çeşitli gıdaları koruma yöntemlerinin temelidir. Bu bakteriler tüketildikten sonra midede asidik bir ortamla karşılaşabilirler ve probiyotiklerin gelişimi sindirim sisteminde LAB'nin hayatta kalması için gerekli ortamı hazırlamaktadır. *Streptococci* ve *Lactobacilli* gibi oral LAB'nin karyogenitesi, asidojeniklikleri (düşük pH'da asit üretme kabiliyeti) ve asitlik ile doğrudan ilişkilidir (Düşük pH'da çalışma kapasitesi) (Harper ve Loesche, 1984; Quivey Jr ve ark., 2000).

LAB'de, asit toleransı en az iki ayrı fizyolojik durumda artar. (i) logaritmik büyüme sırasında, L-ATR diye değinilen bir adaptif tepki, öldürücü olmayan bir asidik pH'ta inkübasyon ile indüklenebilir; (ii) sabit faza girdikten sonra, asit toleransı genel bir stres cevabının indüksiyonu sonucunda artar (Hartke ve ark., 1996).

2.1.4.3. Agregasyon

Bağırsak epitelyal hücrelere yapışma, gastrointestinal sistemdeki probiyotik suşların kolonizasyonu için önemli bir ön koşuldur ve bu ekosistemde peristaltizmin

doğrudan elimine edilmesini önler ve rekabet avantajı sağlar (Pedersen ve Tannock, 1989; Freter, 1992; Alander ve ark., 1997). Bakteriyel yapışma başlangıçta iki yüzey arasındaki spesifik olmayan fiziksel etkileşimlere dayanır ve bu daha sonra adhezinler (genellikle proteinler) ve tamamlayıcı reseptörler arasındaki spesifik etkileşimleri mümkün kılar (Perez ve ark., 1982; Freter, 1992; Rojas ve Conway, 1996). Otoagregasyon, sindirim yolunda birçok patojen tarafından enfeksiyon ve kolonizasyonun ön şartı olan tutunma ile korelasyon halindedir. Probiyotik suşların patojenlerle koagregasyon özelliği, normal olmayan bağırsak mikrobiyotasının terapötik manipülasyonu için patojenleri yerinden çıkarma yeteneği olarak bilinmektedir. Dolayısıyla, sağlığa yararlı gıdalarda probiyotikler için istenen özellikler arasında yer almaktadır. Probiyotik suşların otoagregasyonu intestinal epitelyal hücrelere yapışma için gerekli görülmüştür ve koagregasyon kabiliyetleri patojenik mikroorganizmalar tarafından kolonizasyonu önleyen bir engel oluşturabilmektedir (Reid ve ark., 1988; Boris ve ark., 1997; Del Re ve ark., 2000).

2.1.4.4. Antimikrobiyal aktivite

Son yıllarda sağlık bilincine sahip tüketiciler, sağlıklı yaşam tarzlarına uyacak kimyasal koruyucu maddeler olmadan doğal gıdalar aramaktadırlar. Biyolojik koruma, uzatılmış raf ömrünü ve mikroorganizmaların veya metabolitlerin kullanıldığı gıdaların arttırılmış güvenliğini ifade etmektedir (Ross ve ark., 2002). LAB gıda fermantasyonlarında önemli bir rol oynarlar. Son üründe istenen duyusal özelliklerin gelişimine katkıda bulunur, aynı zamanda mikrobiyolojik güvenliklerine de katkıda bulunurlar (Smaoui ve ark., 2010). LAB'nin antimikrobiyal etkisi temel olarak laktik ve asetik asitlerin yanı sıra antimikrobiyal maddeleri ve bakteriyosinleri (propiyonik, sorbik, benzoik asitler, H_2O_2, diasetil, etanol, fenolik ve proteinli bileşikleri) sentezlemektir (Dalié ve ark., 2010). Son yıllarda, gıda ürünlerinin güvenliğini arttırmak için doğal antimikrobiyal maddeler üretme potansiyellerinden dolayı LAB üreten bakteriyosin benzeri inhibe edici maddelere (BLIS) ilgi artmıştır. LAB'den gelen BLIS, bakteriyosin kapasitesine sahip olan fakat aminoasit dizileri ile karakterize edilmemiş antimikrobiyal bileşiklerdir (Jack ve ark., 1995).

2.1.4.5. Ekzopolisakkaritleri

LAB, diğer birçok bakteri gibi, lokasyonlarına göre sınıflandırılan çeşitli polisakkarit tipleri üretebilmektedir. Hücre duvarının dışından salgılananlar, ekzoselüler polisakkaritler veya EPS'ler olarak adlandırılırlar. Bunlar yapışkan bir tabaka oluşturabilirler ve kapsüler polisakkaritler olarak adlandırılırlar (Cerning, 1995).

LAB tarafından üretilen EPS'ler iki kategoriye ayrılabilir: tek tür monosakkarit içeren homopolisakkaritler ve şeker olmayan molekülleri de içerebilen heteropolisakkaritler. Homopolisakkaritler dört gruba ayrılabilir: a-d-glukanlar, b-d-glukanlar, fruktanlar ve diğerleri (De Vuyst ve Degeest, 1999).

Yoğurdun en önemli yapısal özellikleri sertlik ve su tutmasıdır. Bu özellikler jel yapısına bağlıdır ve kültür türünden etkilenebilir. 'Ropy' suşları ile yapılan yoğurtların sertliği ve yapışkanlığı, artan miktarda EPS varlığıyla azalır (Hassan ve ark., 1996; Marshall ve Rawson, 1999).

Bazı LAB suşları, kültürlenmiş süt ürünlerinde doku özelliklerini geliştirebilen EPS'leri üretebilmektedir (Carminati ve ark., 2010).

2.1.4.6. Hidrojen peroksit

H_2O_2 bazı LAB metabolizmasının bir yan ürünüdür (Doelle ve Manderson, 1969). Oluşumu, çevresel koşullara ve LAB'nin türlerine veya soylarına göre değişir. H_2O_2 oluşumunun avantajı, patojen ve patojen olmayan mikroorganizma üzerine antimikrobiyal aktivitesinin bulunmasıdır. Dezavantajı ise et ürünlerinde, yeşil oksidasyon ürünleri (oksidize porfirinler) oluşturarak etin renk değişimine neden olmasıdır (Raccach ve Baker, 1978).

2.1.4.7. Fizikokimyasal faktörler

LAB, gıda biyoteknolojisinde yaygın olarak kullanılmaktadır ve bu mikrobiyolojik süreçlerin etkin kontrolü stres koşulları altında değişebilmektedir. Etanol, pH ve sıcaklık gibi çeşitli fizikokimyasal faktörler, şarabın malolaktik fermantasyonundan sorumlu olan LAB'nin büyümesini etkilediği bilinmektedir (Lonvaud-Funel, 1998). Etanol genellikle bakteriyel büyümenin başlıca inhibitörlerinden biri olarak kabul edilir. Etanol direnci ortamdaki bir dizi koşulla (pH

ve sıcaklık) değişir ve *Oenococcus oeni* etanol varlığına karşı en dirençli LAB türü olarak rapor edilmiştir (Van Vuuren ve Dicks, 1993). Gıdalarda bulunan bakteriler, gıdaların ısıl işlenmesi ya da korunması amacıyla yapılan işlemlerde ısıya maruz kalabilmektedir. Sıcaklık hücre kompozisyonunda moleküler hasar meydana getirmektedir ve yüksek ısıl işlemlerde en büyük sorun protein denatürasyonudur (Weitzel ve ark., 1987; Piper, 1993).

2.2. Laktokoklar

2.2.1. Laktokokların genel özellikleri

LAB, laktik asit üretmek için heksoz şekerlerini fermente eden mikroaerofilik gram-pozitif organizmalar grubu olarak tanımlanmaktadır. *Lactococcus*, glukozdan sadece L -(+)- laktik asit enantiomeri üreten bir LAB cinsidir. Bu homofermantatif karakter pH, glukoz konsantrasyonu ve besin sınırlaması gibi kültür koşullarının ayarlanmasıyla değiştirilebilir. *Lactococcus* türleri bitkiler, balıklar ve diğer hayvanlarda yaygın olarak dağılmıştır (Williams ve ark., 1990; Carr ve ark., 2002; Vendrell ve ark., 2006).

İsveç'te 1780 yılında Carl Wilhelm Scheele tarafından ekşi sütten elde edilen kimyasal maddenin aslında laktokok tarafından üretilen L-laktik asit olduğu öne sürülmüştür (Zhang ve Cai, 2014). Ancak yine de, laktokoklar ilk olarak insanlarda bulaşıcı hastalığın nedenlerini göstermek için model organizmalar olarak kullanan Lister (1873) tarafından belgelenmiştir. Lister (1873) sütten, *Lactococcus lactis*'in daha eski bir eşanlamlısı olan "*Bacterium lactis*" in saf bir klonunu elde etmiştir. *Lactococcus* cinsinin kurulması, son yıllarda meydana gelen *Streptococcus* cinsinin taksonomisinde birkaç değişiklik olması ile ortaya çıkmıştır (Kilpper-Bälz ve ark., 1982; Schleifer ve Kilpper-Bälz, 1987). Eskiden streptokokların laktik grubu olarak bilinen bu bakteriler *S. lactis, S. cremoris ve S. diacetylactis*'i içermektedir. *Lactococcus* cinsi Schleifer ve arkadaşları tarafından (1987) *Streptococcus* cinsinden ayrılmış, cinse ek türler eklenmiş ve bazı türler alt türlere ayrılmıştır.

Şu anda, *Lactococcus* cinsi 11 tanınmış tür ve alttürü içermektedir; *Lc. chungangensis, Lc. fujiensis, Lc. garvieae, Lc. lactis* subsp. *cremoris, Lc. lactis* subsp. *hordniae, Lc. lactis* subsp. *lactis, Lc. lactis* subsp. *tructae, Lc. piscium, Lc. plantarum,*

Lc. raffinolactis ve *Lc. taiwanensis* (Schleifer ve ark., 1985; Williams ve ark., 1990; Cho ve ark., 2008; Cai ve ark., 2011; Pérez ve ark., 2011; Chen ve ark., 2013).

Laktokoklar, tek tek veya çift halinde veya zincir halinde meydana gelen oval hücrelerle karakterize edilir. Laktokok hücreleri zincir oluşturması durumunda, laktobasillerden ayırt etmek zor olabilir. *Streptococcus, Enterococcus, Vagococcus* ve *Leuconostoc*'dan oluşan bakteriyel tür zincir veya çift olarak ortaya çıkan kokları da oluşturabilmektedir, bu nedenle bu cinsleri *Lactococcus*'tan morfolojik olarak ayırt etmek zor olabilir (Hardie ve Whiley, 1997).

2.2.2. Laktokokların fenotip ve genotip olarak tanımlanması

Streptococcus cinsinden sadece morfolojik kriterlere dayanan alakasız bakterilerin gruplanmasıyla oluşan taksonomik karışıklık, modern kimyasal taksonomik yöntemler başarıyla uygulandığında sona ermiştir. Hücre duvarı analizi, uzun zincirli yağ asidi bileşimi, doymamış yağ asidi modelleri, saflaştırılmış süperoksit dismutazların immünolojik çapraz reaksiyonları, biyokimyasal özellikler ve DNA-DNA hibridizasyonu dahil olmak üzere kapsamlı yeniden araştırmalar temelinde, Schleifer ve arkadaşları 1985 yılında N streptokokların oral streptokoklardan, enterokoklardan ve hemolitik streptokoklardan ayrılmasını önermiştir (Holzapfel ve Wood, 2014).

Lactococcus cinsi, üyeler arasında daha yüksek derecede 16S rRNA gen dizisi benzerliği sergiler (%88.8-98.1) ve streptokokların veya diğer LAB'nin patojenik cinslerinden açıkça ayrılan filogenetik açıdan tutarlı bir klape oluşturur. 16S rRNA gen dizilerine dayanan bir filogenetik ağaçta, *Lactococcus* üyeleri, komşu-birleştirici algoritmaya dayalı olarak uzun dallarla ayrılan iki uzak grup olarak ortaya çıkar. Bir grup *Lc. chungangensis, Lc. piscium, Lc. plantarum* ve *Lc. raffinolactis'*den oluşmaktadır ve üyeleri %95.5-98.1 oranında benzerlik göstermektedir. Diğer grup *Lc. garvieae, Lc. lactis ve Lc. fujiensis'*i içermektedir ve üyeleri %93.1-94.6 oranında benzerlik göstermektedir. İkinci grup *Lc. lactis* türlerinden oluşan *Lc. lactis* subsp. *cremoris, Lc. lactis* subsp. *hordniae, Lc. lactis* subsp. *lactis* ve *Lc. lactis* subsp. *tructae* %99.3-99.9 oranında benzerlik göstermektedir. Yakın zamanlarda tanımlanan bir tür olan *Lc. chungangensis* (Cho ve ark., 2008), *Lc. raffinolactis* 'e ait kardeş taksonudur ve %97.2 16S rRNA gen dizisi benzerliği gösterir. Yedi *Lactococcus* türü arasındaki ortalama DNA DNA bağlantılılık değerleri %8.0 ila %26.1 arasındadır. Beş farklı primerin Rep-PCR parmak izleri - BOX, ERIC, (GTG) 5. REP ve SERE bu türün

üyelerinin genetik olarak birbirinden ayrı oldukları iddiasını desteklemektedir. *Lactococcus* türlerinin DNA'sının G+C içeriği %34.4 ile %43.0 mol arasında değişir (Collins ve ark., 1983; Schleifer ve ark., 1985; Williams ve ark., 1990; Cai ve ark., 2011; Pérez ve ark., 2011).

2.2.3. Laktokokların teknolojik ve fonksiyonel özellikleri

Lactococcus türlerinin başlıca ticari fonksiyonları laktozdan laktik asit üretimi, kazeinin hidrolizi, yağ esteraz aktiviteleri ve süt endüstrisinde sitrik asit fermentasyonu ile yağ lipolizidir. Metabolik son ürünleri ve enzimleri, doğrudan veya dolaylı olarak nihai ürünlerin dokuları ve tatları üzerinde önemli etkiye sahiptir. LAB genetiği ile ilgili araştırmalar, *Lactococcus* cinsi de dahil olmak üzere, 1970'lerin başlarında başlamış olmasına rağmen, özellikle fenotipik veya genotipik özellikler kullanılarak türetilen sınıflamalar arasında, karakterizasyon tartışmalı olarak kalmıştır. Gelecekte, karşılaştırmalı ve fonksiyonel genomik çalışmalar laktokoklar için taksonomik araçların geliştirilmesini kolaylaştıracaktır (Wegmann ve ark., 2007; Siezen ve ark., 2010).

2.2.3.1. Protein metabolizması

Diğer tüm LAB gibi, laktokoklar zor gelişen canlılardır ve laktokoklar sütte büyüdüğünde proteinaz ve oligopeptit taşıma sistemlerinde önemli rol oynarlar. Kazeinin hidrolizinde proteolitik sistemi oluşturan bileşenler, hücre duvarıyla ilişkili bir proteinaz, hücre dışı peptidaz, aminoasit taşıma sistemi, peptit taşıma sistemi ve hücre içi peptidazlardır. Proteolizdeki anahtar enzim PI veya PIII tipi proteinaz - PrtP, peptit bağlarının %40'ından fazlasını 100'den fazla farklı oligopeptit içine bölen bir proteinazdır. Laktokoklar, hücre tarafından azotlu bileşiklerin alınması için di-, tri- ve oligopeptidleri hareket ettiren üç farklı taşıma sistemini kullanır (Holzapfel ve Wood, 2014). Daha sonra hücre içi peptidazlar peptitleri büyüme için gerekli aminoasitlere hidrolize eder (Poolman ve ark., 1995). *Lc. lactis* subsp. *cremoris* suşlarında hücre proteinazı ve lisil aminopeptidazın aktivite seviyeleri, *Lc. lactis* subsp. *lactis* suşlarından iki kat daha yüksektir ve daha hızlı süt pıhtılaşması sağlar (Crow ve ark., 1994). Birkaç aminotransferazın saptanması, laktokokların, aromatik ve dallı zincirli aminoasitlerin uçucu aroma bileşiklerine ayrıştırılması için gerekli bir enzimatik potansiyele sahip olduğunu göstermektedir (Samaržija ve ark., 2001). Lipolitik enzimler esterazlar ve

lipazlar ile temsil edilir (Tsujita ve ark., 1990) ve peynirin olgunlaşmasında ve peynirdeki lezzet gelişmesinde sınırlı rollere sahiptir (Chich ve ark., 1997; Macedo ve ark., 2003). *Lc. lactis* subsp. *lactis*'in lipolitik aktivitesi *Pseudomonas, Aeromonas, Acinetobacter* ve *Flavobacterium* aktiviteleri ile karşılaştırıldığında çok zayıftır (Kalogridou-Vassiliadou, 1984).

2.2.3.2. Laktoz metabolizması

Laktoz metabolizması bakteri ve sütte bulunan glikoz ve galaktoz disakkariti olan laktoz arasındaki biyokimyasal reaksiyonları kapsar. Laktokoklar arasında *Lc. lactis* subsp. *lactis* ve *Lc. lactis* subsp. *cremoris,* laktozu fermente etmek için homolaktik yetenekleri ile ticari olarak önemlidir. *Lactococcus*'un laktoz metabolizması, eş zamanlı olarak glukoz ve galaktoz katabolizmasında diğer LAB'ninkinden farklıdır (Holzapfel ve Wood, 2014). LAB'de laktozun taşınması ve metabolizması için iki sistem bilinmektedir: (i) bir fosfo-p-galaktosidaz enzimi olan bir fosfoenolpiruvat (PEP) laktoz fosfotransferaz sistemi (PTS); ve (ii) bir P-D-fosfogalaktosidaz ile bir laktoz permeaz sistemi (Postma ve Lengeler, 1985; Thompson, 1987). Laktoz, PEP-PTS ile translokasyon sırasında PEP ile fosforile edilir. Hücre içi laktoz fosfat daha sonra farklı bir enzim olan β-D-fosfogalaktosidaz ile glikoz ve galaktoza hidrolize edilir. Galaktoz daha sonra tacotoz yolu ile katabolize edilir ve aynı zamanda glikoz ise Embden-Mayerhof–Parnas yolu ile katabolize edilir (Marshall ve Tamime, 1997). Laktoz yıkımından sorumlu gen, farklı suşlarda spesifik plazmidler (*Lactococcus* plazmidleri) tarafından taşınır ve laktozu hücrelere taşıyan enzimleri kodlar. PEP-PTS sistemi, laktokoklar da dahil olmak üzere birçok başka LAB'de de bulunur (De Vos ve Vaughan, 1994).

2.2.3.3. Sitrat metabolizması

Laktokoklar arasında sadece *Lc. lactis* subsp. *lactis var. diacetylactis,* sitratı sütte metabolize etme özelliğine sahiptir. Sitrat metabolizmasının metabolik son ürünleri diasetil, asetoin, 2.3-bütilen glikol, asetaldehit, etanol ve laktik asittir ve fermente süt ürünlerinde lezzet gelişmesine katkıda bulunur (Libudzisz ve Galewska, 1991). Sitrat metabolizması, sitQRP operonuna indüklenen plazmid citP geni tarafından kodlanan sitrat permeas (CitP) ile katalize edilir. İndüksiyon, daha öncelerden bilinildiği

gibi ortamdaki sitratın mevcudiyeti ile değil, ortamın pH değeri düşük olduğunda glikoz ve sitratın birlikte metabolizması yoluyla üretilen laktik asit ile koşullandırılmamıştır (García-Quintáns ve ark., 1998). Sitrat metabolizması sırasında, üç dekarboksilasyon reaksiyonu meydana gelir: (i) oksaloasetat ila piruvat; (ii) asetaldehit-tiaminopirofosfat piruvata; ve (iii) a-asetolaktattan asetoine. Kantitatif olarak, asetoin sitrat metabolizmasının en önemli ürünüdür ve piruvat birikimini önler. Diasetil ve CO_2 küçük miktarlarda üretilmesine rağmen, fermente ürünlerin hem dokusuna hem de lezzetine katkıda bulundukları için oldukça önemlidir (Cogan, 1995).

2.2.3.4. Bakteriyosin üretimi

Bakteriyosinler, ribozomal sentezlenmiş antimikrobiyal peptitlerin heterolog bir alt grubunu oluşturan proteinli antibakteriyel bileşiklerdir. Üretici organizmaya ve kriterlere bağlı olarak, bakteriyosinler dört ana sınıfa ayrılır (I – IV) (Savadogo ve ark., 2006). En iyi bilinen sınıf I bakteriyosin olan nisin (34 aminoasit kalıntısı), birkaç *Lc. lactis* subsp. *lactis* suşu tarafından üretilen küçük bir antibiyotik peptittir (Guder ve ark., 2000). Nisin hücrelerden iyonların, aminoasitlerin ve ATP'nin akıntısına aracılık eden gram-pozitif bakterilerin zarlarında gözenekler oluşturur. Nisin, 1969 yılında Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)/Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından gıda koruyucu olarak kabul edildi ve ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) 1988 yılında konserve ürünlerde *Clostridium botulinum* büyümesini engellemek için katkı maddesi olarak kullanımını onayladı (Federal, 1988). Nisin, 45'in üzerinde ülkede gıda koruyucu olarak kullanılmak üzere lisanslanmıştır (Holzapfel ve Wood, 2014). Sınıf II bakteriyosinler, glisin gibi yüksek seviyelerde küçük aminoasitler içerir ve bu bakteriyosinler hidrofobik bir alana sahiptir ve proton motive edici gücü dağıtan gözenekler oluşturmak için hücre zarının negatif yüklü fosfolipidleri ile güçlü bir şekilde etkileşime girerler (Nes ve Holo, 2000).

2.2.3.5. *Lactococcus*-spesifik bakteriyofajlar

Süt endüstrisindeki fermantasyon hataları genellikle laktokokal litik fajlardan kaynaklanmaktadır. En çok *Lc. lactis*'e karşı aktif olan fajlar; peynir, ekşi krema ve ayran üretimi sırasında sıklıkla görülmektedir. Süt tesislerinde faj popülasyonlarının izlenmesi, başlatıcı bakteriyel kültürlerin faj lizisini azaltmak için gerekli olan temel unsurlardan biridir (Bissonnette ve ark., 2000). Sürekli izleme ile süt mikrobiyologları

yeni faj izolatlarının ortaya çıkışını keşfedebilir ve uygun faj-dirençli starter suşları geliştirebilirler. Nokta mutasyonları ve rekombinasyon gibi hızlı evrimsel mekanizmalarla yeni konakçılara hızla adapte olabildiğinden laktik fajları izlemek bir ön koşuldur (Labrie ve Moineau, 2007). Çiğ sütte laktokok fajları bulunur ve pastörizasyondan kurtulabilmektedirler (Ackermann, 2007). Son yıllarda, bazı starter kültür sağlayıcıları, fajları izole etmek ve bunları elektron mikroskopi analizi veya DNA hibritleme analizleri yoluyla tür seviyesine ayırmak için bir adım daha ileri gitmiştir. Bu yeni faj tanımlaması, fajlara dirençli suşların ve yeni suş rotasyon stratejilerinin geliştirilmesine yol açmıştır (Moineau, 1999).

2.2.4. Fenotipe dayalı cins içindeki biyoçeşitlilik

2.2.4.1. Hücre morfolojisi

Laktokoklar, çap olarak 0.5-1.5 μm'lik gram-pozitif kokoid hücrelerdir. Çiftler halinde, kısa zincirler veya düzensiz kümeler halinde tek başlarına meydana gelirler. Zincirin uzunluğu suşa bağımlıdır ve bazen de büyüme ortamı tarafından etkilenir. *Lactococcus*'u *Lactobacillus, Streptococcus, Enterococcus* ve *Leuconostoc*'dan ayırmak için temel morfoloji yeterli değildir (Wijtzes ve ark., 1997).

2.2.4.2. Ekzopolisakkaritleri

LAB, hücre duvarı bileşenleri ve depolama polimerleri olarak polisakkaritleri ve birçok türde kapsülleri üretirler. LAB tarafından salgılanan EPS, süt ürünlerinin reolojik davranışlarında ve dokularında önemli rol oynamaktadır (Holzapfel ve Wood, 2014). Laktokoklar arasında sadece *Lc. lactis* subsp. *cremoris* suşları, fermente sütlerin uygun kıvamını belirlemeye yardımcı olan EPS'yi çıkarır (Van Casteren ve ark., 1998). EPS'nin şeker bileşenleri genellikle galaktoz, glukoz ve ramnoz biriminden oluşur (Stingele ve ark., 1999). *Lc. lactis* suşlarının ürettiği EPS'nin biyosentezi genellikle bir plazmid ile ilişkilidir (Holzapfel ve Wood, 2014).

2.2.4.3. Fizyoloji ve büyüme gereksinimleri

Laktokoklar fakültatif olarak anaerobik, 10◦C sıcaklıkta gelişebilen ancak 45◦C'de gelişemeyen, mezofilik bakterilerdir. Orta derecede halofiliktirler ve genellikle *Lc. lactis* subsp. *cremoris* haricinde, 20–30◦C'de 10-20 saat aralığında %4 (w/v) NaCl'de büyürler (optimum:%2 NaCl) (Sakala ve ark., 2002). *Lactococcus* suşları zor gelişen canlılardır ve gelişimleri için karbonhidratlar, aminoasitler, vitaminler, yağ asitleri ve optimal büyüme için diğer eser elementler içeren kompleks ortam gerekmektedir. Laktokoklar nötr pH değerlerinde iyi büyürken, pH 4.5 civarında büyümeye son verirler. Koloniler, kanlı agar veya besleyici agar gibi kompleks, zenginleştirilmiş ortamlar üzerinde 1-2 günlük inkübasyonda küçük, beyazımsı, dairesel, pürüzsüz ve bütündür. Kanlı agarda, β-hemolitik değildirler ve zayıf α-hemolitiktirler. Bütün suşlar katalaz negatiftir, nitratları nitritlere indirir ve trehalozdan asit üretirler. Şekerden asit üretimi de dahil olmak üzere belirli bir fenotipik özellik, bu türleri farklılaştırmamaktadır (Holzapfel ve Wood, 2014).

2.2.4.4. Hücre duvarı özellikleri

Peptidoglikan tipi streptokok, enterokok ve laktokokların türlerini ayırt eder (Schleifer ve Kilpper-Bälz, 1987). Laktokoklarda majör peptitdoglikan tipleri *Lc. lactis*'de Lys-D-Asp, *Lc. garvieae*'de Lys-Ala-Gly-Ala, *Lc. plantarum*'da Lys- Ser-Ala ve Lys-Thr-Ala ve *Lc. raffinolactis*'de Lys-Thr-Ala dır. *Lc. piscium, Lc. chungangensis* ve *Lc. fujiensis* için Peptitoglikan türü henüz bildirilmemiştir (Holzapfel ve Wood, 2014). Laktokokların ana bileşenleri olarak dokuz izopren birimi (MK-9) ve minör bileşenleri olarak sekiz izopren birimi (MK-8) içeren menakinon içerirler (Collins ve ark., 1983; Schleifer ve ark., 1985).

2.2.5. Fenotipe dayalı tür içindeki biyoçeşitlilik

Tüm *Lactococcus* türleri, glikozdan L-(+) laktik asit üretmenin homofermantatif karakterine sahiptir (Holzapfel ve Wood, 2014). *Lc. lactis*'in kabul edilen alt türlerinden (Latorre-Guzman ve ark., 1977; Schleifer ve ark., 1985) *Lc. lactis* subsp. *lactis* ve *Lc. lactis* subsp. *cremoris*, süt kaynaklarından izole edilmiş ve *Lc. lactis* subsp. *hordniae*, yaprak açıcı *Hordnia circellata*'dan izole edilmiştir (Latorre-Guzman ve ark., 1977).

Son zamanlarda, dördüncü bir *Lc. lactis* alt türü olan, *Lc. lactis* subsp. *tructae*, salmonid balık türlerinin, kahverengi alabalık (*Salmo trutta*) ve gökkuşağı alabalığının bağırsak yollarından izole edilmiştir (Pérez ve ark., 2011).

Laktozun etkin olarak alınmasını ve fermantasyonunu sağlayan PEP-PTS'den dolayı, bu organizmaların bir kısmı sütte gelişmede iyi uyum sağlamıştır. *Lc. lactis'*in alt türleri ticari olarak en önemli LAB türlerini içerir. Tarihsel olarak, üç farklı endüstriyel fenotip tanınmıştır. Bunlar arasında *Lc. lactis* subsp. *lactis* ve *Lc. lactis* subsp. *lactis var. diacetylactis* bitki materyalinden yaygın olarak izole edilirken, *Lc. lactis* subsp. *cremoris*'in doğal kaynağı hala onaylanmamıştır ve çok sayıda tartışmaya konu olmuştur. Bu iki alttür sadece birkaç fenotipik özellik tarafından taksonomik olarak ayrıştırılır (Holzapfel ve Wood, 2014). *Lc. lactis* subsp. *cremoris*, argininden amonyak üretememe ve yüksek sıcaklıklara ve tuz konsantrasyonlarına düşük toleransla karakterize edilir. *Lc. lactis* subsp. *lactis*, %4 NaCl'de 40◦C'de büyür ve γ-aminobütirik asit (GABA) ve arginin dihidrolaz üretir. Bazı *Lc. lactis* subsp. *lactis* suşları sitratı fermente edebilir ve lezzet bileşiği diasetili üretebilir (Garvie ve Farrow, 1982).

2.2.6. *Lactococcus* cinsinin ve türünün önemi

2.2.6.1. Ekoloji ve ekosistem önemi

Lactococcus türleri, bitkilerden ve hayvanlardan elde edilen ürünlerin yüzeylerinde yaygın olarak dağılır. Bugün, en iyi tanınan habitatlar çiğ süt, peynir ve diğer süt ürünleridir (Stiles ve Holzapfel, 1997). *Lc. lactis* subsp. *lactis* ve *Lc. lactis* subsp. *cremoris* en sık sütçülük ortamlarında bulunur. *Lc. plantarum* bitkilerden (Collins ve ark., 1983), *Lc. garvieae* sığır mastitisi ve balıktan (Collins ve ark., 1983; Kusuda ve ark., 1991), *Lc. piscium* somondan (Williams ve ark., 1990), *Lc. raffinolactis* çiğ sütten (Garvie, 1978), *Lc. chungangensis* çamurdan (Cho ve ark., 2008) ve *Lc. fujiensis* çin lahanasından (Cai ve ark., 2011) izole edilmiştir.

2.2.6.2. Ekonomik ve endüstriyel önemi

Lactococcus'un en eski endüstriyel kullanımı peynir, ekşi krema ve tereyağı gibi fermente süt ürünleridir. *Lc. lactis* subsp. *cremoris* en yaygın olarak kullanılan starter kültürdür ve Cheddar peyniri üretimi için en iyi kültür olarak tanınmaktadır. Süt

mayalanmasında başlıca rolleri, aromatik bileşikler (alkoller, ketonlar ve aldehidler) üreterek veya sitrat, aminoasitler ve lipitlerin metabolizması yoluyla EPS ve lezzet üreterek dokunun gelişmesini içerir. Ayrıca organik asitler ve bakteriyosin üretme yeteneklerinden dolayı gıdaların korunmasında da kullanılabilirler, nisin bunlar arasında en iyi karakterize edilmiş ve tanınmış koruyucu olarak kullanılır (Holzapfel ve Wood, 2014).

Ayrıca laktokoklar, tek suş başlatıcıları olarak veya birçok suşlu başlangıç karışımının bir parçası olarak kullanılabilmektedir. Bu son karışım, tek bir türden, farklı türlerin birden fazla suşundan veya farklı suşlardan oluşabilir. Laktokoklar sıklıkla *Lactobacillus* ve *Streptococcus* dahil olmak üzere diğer LAB ile kombinasyon halinde starter olarak kullanılırlar (Robinson, 2014).

2.2.6.3. Tıbbi önemi

Lactococcus cinsinin üyeleri çoğunlukla gıda kaynaklarından izole edilmiştir ve bu nedenle genellikle güvenli (GRAS) olarak kabul edilir. Ancak *Lc. lactis* ve *Lc. garvieae* insanlarda ve diğer hayvanlarda klinik önemi olan en önemli türlerdir (Holzapfel ve Wood, 2014). *Lc. lactis* insan idrar yollarından, yara enfeksiyonlarından ve endokarditli hastalardan izole edilmiştir (Mannion ve Rothburn, 1990; Aguirre ve Collins, 1993; Zechini ve ark., 2006). *Lc. garvieae* ise ilk olarak Birleşik Krallık'ta sığır mastitisi araştırmasında tanımlanmıştır (Collins ve ark., 1983) ve günümüzde Avustralya, Güney Afrika, Güney Kore, Japonya, Tayvan ve Akdeniz ülkeleri de dahil olmak üzere birçok ülkede hem deniz hem de tatlı su balıklarında hemorajik septisemi ile ilişkili lactococcisin bir etkeni olarak kabul edilmektedir. Ortaya çıkan kayıplar toplam üretimin yaklaşık %50-80'ini geçebilmektedir. Bu etken ayrıca sığır, su bufalosu, kümes hayvanları eti, çiğ inek sütü, kedi ve köpeklerde de tanımlanmıştır (Holzapfel ve Wood, 2014). Ayrıca *Lc. garvieae* insanlardan endokardit, osteomiyelit, karaciğer apsesi ve gastrointestinal hastalık gibi çeşitli vakalarda izole edilmiştir ve bu potansiyel zoonotik ajanın yaygınlığını arttırmıştır (Vendrell ve ark., 2006).

2.3. Probiyotikler

2.3.1. Probiyotik tanımı ve tarihçesi

'Probiyotik' kelimesi Yunanca kökenli olup "pro" ve "biata" kelimelerinden türetilip "yaşam için" anlamına gelmektedir ve yıllar içinde farklı anlamlar taşımıştır. İlk olarak 1965 yılında Lilly ve Stillwell tarafından, bir mikroorganizmanın bir diğerinin büyümesini teşvik eden maddeleri salgıladığını tanımlamak için kullanmıştır (Fuller, 1992). Parker, 1974'te probiyotiği "bağırsak mikrobiyal dengesine katkıda bulunan organizmalar ve maddeler olarak" tanımlamıştır. Fuller 1989 yılında probiyotiği "bağırsak mikrobiyal dengesini arttırarak konakçı hayvanı faydalı bir şekilde etkileyen canlı bir mikrobiyal gıda takviyesi" olarak yeniden tanımlamıştır (Naidu ve ark., 1999).

Gıda takviyesi ile ilgili 'probiyotik' kelimesi sadece 1974'ten kalma olmasına rağmen, canlı mikrobiyal gıda takviyelerinin geçmişi binlerce yıl öncesine kadar dayanmaktadır. Muhtemelen yaşayan mikroorganizmaları içeren ilk yiyecekler Eski Ahit'te kaydedilen fermente sütlerdir. Ayrıca M.Ö. 2500 yılına dayanan duvar resimlerinden anlaşıldığı üzere Sümerler'in fermentasyonu başlatmak için sütü aşılama alışkanlıklarının olduğu ortaya çıkmıştır (Kroger ve ark., 1992).

2.3.2. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar

Probiyotik suşların potansiyeli aynı türler içinde bile farklılık gösterebilmektedir. Aynı türün farklı suşları her zaman benzersizdir ve farklı bölgelere yönelik eylemler birbirinden farklı olabilir. Mevcut probiyotik araştırmalar, her bir bireyde normal, sağlıklı bağırsak mikrobiyotalarının karakterizasyonunu, tür kompozisyonunu ve aynı zamanda bağırsakların her bir kısmındaki farklı bakterilerin konsantrasyonlarını değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Hedef, bağırsaktaki konak-mikrop etkileşimlerini, mikrobiyota içindeki mikrobiyal mikrop etkileşimlerini ve bu etkileşimlerin kombine sağlık etkilerini anlamayı öğrenmektir. Amaç ise mikrobiyotayı, hem bağırsaklarla ilişkili hastalıkların beslenme yönetimi için bir araç olarak hem de gelecekteki probiyotik bakteriyoterapi uygulamaları için yeni bir mikrop kaynağı olarak tanımlamaktır (Isolauri ve ark., 2004).

Shah (2007) ve Chow (2002)'a göre en popüler suşlar *Lactobacillus, Streptococcus* ve *Bifidobacterium* tarafından temsil edilir. Fakat enterococci ve mayalar dahil diğer organizmalar da probiyotik olarak kullanılmıştır (Isolauri ve ark., 2004).

Çizelge 2.1. Probiyotik olarak kabul edilen mikroorganizmalar (Holzapfel ve ark., 2001).

***Lactobacillus* türleri**	***Bifidobacterium* türleri**	**Diğer laktik asit bakteri türleri**	**Laktik asit bakterisi olmayanlar**
L. acidophilus	*B. adolescentis*	*Enterococcus faecalis*	*Bacillus cereus var. toyoi*
L. amylovorus	*B. animalis*	*Enterococcus faecium*	*E. coli strain nissle*
L. casei	*B. bifidum*	*Lactococcus lactis*	*Prop. freudenreichii*
L. crispatus	*B. breve*	*Leuconstoc mesenteroides*	*Saccharomyces cerevisiae*
L. delb. subsp. bulgaricus	*B. infantis*	*Pediococcus acidilactici*	*Saccharomyces boulardii*
L. gallinarum	*B. lactis*	*Streptococcus*	
L. gasseri	*B. longum*	*thermophilus*	
L. johnsonii			
L. paracasei			
L. plantarum			
L. reuteri			
L. rhamnosus			

2.3.3. Probiyotik suşların seçilmesi

Probiyotikler için mevcut güvenlik kriterleri, çeşitli incelemelerde tanımlanmıştır (Lee ve Salminen, 1995; Donohue ve Salminen, 1996; Salminen ve ark., 1996c; Salminen ve ark., 1998; Adams, 1999).

Son zamanlarda insan kaynağının önemi tartışılmasına rağmen, çoğu başarılı suşun insan kaynaklı olduğu belirtilmiştir. Probiyotik suşların güvenlik yönleri aşağıdaki özellikleri içerir:

1. İnsan kullanımı için suşlar tercihen insan kaynaklıdır,
2. Sağlıklı insanların gastrointestinal yolundan izole edilirler,
3. Patojenik geçmişi olmamalıdır,
4. Enfektif endokardit ve gastrointestinal bozukluklar gibi hastalıklarla ilişkili bir geçmişi olmamalıdır,
5. Safra tuzlarını dekonjuge etmemeliler,
6. Bulaşıcı antibiyotik direnç genleri taşımamalıdırlar (Saarela ve ark., 2000).

Probiyotiklerin fonksiyonel gereksinimleri *in vitro* yöntemler kullanılarak belirlenmeli ve bu çalışmaların sonuçları kontrollü insan çalışmalarına yansıtılmalıdır. Probiyotik bir suş seçerken çeşitli işlevsellik yönleri dikkate alınmalıdır:

1. Mide özsuyuna ve aside karşı dirençli olmalıdır,

2. Safra tuzuna direnç göstermelidir,
3. Bağırsak epitel yüzeylere tutunmalı ve insan gastrointestinal sistemde kalıcı olmalıdır,
4. İmmün cevabı stimüle edebilmelidir,
5. *Helicobacter pylori, Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Clostridium difficile* gibi patojenlere karşı antagonistik aktivite göstermelidir,
6. Antimutajenik ve antikanserojenik etki göstermelidir (Saarela ve ark., 2000).

Farklı probiyotik suşlar ile beslenme denemelerinde, genellikle probiyotik suşun sindirim sonlandırıldıktan sonraki birkaç hafta içinde gastrointestinal sistemden kaybolduğu gösterilmiştir (Fukushima ve ark., 1998; Johansson ve ark., 1998; Alander ve ark., 1999; Donnet-Hughes ve ark., 1999). Bu nedenle insan gastrointestinal yolundaki probiyotik kalıcılığın rolü sorgulanmıştır. Bununla birlikte, birçok sindirilmiş probiyotik suş için geçici süreklilik bile, gastrointestinal sistemde yararlı fonksiyonlar için şanslarını artırabilmektedir ve bu nedenle istenen bir özellik olarak kabul edilmektedir (Saarela ve ark., 2000).

Bir probiyotik suş, gerekli güvenlik ve fonksiyonel kriterleri yerine getirse de, probiyotik üretim ve işleme ile ilgili hususlar da büyük önem taşımaktadır. Probiyotik seçiminde çeşitli teknolojik özellikler göz önünde bulundurulmalıdır. Bunlar aşağıdaki özellikleri içermektedir:

1. İyi duyusal özellikler,
2. Faj direnci,
3. İşlem sırasında canlılık,
4. Ürün ve depolama sırasında stabilite (Saarela ve ark., 2000).

Optimal işlevsellik probiyotiklerin etkinliği ve canlılık için ön koşuldur. Bununla birlikte, birkaç çalışma, canlı olmayan probiyotiklerin, konakçıda bağışıklık modülasyonu ve karsinojen bağlanması gibi faydalı etkilere sahip olabildiğini göstermiştir (Salminen ve ark., 1996a; Salminen ve ark., 1999). Bu nedenle, bazı probiyotik suşlar için ilk üretim aşaması sırasında iyi yetişmeleri yeterli olabilir ve depolama sırasında canlılığını muhafaza etmeleri gerekmemektedir (Saarela ve ark., 2000).

2.3.3.1. Probiyotik suşların *in vivo* direnci

Probiyotik uygulamasından sonra mikroorganizmalar konakçının savunma mekanizmaları tarafından öldürülmemelidir. Mikroorganizmaların uygulama alanına bağlı olarak, vücutta veya o bölgede meydana gelen spesifik koşullara dayanıklı olmalıdırlar. Bu örnek olarak probiyotik olan mikroorganizmaların oral kullanımı için, ağız boşluğu içindeki enzimlere (amilaz, lizozim) ve mide ve ince bağırsaktaki safra, pankreas suyu ve mukus konsantrasyonlarındaki düşük pH değerine (yüksek HCI konsantrasyonu) karşı dirençli olması gerektiği anlamına gelir. Bu nedenle, oral yolla uygulanan probiyotikler için gastrointestinal sistemdeki koşullar başlıca seçim kriterleridir (Fuller, 1992).

Gilliland (1979), gram-pozitif bakterilerin lizozime duyarlı olduğunu, ancak *Lactobacillus* ve *Streptococcus*'un diğer gram-pozitif bakterilere göre daha dirençli olduğunu göstermiştir.

Laktik asit bakterilerinin asit toleranslı olduğu düşünülmektedir. Conway ve ark. (1987) *L. acidophilus*'un mide suyuna *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'dan daha yüksek bir toleransa sahip olduğunu belirtmişlerdir. Düşük pH değerlerine *in vitro* direnç, tampon tipine bağlıdır (Hood ve Zoitola, 1988). Robins-Browne ve ark. (1981) tarafından yapılan çalışmada *L. bulgaricus* ve *L. acidophilus*'un mide içinden geçtikten sonra jejunal sıvıda hayatta kalma oranı, açlık çekenlerde açlık çekmeyenlere göre çok daha düşük olduğu belirtilmiştir.

Bir probiyotik insan sağlığına fayda sağlayamadan önce, asit ve safra tuzlarını tolere etme ve alt bağırsak sistemde büyüme gibi çeşitli kriterleri yerine getirmelidir (Erkkilä ve Petäjä, 2000). Gilliland ve Speck'e (1977) göre *L. bulgaricus* ve *Lc. lactis* gibi intestinal olmayan bakteriler safraya çok duyarlıdır: %0.05'ten düşük konsantrasyonlar inhibitördür. Staley ve Bush (1984) dirençli suşları taramak için % 0.3'lük safra tuzu konsantrasyonunu kritik olarak kabul ettiler. Goldin ve Gorbach (1992), insan probiyotiklerini seçerken aynı seviyenin kritik olması gerektiğini belirtmişlerdir.

2.3.3.2. Probiyotik suşların bağırsak hücrelerine tutunma ve sindirim sistemine kolonizasyon özellikleri

Probiyotik suşların bağırsak yüzeyine tutunması ve takiben insan gastrointestinal yoluna kolonizasyonu, probiyotik etki için önemli bir ön koşul olarak önerilmiştir. Probiyotik bakterilerden tutunma gösteren suşların bağırsak sisteminde tutunma göstermeyen suşlara karşı daha uzun süre kalması muhtemeldir. Böylece tutunma göstermeyen suşlara kıyasla metabolik ve immünomodülatör etkileri gösterme olasılıkları daha yüksektir. Tutunma, lokal ve sistemik immün etkilere aracılık eden mukozal yüzey ile bir etkileşim sağlar. Bu nedenle, sadece tutunma özelliği gösteren probiyotiklerin bağırsak mukozal bariyerini stabilize ettiği düşünülmektedir (Salminen ve ark., 1996b). Ayrıca tutunma, intestinal epitelyumdan patojenik bakterilerin rekabetçi olarak dışlanması için bir yol göstermektedir (Bernet ve ark., 1993; Coconnier ve ark., 1993a; Coconnier ve ark., 1993b; Bernet ve ark., 1994).

In vitro model sistemler üzerindeki karşılaştırmalı çalışmalar (HT-29 ve Caco-2 gibi insan kolon karsinoma hücre çizgileri), tutunma özelliklerinin değerlendirilmesinde önemlidir (Chauviere ve ark., 1992; Lehto ve Salminen, 1997; Tuomola ve Salminen, 1998). HT-29 ve Caco-2 hücre çizgileri enterositlere ayrılır ve bu nedenle ince bağırsak epitelyumu için bir model olarak kullanılabilir (Tuomola, 1999).

İn vitro tutunma, *in vivo* ve sonraki kolonizasyona tutunma için bir garanti değildir. Varolan bir mikrobiyal ekosistemde probiyotik suşun kolonizasyonu, tek başına tutunmadan daha fazlasını gerektirir. Suş ev sahibinin mukozasına yerleştikten sonra savunma mekanizmalarının mevcudiyetine rağmen, kendi kendini çoğaltabilmelidir. Diğer mikroorganizmalarla rekabet etme kabiliyetine sahip mikroorganizmalar, ekosistemi kolonileştirmek için en iyi şansa sahiptir (Fuller, 1992).

2.3.3.3. Antimikrobiyal aktivite

Bir probiyotik, konakçıdaki potansiyel patojenik veya diğer dezavantajlı mikroorganizmaları bastırmak için kullanıldığında, suşun antagonistik özelliklere sahip olması yararlı olacaktır. Sıklıkla probiyotik olarak kullanılan LAB, çeşitli antagonistik özelliklere sahiptir:

1. Laktik asit üretimi ile pH'nın düşürülmesi,
2. Mevcut besinlerin tüketimi,

3. Redoks potansiyelinin azaltılması,
4. Hidrojen peroksit üretimi (aerobik şartlar altında)
5. Bakteriyosinler gibi spesifik inhibe edici bileşenlerin üretimi (Fuller, 1992).

Bakteriyosinler proteinli bir yapıya sahiptir ve dar bir inhibitör spektrumlu bakterisit etki moduna sahiptir: bunlar sadece üretim ile yakından ilişkili olan organizmalara karşı aktiftir (Konsiky, 1982). Bununla birlikte, gram-pozitif organizmaların bakteriyosinleri genellikle daha geniş bir inhibitör spektruma sahiptir ve aynı zamanda diğer gram-pozitif türlere karşı da aktiftir (Tagg ve ark., 1976). En iyi bilinen bakteriyosin LAB'den *Lc. lactis* suşlarının ürettiği nisin'dir (Fuller, 1992).

Probiyotik suşlar bakteriyosinleri üretebilmesine rağmen, *in vivo* patojen inhibisyonundaki rolleri sınırlıdır. Çünkü geleneksel bakteriyosinler sadece yakından ilişkili türlere karşı veya *Bacillus* ve *Clostridium* gibi sporefomerler üzerinde bir inhibitör etkiye sahiptir (Holzapfel ve ark., 1995). Bununla birlikte, düşük moleküler ağırlıklı metabolitler (hidrojen peroksit, laktik ve asetik asit ve diğer aroma bileşikleri) ve sekonder metabolitler, *Salmonella, Escherichia coli, Clostridium* ve *Helicobacter* gibi birçok zararlı organizmaya karşı geniş inhibitör spektrum gösterdikleri için daha önemlidir (Skyttä ve ark., 1993; Helander ve ark., 1997; Niku-Paavola ve ark., 1999). *L. rhamnosus* GG suşunun enteropatojenik bakterilere karşı antagonistik aktivitesi *S.* Typhimurium ile enfekte olmuş farelerde *in vivo* olarak gösterilmiştir (Hudault ve ark., 1997).

2.3.3.4. Güvenlik Kriterleri

Probiyotik ürün oluşturulması sırasında, FHO/WHO tarafından önerilen ve uyulması gereken zorunlu kriterlere dikkat edilmesi gerekmektedir ve güvenilir probiyotik seçiminde en önemli kriter, suşun tanımlanmış olmasıdır (Uymaz, 2010). Probiyotik özellikler suş ile ilgili olduğundan, darbe alan jel elektroforezi (PFGE) gibi yöntemler ile suş tanımlama (genetik tipleme) yapılması önerilmektedir. Önce fenotipik testlerin yapılması ardından DNA-DNA hibridizasyonu, 16S RNA dizilemesi veya diğer uluslararası kabul görmüş metotlar kullanılarak genetik tanımlama yapılması önerilir. İkinci olarak ise suş kimliğini doğrulamak için RDP (ribozomal veri tabanı projesi) kullanılmalıdır (Anonymus, 2001).

2.3.4. Probiyotiklerin teknolojik yönleri

Laktik fermantasyon geleneksel olarak gıdaları korumak için kullanılmıştır ve LAB doğal fermantasyon işleminde yer alan ana mikroplardır. Son 30 yılda, LAB ve Bifidobakteri türlerinden birçok suş, probiyotik olarak sınıflandırılmıştır. Bu yararlı mikroorganizmalar, bağırsak mikrobiyolarının dengelenmesi, bağırsak bağışıklık sisteminin ayarlanması, enterik patojenlerin engellenmesi, antimutajenlerin ve antioksidanların sağlanması gibi çeşitli sağlığı teşvik edici etkileri ile karakterize edilir (Park ve ark., 2007).

Probiyotik ürünler, mikrobiyal hücre preparatları veya konakta faydalı sağlık etkileri olan yeterli canlılıktaki probiyotik mikroorganizmalar içeren işlenmiş ürünler olarak tanımlanabilir (Tamime ve Robinson, 1999). Genellikle iki tür probiyotik ürün vardır: takviyeler ve gıdalar. Probiyotik takviyeler genellikle kapsüller, tabletler veya paket formunda dondurularak kurutulmuş bakteriyel preparatlardır. Probiyotiklerin eklenmesi için en çok kullanılan gıdalar yoğurt, peynir, dondurma gibi mayalanmış süt ürünleridir (Zhang ve Cai, 2014).

Konakta sağlığa yararlı etkilerini uygulamak için üründe yeterli miktarda canlı probiyotik mikroorganizmanın muhafaza edilmesi önemlidir. Genel olarak, nihai ürünlerde minimum 10^6–10^7 CFU/g canlı probiyotik hücre popülasyonuna ihtiyaç vardır, böylece günlük ortalama 100 g veya 100 ml gıda tüketildiğinde 10^8-10^9 CFU'luk bir probiyotik alımına ulaşılabilir (Jayamanne ve Adams, 2006).

Son on yılda farklı ülkelerin piyasasında birçok probiyotik ürün bulunmaktadır. Probiyotik ürünler, fonksiyonel gıda pazarının en büyük segmentlerinden birini oluşturmaktadır. Probiyotik ürün pazarının 2011 yılında 27,9 milyar dolara ulaştığı ve 2018'de 44.9 milyar dolara ulaşacağı tahmin edilmektedir. Süt ürünlerinden fermente süt ve içecekler probiyotiklerin en popüler tüketim biçimi olmuştur ve fonksiyonel gıdaların en yüksek pazar payını oluşturmaktadır (Sanchez ve ark., 2009).

2.3.4.1. Probiyotik süt ürünleri

Süt ürünleri, insan gastrointestinal kanalına probiyotik mikroorganizmaların verilmesi için ideal bir araç olarak düşünülmüştür. Protein ve yağ gibi sütün ana bileşenleri ve bazı süt ürünleri, örneğin peynir, asidik koşullar altında probiyotiklerin hayatta kalması için koruma sağlayabilmektedir (Sharp ve ark., 2008). Ürünlerin

probiyotik canlılığını ve fizikokimyasal özelliklerini geliştirmek için farklı tipteki probiyotik süt ürünlerine farklı prebiyotikler veya bitki bileşenleri de eklenebilir. Şu anda, probiyotik bakterili birçok süt ürünü pastörize süt, mayalanmış sütler, peynirler, dondurma ve diğer sütlü tatlılar gib ürünler gıda pazarında ortaya çıkmıştır. Mevcut ürünlerin sayısının artmasıyla hızlı bir büyüme gösterilmiş ve bu da probiyotik konseptin kamuoyunun aşina olmasına katkıda bulunmuştur (Zhang ve Cai, 2014).

2.3.4.1.1. Fermente sütler

Probiyotik bakteri içeren çeşitli süt ürünleri arasında özellikle yoğurt en popüler probiyotik taşıyıcıdır ve dünyada en çok tüketilen probiyotik üründür. Probiyotik yoğurt, *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* probiyotik bakteriler ile birlikte üretilir. Probiyotik bakterileri fermente süt içine dahil etmek için üç yöntem vardır: (1) probiyotik bakteriler geleneksel yoğurt starter kültürleri ile birlikte eklenir; (2) probiyotik bakteriler ve geleneksel starter kültürler fermantasyon için ayrı süt gruplarına eklenir ve daha sonra beraber karıştırılır (3) birkaç gün süren süt fermantasyonlarında probiyotik bakterinin yavaş büyümesi nedeniyle tek başına bir probiyotik kültür kullanılır (Tamime ve ark., 2011).

Probiyotik fermente süt üretimi sırasında birçok probiyotik bakteri sütte hızlı bir şekilde büyüyemediği için, fermente sütteki probiyotiklerin hayatta kalmasını sağlamak önemlidir (Zare ve ark., 2012). Geleneksel fermentasyon koşulları (örneğin, 20 veya 30 °C'deki fermantasyon sıcaklığı), probiyotiklerin insan gastrointestinal yolundaki (optimum 37 °C) üreme için elverişsiz olabilir. Yoğurtta probiyotiklerin canlılığını etkileyen diğer faktörler arasında asit birikimi, inokülasyon seviyesi, gerinim değişimi, starter kültürlerle etkileşim, çözünmüş oksijen seviyesi ve hidrojen peroksit, yoğurdun besin bileşimi ve depolama durumu sayılabilir (N'guessan ve ark., 2011). Farklı bakteri türleri ve suşlarının stres koşullarına tepkileri de büyük ölçüde farklı olmaktadır. Örneğin *B. longum* suşu sıcaklık artışını *B. animalis* subsp. *lactis* suşuna göre daha az tolere etmiştir (Simpson ve ark., 2005). Yoğurtta aşırı yüksek seviyede *L. acidophilus* inokülasyonu, yoğurtta *Lactobacillus* sayılarının azalması ile sonuçlanmıştır (Olson ve Aryana, 2008). Oliveira ve ark. (2009; 2011) yağı alınmış sütün fermantasyonunda kullanılan inülinin, belirgin bir prebiyotik etki sergilediğini ve mayalanmış sütün sertliğinin probiyotik *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. bulgaricus* ve *B. lactis* saf kültürleri ile kullanıldığında geliştirildiğini bildirmiştir.

Probiyotik fermente sütler tüketicilerin farklı ihtiyaçlarını karşılamak için, farklı süt türlerine probiyotik eklenerek üretilebilir. Keçi sütü daha az alerjik reaksiyon nedeniyle süt ürünleri üretmek için, inek sütüne alternatif olarak kullanılabilir (Uysal Pala ve ark., 2006). Ancak, keçi sütü ile yapılan fermante süt genellikle kazein içeriğindeki ve bileşimindeki farklılıktan dolayı inek sütününden daha az kıvam vermektedir (Caballero ve ark., 2003). Wang ve ark. (2012) *L. acidophilus, L. casei* ve *Bifidobacterium* ile polimerize peynir altı suyu proteini ve jelleştirici olarak pektin içeren bir probiyotik keçi sütü geliştirmiştir. Bu probiyotik suşlar, dördüncü haftada canlı kalamayan *L. acidophilus* haricinde, 4 °C'lik depolama sırasında iyi bir şekilde hayatta kalmıştır. Polimerleştirilmiş peynir altı suyu proteininin kullanımı, keçi sütü yoğurdunun kıvamını arttırmıştır.

Bazı probiyotiklerin mayalanmış sütlerde kullanımı ürünlerin duyusal ve dokusal özelliklerini olumsuz yönde etkileyebilir, çünkü proteolitik enzimlerin eksikliği nedeniyle sütte yavaş büyürler (Dave ve Shah, 1998). Bifidobakterilerin gelişmesi sırasında asetik asit (asetik asit/laktik asit=3:2) üretimi, ürünün sirke benzeri tadı ile tatsız olmasını sağlayabilir. Probiyotik fermente sütlerin duyusal kalitesini iyileştirmenin bir yolu, farklı süt proteinleri ile takviye edilmesidir (Zhang ve Cai, 2014).

2.3.4.1.2. Peynir ürünleri

1990'lı yıllarda probiyotiklerin fermente sütte başarılı bir şekilde kullanılmasından sonra, probiyotiklerin peynire dahil edilmesine artan bir ilgi oluşmuştur ve bu ilgi probiyotikler için belirli potansiyel avantajlar sağlamıştır. Örneğin, peynir matriksinin pH'ı genellikle daha yüksektir ve probiyotiklerin hayatta kalması için fermente sütten daha iyi bir ortam oluşturmaktadır. Kapalı ve yoğun matris ve nispeten yüksek yağ içeriği, hem gıda depolaması hem de gastrointestinal kanal boyunca geçiş sırasında probiyotikler için koruyucu bir faktör olarak hizmet etmektedir. Aynı zamanda peynir, gastrointestinal sistemde asidik koşullar altında probiyotik sağkalım için uygun bir tampon etki oluşturmaktadır (Karimi ve ark., 2012). Peynir altı suyu matriksinin simüle edilmiş gastrointestinal koşullarda maruz bırakılmasında *L. casei*, *L. acidophilus* ve *B. animalis* probiyotik suşlarının korundukları gösterilmiştir (Madureira ve ark., 2011). Son on yılda Cheddar, Gouda, Edam, Emmental, Domiati, Cottage, Crescenza, Quarg, Suisse peyniri gibi probiyotik bakteriler ile bir araya

getirilmiş çok çeşitli peynirler bulunmaktadır (Vinderola ve ark., 2009; Tamime ve ark., 2011).

Peynir üretiminde uygun probiyotik bakterileri seçmek için, mikroorganizmaların peynir işleme sırasında yaşayabilirliklerini koruyabilmeleri ve uzun peynir olgunlaşması ve depolama süreleri boyunca hayatta kalmaları önemlidir. Probiyotik bakterilerin dahil edilmesi, mikrobiyal metabolizmanın birikmesinin artmasına bağlı olarak peynirin duyusal profilini belirgin bir şekilde etkilememeli ve aroma, doku ve diğer önemli özelliklerinde istenmeyen değişikliklere yol açmamalıdır (Talwalkar ve Kailasapathy, 2004). Ayrıca, peynirde bulunan probiyotik bakteriler, gastrointestinal yoldan geçerken hayatta kalabilmeli ve konakçı sağlığını yararlı bir şekilde etkileyebilmelidir (Ross ve ark., 2003).

Probiyotik peynir üretimi sırasında, probiyotik mikroorganizmaların peynirlere katılması için çeşitli yöntemler vardır (Tamime ve ark., 2011). Probiyotik kültürler peynirlere, peynir starter kültürler ile birlikte peynir yapımından önce ek kültürler olarak eklenebilir. Özellikle yavaş büyüyen probiyotik bakteriler için peynir altı suyu drenajı sırasında, peynir altı suyunda çok sayıda probiyotik hücre kaybolabileceği için bu yönteme dikkat edilmelidir. Bir başka giriş yöntemi ise özellikle probiyotik yarı sert ve sert peynirler yapımında, bakteriyel hücrelerin peynir altı suyuna zararlarını en aza indirmek için, lorun tuzlanması sırasında kurutulmuş bir probiyotik kültürün eklenmesiyle gerçekleştirilir. Süzme peynir gibi bazı peynir çeşitleri için, probiyotik kültürler, mayalanmış krema ile birlikte eklenebilir (Zhang ve Cai, 2014).

Probiyotiklerin peynirde uygulanması, peynir işlemede hayatta kalmaları için elverişsiz olan teknolojik engellerden dolayı bir zorluğu temsil etmektedir. Çeşitli bileşim ve süreç faktörleri peynirdeki probiyotik bakterilerin hayatta kalmasını açıkça etkilemektedir (Karimi ve ark., 2012).

2.3.4.1.3. Sütlü içecekler

Sütlü içecekler süt veya türevlerinden üretilir ve yoğurt kültürleri kullanılarak fermantasyon işlemine tabi tutulabilir (Castro ve ark., 2013). Bu içecekler genellikle düşük viskoziteli yumuşak bir dokuya sahiptir ve probiyotikler için önemli taşıyıcılar olarak hizmet etmektedirler. Bazı sütlü içecek ürünleri peynir altı suyu, süt, meyve suyu, probiyotik bakteriler veya maya karışımları kullanılarak geliştirilmiştir (Almeida ve ark., 2009). Sütlü içeceklerde probiyotiklerin yaşayabilirliği, spesifik suşa ve

kullanılan starter kültürlerin diğer suşlar ile etkileşimine ve ürünün gıda matriksindeki değişimine bağlıdır. Elizaquível ve ark. (2011), çeşitli içecek ve yoğurtları, elma ağaçlarından izole edilen probiyotik laktik asit bakteriyel suşlarının taşıyıcıları olarak değerlendirmiştir ve 28 günlük soğuk depolama sırasında, yoğurtta *P. parvul*us ve *L. suebicus* suşlarının canlı sayısında 2–3 log büyüklüğünde azalma gözlenirken; *L. suebicus*'un canlılığı 3 log mertebesinde azalmış olsa da, aynı depolama koşulları altında meyve suyu ve meyve suyu içeceklerinde probiyotik sağkalımda önemli bir azalma olmamıştır; Süt içecekleri ve yoğurt *P. parvulus* için gastrointestinal strese karşı koruyucu bir etki göstermiştir.

Ürün formülasyonu ve kullanılan işleme teknikleri ile önemli ölçüde farklılık gösteren uygun reolojik özellikler, işlevsellik ve duyusal kalitede sütlü içeceklerin geliştirilmesinde zorluklar çıkarmaktadır (Zhang ve Cai, 2014). Castro ve ark. (2013) sütlü içeceklerde, peynir altı suyu içeriğinin ürünün tüketici tarafından kabul edilmesini önemli ölçüde etkilediğini; probiyotik mandıra içeceklerine eklenen peynir altı suyu miktarının arttırılması jel gücünü azalttığını; Peynir altı suyu içeriği % 65'ten fazla olan içecekler tüketiciler tarafından daha düşük ölçüde kabul edildiğini, ancak % 49'luk peynir altı suyu konsantrasyonunda daha yüksek seviyelerde kabul edildiğini bildirmiştir.

2.3.4.1.4. Dondurma ve dondurulmuş sütlü tatlılar

Dondurma ve dondurulmuş sütlü tatlılar probiyotikler için potansiyel gıda taşıyıcıları olarak hizmet edebilir. Fermente olmayan tipteki dondurmalar için probiyotik mikroorganizmalar karışıma doğrudan inokülasyon ile birleştirilebilirken, fermente edilmiş tip dondurmalarda asitli süt veya probiyotik yoğurdun dondurma karışımı ile karıştırılmasıyla üretilebilir. Dondurma, genellikle probiyotiklerin stabilitesini ve canlılığını muhafaza etmeyi kolaylaştırabilecek donmuş koşullarda depolandığından, probiyotiklerin insan beslenmesinde iyi bir araç olduğu düşünülmektedir. Fermente olmayan dondurmanın nötr pH koşulu, probiyotik bakterilerin tatmin edici bir şekilde hayatta kalma olasılığını da sağlamaktadır. Dondurma üretimi, özellikle hücrelere zarar verebilecek donma ve çözme işlemlerini içeren çok işlemli prosesleri ve karışımın içine oksijenin karışması nedeniyle probiyotik canlılığı azaltan mekanik stresleri içerir (Ranadheera ve ark., 2010). Bu nedenle, probiyotik canlılığı arttırmak ve ürün fonksiyonel özelliklerini garanti altına almak için

dondurma üretimi sırasında her bir aşamadaki teknik parametrelerin optimize edilmesi önemlidir. Ek olarak, genel dondurma kalitesi probiyotiklerin dahil edilmesinden dolayı etkilenmemeli ve ürünün fiziko kimyasal özellikleri ile ilgili olarak geleneksel dondurma ile karşılaştırılabilir olmalıdır (Cruz ve ark., 2009).

Dondurulmuş sütlü tatlılarında probiyotiklerin hayatta kalması yüksek redoks değeri, oksijen toksisitesi, çırpma-dondurma işlemi ve matrisin asitliğinden etkilenebilir (Da Cruz ve ark., 2009). Dondurulmuş ürünlerde probiyotiklerin yeterli canlılığını sağlamak için kararlı probiyotik suşların seçimi önemlidir. Uygun olmayan ortamdaki ve gastrointestinal sistemdeki probiyotik sağkalımını iyileştirmenin yollarından biri, probiyotiklerin mikrokapsülleme yoluyla fiziksel olarak korunmasıdır (Kebary ve ark., 1998). Ek olarak, yeterli besin matriksinin seçilmesi, spesifik gıda matriksinde ve gastrointestinal kanalda probiyotik sağkalımını arttırmak için önemlidir (Schillinger ve ark., 2005).

2.3.4.1.5. Kurutulmuş ürünler

Probiyotikler raf ömrünün uzun olması için kurutulmuş formda üretilebilir ve tozlu probiyotik ürünler süt ürünleri üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Probiyotikler için farklı kurutma yöntemleri arasında dondurarak kurutma, probiyotik canlılığı en yüksek seviyede koruyan kurutma çeşididir. Sprey, vakum ve akışkan yataklı kurutma gibi diğer kurutma yöntemleri de düşük işletme maliyetleri ve daha yüksek verim kapasitesi ile giderek daha fazla kullanılmaktadır (Zhang ve Cai, 2014).

Kurutulmuş ürün matriksinde işleme ve depolama sırasında probiyotiklerin canlılığı sudan uzaklaştırma, oksijene maruz kalma, ürün matriksinin fiziksel özellikleri ve saklama koşulları gibi farklı faktörlerden etkilenebilmektedir (Jankovic ve ark., 2010). Probiyotiklerin stabilitesi koruyucu maddeler veya probiyotiklerin mikrokapsülasyonu ve düşük sıcaklıkta depolanması ile geliştirilebilir. En çok kullanılan koruyucu ajan yağsız sütdür (Pyar ve Peh, 2011; Li ve ark., 2012). Yaygın olarak kullanılan diğer koruyucu maddeler mono-, di-, veya oligosakkaridler gibi şekerler ve sorbitol gibi şeker türevlerini içerir (Li ve ark., 2011). Proteinler, aminoasitler ve prebiyotikler de LAB'nin kurutma ve depolama stabilitesini arttırdığı gösterilmiştir (Heidebach ve ark., 2010; Pyar ve Peh, 2011).

2.3.4.2. Süt ürünü olmayan probiyotik ürünler

Her ne kadar süt ürünleri hala probiyotiklerin insanlara ulaştırılması için en yaygın araç olsa da, sağlık ürünleri için artan tüketici talepleri meyveler, sebzeler, tahıllar, baklagiller ve et dahil olmak üzere çeşitli süt ürünü olmayan ürünleri keşfetmeyi teşvik etmiştir. Bu ürünler laktoz intoleransı veya dislipidemisi olan ve düşük kolesterol diyetini tercih eden tüketiciler ve artan sayıda vejetaryenlar için alternatif probiyotik formları sağlayabilmektedir. Probiyotik mikroorganizmalar arasında laktobasil ve bifidobakteriler yaygın olarak süt ürünü olmayan probiyotik gıda endüstrisi tarafından kullanılmaktadır (Zhang ve Cai, 2014).

2.3.4.2.1. Probiyotik meyve ve sebze ürünleri

Meyveler ve sebzeler, tüm bireylere hitap eden ve tüketiciler arasında yaygın olarak kabul edilen, sağlıklı ve ferahlatıcı gıdalar olarak lezzet profilleri ile besinler açısından zengindir (Sheehan ve ark., 2007). Meyve ve sebzelerin gıda yapılarını ve bileşenlerini değiştirerek, probiyotikler için ideal taşıyıcılar haline getirilebilir. Çünkü meyve ve sebzeler mineraller, diyet lifi, vitaminler ve antioksidanlar gibi yararlı besin maddelerini içerirler (Betoret ve ark., 2012). Diğer bitkilere benzer şekilde meyve ve sebze dokuları karmaşık iç hücrelere, hücreler arası boşluklara, gözeneklere ve kılcal damarlara sahip karmaşık mikroyapılar içerir. Ancak oldukça küçük gözenek boyutlarına sahip olan sağlam bitki hücresi duvarı (0.1–5.0 μm), mikroorganizmaların etkisine karşı fiziksel engel olarak işlev görmektedir (Martins ve ark., 2013). Meyve ve sebzelerin işlenmesi sırasındaki soyma ve kesme aşamaları şekerler, mineraller, vitaminler ve diğer besinler açısından zengin olan hücresel içeriğin salınmasını hızlandırabilir ve bu yararlı besinler mikrobiyal gelişim için oldukça uygundur (De Azeredo ve ark., 2011).

Meyve ve sebze sularında probiyotiklerin yaşayabilirliği, pH ve organik asit seviyeleri ile toplam fenol ve oksijenin varlığından etkilenebilir. Çilek, nar ve kızılcık sularının düşük pH (<3.2) ve yüksek toplam fenol konsantrasyonu (>1.5 g/L), ürünlerin soğutulmuş depolanması sırasında *L. plantarum* ve *B. longum*'un ölümüne neden olabilir (Nualkaekul ve ark., 2011). Bununla birlikte, *Lc. lactis* subsp. *cremoris*'in q-aminobenzoat-1 ve glutamat ile takviye edilmiş salatalık ve kavun sularında iyi geliştiği ve ayrıca meyve suyu ürünlerindeki folik asit seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir

(Gangadharan ve Nampoothiri, 2011). *L. rhamnosu*s ve *L. casei*'nin altı potansiyel probiyotik suşu, 4 °C'de 40 günlük depolama süresi boyunca kestane püresinde 10^8 CFU/mL'den daha yüksek bir popülasyon düzeyinde büyümüş ve hayatta kalabilmiştir (Blaiotta ve ark., 2012).

Meyve ve sebzeler gibi bitki kaynaklı gıdalar genellikle selüloz, pektin, hemiselülozlar, β-glukanlar, lignin ve zamklar gibi yüksek miktarda diyet lifleri içerir. Diyet liflerinden bazıları konakçının sağlığını olumlu yönde etkileyen, gastrointestinal yoldan geçiş sırasında probiyotik bakterilerin hayatta kalmasını destekleyebilen prebiyotikler olarak işlev görebilir. Elma, portakal, frenk üzümü, greyfurt, ananas ve limon gibi meyve sularındaki yüksek lifli diyet konsantrasyonu, soğutulmuş depolama sırasında probiyotiklerin hayatta kalması için yararlı olabilir (Nualkaekul ve ark., 2012).

2.3.4.2.2. Probiyotik tahıl ve soya ürünleri

Tahıllar, probiyotik bakterilerin büyümesi için iyi bir substrat olarak kabul edilmiştir. Suda çözünebilir lifler (β-glukan, arabinoxylan, vb.), oligosakkaritler (galakto- ve fruktooligosakkaritler, vb.) ve dirençli nişasta gibi tahılların bazı bileşenleri, kolondaki probiyotik mikroorganizmaların çoğalmasında prebiyotikler olarak görev yapabilirler (Shah, 2001). Probiyotik mikroorganizmaların canlılığı, probiyotikleri bağırsaktaki strese karşı koruyabilen yerli prebiyotiklerin varlığından dolayı tahıl matrislerinde arttırılabilir (Patel ve ark., 2004). Tahıl özlerinin, probiyotiklerin asit ve safra toleransını arttırdığı bulunmuştur (Kalui ve ark., 2010).

Bakteriyel hücrelerin uygun bir taşıyıcıda immobilizasyon teknikleri, işleme ve depolama sırasında ve gastrointestinal kanalda probiyotik canlılığı ve stabiliteyi geliştirdiği rapor edilmiştir (Champagne ve ark., 2005). Hububat veya tahıl bileşenlerinin mayalanabilir substratlar olarak kullanımı, probiyotik mikroorganizmaların büyümesine yardımcı olabilir. Ayrıca hububatlar, probiyotiklerin korunması için kapsülleme malzemeleri olarak da kullanılabilir (Wang ve ark., 1999).

Soya ürünleri yüksek kaliteli protein ve çoklu doymamış yağların yanı sıra diyet lifi, oligosakkaritler, eser mineraller ve vitaminleri içerir. Bu ürünlerin tüketiminin kardiyovasküler hastalıklar ve karsinojenez riskini azaltması ve menopozal bozukluk, ateroskleroz ve osteoporoz gibi kronik hastalıkların önlenmesinde faydalı olduğu düşünülmektedir (Bedani ve ark., 2013). Ayrıca soya ürünleri kemik koruyucu etkilere

ve antikanserojenik aktiviteye sahip olabilecek fitoöstrojenleri ve izoflavonları içerir (Donkor ve ark., 2005).

2.3.4.2.3. Probiyotik et ürünleri

Et, probiyotik büyüme için iyi bir substrat olarak kabul edilmiştir ve gastrointestinal yoldan geçiş sırasında probiyotiklere koruma sağlayabilmektedir (Klingberg ve Budde, 2006). Kuru fermente et ürünleri genellikle probiyotiklerin hayatta kalması için uygun şartlar sağlayabilir ve probiyotikler için uygun taşıyıcılardır (Ammor ve Mayo, 2007). Bununla birlikte yüksek tuz konsantrasyonu, asidik pH ve düşük su aktivitesi gibi fermente edilmiş kuru et matrisinde bulunan stresli koşullar probiyotiklerin hayatta kalmasını olumsuz yönde etkileyebilir. Bu nedenle et ürünlerinde kullanılmak üzere uygun probiyotik suşların seçilmesi, son üründe probiyotiklerin gerekli canlılığını sağlama koşulundan geçmektedir (Zhang ve Cai, 2014).

Et ürünlerinde doğal olarak bulunan mikroorganizmaların, et ortamına daha iyi adapte olmaları nedeniyle probiyotik suşları taramak için diğer kaynaklardan daha rekabetçi oldukları düşünülmektedir (Zhang ve Cai, 2014). Ruiz-Moyano ve ark. (2008), İberya kuru fermente sosisi (363), domuz dışkısı (300) ve insan dışkısından (337) izole edilen toplam 1000 suş arasında inceleme yapmıştır ve *L. casei, L. fermentum, L. reuteri, B. animalis, L. murinus, L. vaginalis* ve *P. acidilactici* suşları potansiyel probiyotik özellikler sergilemişlerdir ve bu suşlar olgunlaşma süresi boyunca fermente edilmiş sosis ürününün pH değerlerinde ve NaCl konsantrasyonlarında yeterince büyüyebilmiştir. Pennacchia ve ark. (2006), fermente sucuktan izole edilen 25 *Lactobacillus* suşunu değerlendirmiş ve 8 *L. plantarum* suşunun ve *L. paracasei* suşunun potansiyel probiyotik özelliklere sahip olduklarını bulmuşlardır.

Et ve et ürünlerinin güvenliği tüketiciler arasında büyük endişe kaynağıdır. Fermente et ürünlerinin işlenmesi ve depolanması sırasında kalitesiz hammaddelerin, uygun olmayan koşulların ve mikrobiyal kontaminasyonun kullanımı nedeniyle potansiyel olarak toksik biyojenik aminler oluşur. Biyojenik aminler serbest amino asitlerin dekarboksilasyonu yoluyla veya aldehidlerin ve ketonların aminasyonu ve transaminasyonu yoluyla oluşur (Jansen ve ark., 2003). Et ürünlerinde amin üreten mikrofloranın büyümesini baskılamak için probiyotik bakterilerin kullanılması önerilmiştir (Zhang ve Cai, 2014). Stadnik ve Dolatowski (2013), probiyotik *L. casei*

LOK 0900 ile aşılanmış kuru-sertleşmiş domuz etindeki biyojenik aminlerin oluşumunu araştırmış ve kadaverin (39.6 mg/kg) ve triptaminin (49.2 mg/kg) önerilen toksik seviyenin altında olduğunu bulmuştur.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. *Lactococcus* suşları

Çalışmada Anamur ve Mut bölgelerindeki keçi sütünden üretildiği belirtilen geleneksel tulum peynirlerinden izole edilen *Lactococcus* suşları kullanılmıştır. Çizelge 3.1.'de çalışılan *Lactococcus* suşları ve izole edildikleri kaynaklar belirtilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan *Lactococcus* suşları ve kaynakları

Bakteri Türü	İzolat No	İzole Edildiği Kaynak
Lactococcus garvieae	KE12	Tulum peyniri
Lactococcus lactis	C13	Tulum peyniri
Lactococcus lactis subsp.	T0625	Tulum peyniri
Lactococcus lactis	RPWL3	Tulum peyniri
Lactococcus lactis subsp.	SNNU0274	Tulum peyniri
Lactococcus garvieae	CAU1397	Tulum peyniri
Lactococcus lactis subsp.	NM45	Tulum peyniri
Lactococcus lactis	FM19LAB	Tulum peyniri
Lactococcus lactis	RCB1008	Tulum peyniri
Lactococcus lactis subsp.	CAU1157	Tulum peyniri

3.1.2. İndikatör patojen bakteriler

Çalışmada ilgili *Lactococcus* suşlarının antibakteriyal aktivite ve koagregasyon yeteneğinin belirlenmesinde Konya İl Gıda Kontrol Müdürlüğü'nden temin edilen *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 ve *Bacillus cereus* ATCC 14579 patojen bakterileri kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Kullanılacak bakterilerin analize hazırlanması

Çalışmada kullanılan *Lactococcus* suşları –60 ^{o}C'de ; %20-25 gliserol içeren M17 sıvı besiyerinde 1 ml'lik eppendorflar içinde muhafaza edilmiştir. Analiz öncesinde donmuş halde olan eppendorflar oda sıcaklığında bekletilerek eritilmiş ve

analize hazır hale getirilmiştir. Analize hazır hale gelen *Lactococcus* suşları M17 broth (Merck)'da 30 ^{o}C'de 24 saat inkübasyona bırakılmış ve analizlerde inokülant olarak kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan indikatör patojen bakteriler uzun vadeli muhafazası Brain Hearth Infusion (BHI) Broth besiyerinde %20'lik steril gliserol ilavesiyle -20 °C'de gerçekleştirilirken, kısa vadeli muhafazası ise +4 °C'de haftalık transferlerle sağlanmıştır.

3.2.2. Çalışmada kullanılan besiyerleri

Çalışmada kullanılan *Lactococcus* suşları için M17 agar (Merck) ve M17 broth (Merck) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan indikatör patojen bakterilerin uzun vadeli muhafazası için Brain Hearth Infusion (BHI) Broth besiyeri kullanılmıştır. Bu besiyerlerinin bileşimi Çizelge 3.2, Çizelge 3.3 ve Çizelge 3.4'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. BHI broth

Bileşen	**Bileşim Miktarı(g/L)**
Nutrient Substrate (beyin ekstraktı, kalp ekstraktı ve peptonlar)	27.5
D(+) Glucose	2.0
NaCl	5.0
Na_2HPO_4	2.5

Çizelge 3.3. M17 agar

Bileşen	**Bileşim Miktarı(g/L)**
Soya pepton	5.0
Kazein pepton	2.5
Sığır eti pepton	2.5
Maya ekstraktı	2.5
Sığır eti ekstraktı	5.0
Laktoz monohidrat	5.0
Askorbik asit	0.5
Sodyum β-gliserofosfat	19.0
Magnezyum sülfat	0.25
Agar agar	12.75

Çizelge 3.4. M17 broth

Bileşen	Bileşim Miktarı(g/L)
Soya unu peptonu	5.0
Et peptonu	2.5
Kazein pepronu	2.5
Maya ekstraktı	2.5
Et ekstraktı	5.0
Laktoz monohidrat	5.0
Askorbik asit	0.5
Sodyum β-gliserofosfat	19.00
Magnezyum sülfat	0.25

3.2.3. Mikrobiyolojik analizler

3.2.3.1. Safra tuzuna dayanıklılık

Suşların safraya toleransları belirlenirken Sabir ve ark.'nın (2010) kullandığı yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. Her bir suş M17 Broth'da 37 °C'de 24 saat bekletilerek, her bir bakteri süspansiyonundan 0.25 ml alınıp (~9 log kob/ml) 5 ml'lik steril M17 Broth'a inoküle edilmiştir. İnkübasyondan sonra hücreler santrifüj edilerek toplanıp (10.000 *g*, 10 dakika, 4 °C) ardından 3 kez fosfat buffer (PBS) ile yıkanmıştır. Sonrasında tekrar son kez PBS'de süspanse edilmiştir. Bakteriyal süspansiyondan 100 µl alınıp 900 µl'lik %0.15, %0.3 ve %0.5'lik safra çözeltisine ve safrasız kontrol örneğine eklenip 37 °C'de 2 saat inkübe edilmiş ve ardından 600 nm'deki absorbansı ölçülmüştür.

3.2.3.2. Mide özsuyuna ve pankreas özsuyuna dayanıklılık

Simule gastrik sindirim Bautista-Gallego ve ark.'na (2013) göre hazırlanmıştır. Simule sentetik mide özsuyu pH'sı 2.0 olan NaCI (2.05 g/l), KH_2PO_4 (0.6 g/l), $CaCI_2$ (0.11 g/l) ve KCI (0.37 g/l) içeren tampon çözeltisinde hazırlanarak, pH 2.0'a 1M HCI ile ayarlanıp, 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Kullanımdan hemen önce de pepsin (0.0133 g/l) ve lizozim (0.01 g/l) eklenilmiştir. Test edilecek LAB 1 gece geliştirildikten sonra 10.000 *g*'de 10 dakika santrifüjlenmiş ve elde edilen pellet pH 2.0 tampon çözeltisi ile 2 kez yıkanmıştır. Sonrasında hücreler son konsantrasyonu ~9 log kob/ml olacak şekilde sentetik mide özsuyunda yeniden süspanse edilerek, 37 °C'de 3 saat boyunca (peristaltik hareketi simule etmek amacıyla) orbital karıştırıcılı

inkübatörde inkübe edilmiştir. Son olarak seri dilüsyonlar hazırlanarak, M17 Agar'a ekim yapılıp 30 °C'de 3 gün bekletilip ardından sayım yapılmıştır.

Simule pankreatik sindirim analizi Corcoran ve ark'nın (2007) yöntemi modifiye edilerek uygulanmıştır. Simule pankreatik sindirim; safra (3 g/l), pankreatin (0.1 g/l) ve 8.5 g/l NaCI bulunduran 50.81 g/l, $Na_2HPO_4.7H_2O$ içeren pH 8.0 bufferda uygulanmıştır. Santrifüjlenen ve pellet halinde toplanan hücreler FTS ile yıkanmış ve simule pankreatik su ile aynı hacimde yeniden süspanse edilmiştir. T_0 anında yeni hazırlanmış simule pankreatik suyun sayımı seri dilüsyonlarla yapılmıştır. Sonrasında 200 rpm'de 37 °C'de 1 gece bekledikten sonra pellet yıkanıp ve izotonik çözeltide tekrar süspanse edilmiştir. Ve seri dilüsyonlarla ekimi yapılmıştır. LAB canlı kalma oranı da gastrik sindiriminin başından pankreatik sindirimin sonuna kadar geçen süre için hesaplanmıştır.

3.2.3.3. Asit toleransı

LAB asit toleransı Mishra ve Prasad (2005)'ın kullandığı yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. LAB'nin asit toleransı farklı pH çözeltileri ile çalışılmıştır. Bu çözeltiler ultra saf su içerisinde pH 1, 2 ve 3 için HCI ile ayarlanmış ve steril ultra saf su (pH 6.4) kontrol olarak kullanılmıştır. Çözeltiler 100 ml hacimde hazırlanıp, 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiş ve kullanılana kadar oda sıcaklığında bekletilmiştir. Karıştırıldıktan sonra her pH çözeltisinden 10 ml steril bir cam tüpe alınarak ve seçilen LAB kültürünün hücre süspansiyonu (~9 log kob/ml) her bir pH çözeltisine eklenerek karıştırılmıştır. Her bir çözeltiden 0. , 1. , 2. ve 3. saatte 1 ml alınıp %0.85'lik steril tuzlu su ile seri dilüsyonlar hazırlanmış ve 600 nm' deki absorbansı ölçülmüştür.

3.2.3.4. Otoagregasyon

Otoagregasyon analizi Kos ve ark (2003)'nın kullandığı yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. LAB M17 Broth'da 37 °C'de 18 saat boyunca geliştirilmiştir. 5.000 *g*'de ve 4 °C'de 15 dakika santrifüj sonrasında hücreler toplanmış ve 2 kez PBS ile yıkanmıştır. Ardından 8 log kob/ml olacak şekilde hücreler PBS'de yeniden süspanse edilmiştir. 4 ml hücre süspansiyonu alınıp 10 saniye vortekslendikten sonra oda sıcaklığında 24 saatlik inkübasyon esnasında otoagregasyon belirlenmiştir. 0., 1., 2.

ve 24. saatlerde bu süspansiyondan 0.1 mL alınıp 3.9 ml PBS ile karıştırılıp 600 nm'de absorbansı ölçülmüştür. Otoagregasyon oranı şu şekilde belirlenmiştir:

Otoagregasyon oranı =1-(A_t/A_0). 100 (3.1)

A_t: 1., 2., 3., 4. ve 24. saatlerdeki 600 nm'de absorbans değerler

$A_{0:}$ 0. saatteki 600 nm'de absorbans değeri

Koagregasyon için hücre süspansiyonu hazırlamada kullanılan metod otoagregasyondaki ile aynıdır. Her hücre süspansiyonundan eşit hacimler (2 ml LAB + 2 ml patojen bakteri olacak şekilde) ikili halde vortekste 10 saniye karıştırılmıştır. Kontrol tüpler her bakteriyal süspansiyondan 4 ml içerecek şekilde ayrı hazırlanmıştır. Karıştırmanın ardından süspansiyonların 600 nm'deki absorbansı oda sıcaklığında 0., 1., 2. ve 24. saatlerde inkübasyon süresince ölçülmüştür. Koagregasyon oranı Handley ve ark'nın (1987) aşağıdaki eşitliği ile hesaplanmıştır:

Koagregasyon oranı: [((A_X+A_Y)/2)-A(X+Y)]/(A_X+A_Y/2) (3.2)

X ve Y: Kontrol tüplerdeki 2 suşu belirtir.

(X+Y) : Karışımı belirtir.

3.2.3.5. Antibakteriyel aktivite

İncelenen çalışmalarda antibakteriyal etkisi saptanan izolatların veya maddelerin bir yöntemde pozitif sonuç verirken diğer yöntemde negatif sonuç verdiği görülmüştür. Bu yüzden en azından 2 farklı metot denenerek hata payının en aza indirilmesi amaçlanmaktadır. LAB'nin antibakteriyal metabolit üretme yeteneği aşağıda belirtilen 2 yöntemle belirlenecektir.

Antibakteriyal aktivite tespiti Agar-Well Difüzyon metodu kullanılarak Cizeikiene ve ark (2013)'nın metoduna göre yapılmıştır. İndikatör mikroorganizmalar için Brain Heart Infusion Agar kullanılmıştır. Petrilere 100 µl indikatör suş içeren Yumuşak Agar dökülerek LAB kültür süpernatantı agar üzerine açılan kuyucuklara (6 mm) 50 µl miktarında eklenmiştir. Bu işlem sonrası 48 saat optimum büyüme sıcaklığında bekletilen bakterilerin etrafındaki inhibisyon zonları ölçülmüştür.

Agar Spot Testi için ise; 1 gece inkübe edilmiş laktik asit bakterisi kültürlerinden 5 µl (her petride 4 farklı suş olacak şekilde) M17 Agar petrilerine pipetlenerek ve 30 °C'de 24 saat bekletilmiştir. 7 ml Yumuşak Agar içerisine indikatör suşlar pipetlendikten sonra bu yumuşak agar M17 Agar üzerine dökülmüş ve donması

beklenmiştir. Petriler 30 °C'de 24 saat inkübasyona tabii tutulduktan sonra zon çapları ölçülmüştür (González ve ark., 2007).

3.2.3.6. Diasetil üretimi

LAB 1 gecelik 30 °C'de geliştirmenin ardından 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen pelletler peptonlu suda süspanse edilmiş ve 10 ml steril süte %1 oranında bu süspansiyondan inoküle edilmiştir. 30 °C'de 24 saat inkübasyondan sonra 1 ml kültür 0.5 ml α-naftol çözeltisi ve %16'lık KOH çözeltisine eklenerek 37 °C'de 10 dakika bekletilmiştir. Diasetil üretimi tüplerdeki kırmızı halka ile anlaşılacaktır. Sonuçlar zayıf, orta ve güçlü olarak halkanın renk yoğunluğuna göre belirlenmiştir (De Almeida Júnior ve ark., 2015).

3.2.3.7. H_2O_2 üretimi

Aktif kültürler %2 oranında M17 Broth besiyerine inoküle edilip, 35 °C'de 42 saat inkübe edilmistir. Suşların oluşturduğu H_2O_2 miktarları spektrofotometrik (400 nm) yöntemle µg/ml olarak saptanmıştır (Patrick ve Wagner, 1949).

3.2.3.8. EPS üretimi

LAB izolatlarından EPS üretimi Van Geel-Schutten ve ark. (1998) tarafından modifikasyonlarla açıklanan yönteme göre test edilmiştir. Kısaca, LAB kültürleri 3 gün boyunca 37 °C'de % 2 (w/v) glikoz ile desteklenmiş 20 ml'lik M17 Broth besiyerinde geliştirilmiştir. Bakteri hücreleri, 6000x*g*'de 20 dakika boyunca santrifüj edilmiş ve iki hacimde %95 (v/v) soğuk etanol (Merck), EPS çökelmesi için kültür süpernatanının hacmine eklenmiştir. Çökeltiler, vakum altında filtre edilerek yenilendi ve 60 °C'de kurutulmuştur. Üretilen EPS miktarını belirlemek için ağırlıkları ölçülmüştür.

3.2.3.9. Farklı sıcaklıklarda gelişme

M17 Broth besiyerinde çoğaltılmış 18 saatlik kültürler tekrar M17 Broth'a aşılanarak 4 °C, 15 °C ve 45 °C'de inkübe edilmiştir. Gelişme gösterenler pozitif, göstermeyenler ise negatif olarak işaretlenmiştir (Tassou ve ark., 2002).

3.2.3.10. Alkole dayanıklılık

Alkole dayanıklılık analizi G-Alegria ve ark. (2004)'nın kullandığı yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. 18 saat geliştirilen LAB %3, 6, 12 ve 15 etil alkol içeren M17 Broth'lara aşılanmış ve 30 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası gelişme olan tüpler pozitif, göstermeyenler ise negatif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.3.11. NaCl'ye dayanıklılık

LAB'nin NaCl konsantrasyonlarındaki dayanıklılığı için Hoque ve ark. (2010)'nın kullandığı yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. % 0, 4, 6.5 ve 10'luk NaCl konsantrasyonlarıyla hazırlanan M17 Broth besiyerlerine %1'lik bakteriler inoküle edilmiştir ve 37 °C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası gelişme olan tüpler pozitif, göstermeyenler ise negatif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.3.12. H_2O_2'ye dayanıklılık

24 saat boyunca gelişmesi beklenen LAB M17 Broth ve 0.4, 0.7 ve 1.0 Mm H_2O_2 (%30'luk) içeren M17 Broth'lara %1 oranında aşılanmıştır. 37 °C'de 8 saat inkübe edilmiş ve hücre gelişmesi spektrofotometrik olarak 600 nm'de ölçülüp optik yoğunluk olarak sonuçlar verilmiştir (Li ve ark., 2012).

3.2.4. Araştırma verilerinin değerlendirilmesi

3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilen deneme deseninde araştırma sonuçları ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Probiyotik Özelliklerin Değerlendirilmesi

4.1.1. Safra tuzuna dayanıklılık

Yapılan çalışma sonucunda %0.15, %0.3 ve %0.5'lik safra çözeltisi ile M17 brothlarda gerçekleştirilen 2 saatlik inkübasyon sonucunda tüm *Lactococcus* suşları gelişim göstermiştir. *Lc. lactis* RCB1008 suşu safra tuzuna karşı en dirençli suş olurken, *Lc. lactis* RPWL3 en dirençsiz suş olmuştur. Ayrıca çalışma sonucunda tüm *Lactococcus* suşlarının safra tuzu miktarı arttıkça canlılıklarını sürdürebildiklerini fakat çoğalamadıkları tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş *Lactococcus* suşlarının safrasız kontrol örneği ve %0.15, %0.3 ve %0.5'lik safra konsatrasyonunda 600 nm' deki absorbansı

Bakteri Türü	Canlı organizma sayısı (abs)			
	%0	%0.15	%0.3	%0.5
***Lc. garvieae* KE12**	0,109± 0,081	0,089± 0,0121	0,067± 0,0074	0,035± 0,0091
***Lc. lactis* C13**	0,057± 0,013	0,048± 0,0066	0,048± 0,0066	0,024± 0,0073
***Lc. lactis* subsp. T0625**	0,028± 0,012	0,023± 0,0017	0,018± 0,0008	0,009± 0,0006
***Lc. lactis* RPWL3**	0,024± 0,006	0,017± 0,0004	0,011± 0,0009	0,004± 0,0002
***Lc. lactis* subsp. SNNU0274**	0,133± 0,018	0,098± 0,0016	0,067± 0,0019	0,033± 0,0013
***Lc. garvieae* CAU1397**	0,096± 0,011	0,078± 0,0026	0,059± 0,0009	0,044± 0,0010
***Lc. lactis* subsp. NM45**	0,125± 0,028	0,108± 0,0012	0,087± 0,0021	0,057± 0,0022
***Lc. lactis* FM19LAB**	0,092± 0,008	0,081± 0,0006	0,049± 0,0004	0,022± 0,0003
***Lc. lactis* RCB1008**	0,134± 0,018	0,118± 0,0016	0,107± 0,0021	0,094± 0,0041
***Lc. lactis* subsp. CAU1157**	0,026± 0,002	0,021± 0,0003	0,014± 0,0009	0,008± 0,0006

Sabir ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada kefirden izole edilen *Lc. lactis* Z3S suşunun %0.15, %0.3 ve %0.5'lik safra çözeltisinde gelişme gösterdiği fakat safra tuzu konsantrasyonu arttıkça canlı kalan mikroorganizma sayısında azalma olduğu gözlemlenmiştir. Kimoto-Nira ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada peynir, fermente süt, çiğ süt ve kimçiden izole edilen *Lc. lactis* subsp. *lactis* ve *Lc. lactis* subsp. *cremoris* suşlarının GM17 ve LM17 ortamında büyüme özellikleri araştırılmıştır. %0.3'lük safra çözeltisinde yapılan araştırmada GM17 ortamında 8 *Lc. lactis* subsp. *cremoris* suşundan yalnızca 3 tanesi gelişme gösterirken, aynı ortamda 6 *Lc. lactis* subsp. *lactis* suşunun tamamı %0.3'lük safra tuzuna karşı direnç göstererek gelişim göstermiştir. LM17 ortamında ise 8 *Lc. lactis* subsp. *cremoris* suşundan yine aynı 3 suş gelişme gösterirken, aynı ortamda 6 *Lc. lactis* subsp. *lactis* suşunun yine tamamı %0.3'lük safra tuzuna karşı

direnç göstererek gelişim göstermiştir. Lee ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada kimçiden izole edilen *Lc. lactis* KC24 suşunun %0.1'lik safra çözeltisinde 2 saatlik inkübasyondan sonra gelişme gözlemlendiği ancak başlangıç canlı mikroorganizma sayısında azalma olduğu kaydedilmiştir. Ribeiro ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada Azorean Pico peynirinden izole edilen *Lc. lactis* L3A21M1 suşunun %0.3'lük safra ve %0.1'lik pankreatin suyunda 3 saatlik inkübasyondan sonra gelişme gözlemlendiği ve her yarım saatlik ara ile yapılan ölçümlerde canlı mikroorganizma sayısında düşüş yaşandığı gözlemlenmiştir. Nguyen ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada vahşi deniz balıklarının bağırsağından izole edilen *Lc. lactis* WFLU12 suşunun %0.2'lik ve %0.3'lük safra çözeltisinde 4 ve 24 saatlik inkübasyonlarda M17 agarda sayımları yapılmıştır. 4 saatlik inkübasyon sonucunda %0.2'lik ve %0.3'lük safra çözeltisinin her ikisinde de gelişim gösteren *Lc. lactis* WFLU12 suşu, 24 saatlik inkübasyon sonucunda %0.2'lik safra çözeltisinde gelişim gösterirken, %0.3'lük safra çözeltisinde gelişim göstermemiştir. Kimoto-Nira ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada *Lc. lactis* G50 suşunun %0.3'lük safra çözeltisinde 3 saatlik inkübasyon sonucunda canlılıklarını sürdürebildiği ancak çoğalamadığı kaydedilmiştir. Vinderola ve Reinheimer (2003) tarafından yapılan çalışmada Arjantin'in doğal süt kültürlerinden izole edilen 8 *Lc. lactis* suşunun %0.3. %0.5 ve %1'lik safra çözeltisinde 24 saatlik inkübasyon sonucunda tüm suşlarda gelişme gözlemlenmiştir ve artan safra konsantrasyonlarında canlı mikroorganizma sayısında azalma olduğu kaydedilmiştir. Çalışmada, *Lactococcus* suşlarının %0.15, %0.3 ve %0.5'lik tüm safra konsantrasyonlarında gelişme göstermesi ve %0.3'lük safra tuzuna karşı dayanıklılık probiyotik seçiminde önemli bir kriter olduğu ve literatür verileri de göz önüne alındığında tüm izolatların safraya dayanıklılık açısından probiyotik olarak kullanılabileceği söylenebilmektedir.

4.1.2. Mide özsuyuna ve pankreas özsuyuna dayanıklılık

Yapılan çalışma sonucunda 3 saatlik inkübasyondan sonra yapılan ekimde mide özsuyu pH'sı olan pH 2 'de *Lc. garvieae* KE12, *Lc. lactis* subsp. T0625, *Lc. garvieae* CAU1397, *Lc. lactis* FM19LAB ve *Lc. lactis* subsp. CAU1157 suşlarının canlılıklarını sürdürebildikleri fakat çoğalamadıkları tespit edilirken, *Lc. lactis* C13, *Lc. lactis* RPWL3, *Lc. lactis* subsp. SNNU0274, *Lc. lactis* subsp. NM45 ve *Lc. lactis* RCB1008 suşlarının canlılıklarını sürdüremedikleri tespit edilmiştir. *Lc. garvieae* CAU1397 suşu mide özsuyuna en dayanıklı suş olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş *Lactococcus* suşlarının kontrol besiyeri ve pH 2 mide özsuyundaki canlı mikroorganizma sayısı

Bakteri Türü	Kontrol besiyeri (Log cfu/g)	Mide Özsuyu (pH 2)	Düşüş Değeri (Log cfu/g)	% Gelişme
***Lc. garvieae* KE12**	7	1.92	5.08	27.42
***Lc. lactis* C13**	7.36	< 1	> 6	0.00
***Lc. lactis* subsp. T0625**	5.84	1.24	4.6	21.23
***Lc. lactis* RPWL3**	4.76	< 1	> 3	0.00
***Lc. lactis* subsp. SNNU0274**	4.48	< 1	> 3	0.00
***Lc. garvieae* CAU1397**	5.08	1.98	3.1	38.97
***Lc. lactis* subsp. NM45**	7.49	< 1	> 6	0.00
***Lc. lactis* FM19LAB**	6.96	1.71	5.25	24.56
***Lc. lactis* RCB1008**	4.28	< 1	> 3	0.00
***Lc. lactis* subsp. CAU1157**	7.57	2.52	5.05	33.28

Vinderola ve Reinheimer (2003) tarafından yapılan çalışmada pH 2'de 8 *Lc. lactis* suşunun tamamında gelişim gözlemlenmiştir ve canlı mikroorganizma sayılarında *Lc. lactis* Mo12 suşundaki düşüş 5.6±0.5 log iken, diğer suşların tamamındaki düşüş > 6.0 log olarak bulunmuştur. Ertekin ve Çon (2014) tarafından yapılan çalışmada peynirden izole edilen *Lc. lactis* subsp. *lactis* O3 ve *Lc. lactis* DSM20481 suşlarında gelişme gözlemlenmiştir. *Lc. lactis* subsp. *lactis* O3 suşunun gelişimindeki düşüş 5.70 log iken, *Lc. lactis* DSM20481 suşunun gelişimindeki düşüş >6.0 log olarak bulunmuştur. Monteagudo ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada farklı süt örneklerinden izole edilen *Lc. lactis* ATCC 11454 ve *Lc. lactis* 660 suşu 3 saatlik inkübasyon sonucunda pH 2'de her ikiside gelişim göstermiş ve canlı mikroorganizma sayılarında kontrol grubu olan pH 7'ye göre düşüş gözlemlenmiştir. Shehata ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada boza ve Rayb sütünden izole edilen 9 LAB'den 3 saatlik inkübasyon sonucunda pH 2'de tüm bakterilerde gelişim gözlemlenmiş ve canlı mikroorganizma sayılarında düşüş kaydedilmiştir. Çalışma sonucunda, *Lc. garvieae* KE12, *Lc. lactis* subsp. T0625, *Lc. garvieae* CAU1397, *Lc. lactis* FM19LAB ve *Lc. lactis* subsp. CAU1157 mide özsuyuna dayanıklılık açısından probiyotik olarak kullanılabileceği söylenebilmektedir.

Yapılan çalışma sonucunda, 24 saatlik inkübasyondan sonra yapılan ekimde pankreatik su pH 8'de *Lc. lactis* C13, *Lc. garvieae* CAU1397 ve *Lc. lactis* FM19LAB suşlarının canlılıklarını sürdürebildikleri fakat çoğalamadıkları tespit edilirken, *Lc. garvieae* KE12, *Lc. lactis* subsp. T0625, *Lc. lactis* RPWL3, *Lc. lactis* subsp. SNNU0274, *Lc. lactis* subsp. NM45, *Lc. lactis* RCB1008 ve *Lc. lactis* subsp. CAU1157

suşlarının canlılıklarını sürdüremedikleri tespit edilmiştir. *Lc. garvieae* CAU1397 suşu pankreatik suya en dayanıklı suş olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş *Lactococcus* suşlarının kontrol besiyeri ve pH 8 pankreatik sudaki canlı mikroorganizma sayısı

Bakteri Türü	Kontrol besiyeri (Log cfu/g)	Pankreatik Su (pH 8)	Düşüş Değeri (Log cfu/g)	% Gelişme
***Lc. garvieae* KE12**	7	< 1	> 6	0.00
***Lc. lactis* C13**	7.36	1.28	6.08	17.39
***Lc. lactis* subsp. T0625**	5.84	< 1	> 5	0.00
***Lc. lactis* RPWL3**	4.76	< 1	> 4	0.00
***Lc. lactis* subsp. SNNU0274**	4.48	< 1	> 4	0.00
***Lc. garvieae* CAU1397**	5.08	1.41	3.67	27.75
***Lc. lactis* subsp. NM45**	7.49	< 1	> 6	0.00
***Lc. lactis* FM19LAB**	6.96	1.34	5.62	19.25
***Lc. lactis* RCB1008**	4.28	< 1	> 4	0.00
***Lc. lactis* subsp. CAU1157**	7.57	< 1	> 6	0.00

Guerra ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada pH 8'de *Lc. lactis* suşunda gelişim gözlemlenmiştir ve canlı mikroorganizma sayısındaki düşüş >3.0 log olarak bulunmuştur. Monteagudo ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada farklı süt örneklerinden izole edilen *Lc. lactis* ATCC 11454 ve *Lc. lactis* 660 suşlarında 4 saatlik inkübasyon sonucunda her iki suşta da gelişim gözlemlenmiş olup, *Lc. lactis* ATCC 11454 suşunda inkübasyon süresi boyunca canlı mikroorganizma sayısı düşerken, *Lc. Lactis* 660 suşunda canlı mikroorganizma sayısı artmıştır. Ding ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada Tibet sığırı sütünden izole edilen *Lc. lactis* subsp. *lactis* M63 suşunda 24 saatlik inkübasyondan sonra pH 8'de gelişim gözlemlenmiş olup canlı mikroorganizma sayısında azalma görülmüştür. Çalışma sonucunda, *Lc. lactis* C13, *Lc. garvieae* CAU1397 ve *Lc. lactis* FM19LAB suşları pankreatik suya dayanıklılık açısından probiyotik olarak kullanılabileceği söylenebilmektedir.

Mide özsuyuna ve pankreatik suya dayanıklılık açısından iki analiz birden ele alındığında *Lc. garvieae* CAU1397 ve *Lc. lactis* FM19LAB suşları her ikisine karşı da direnç göstermiştir.

4.1.3. Asit toleransı

Yapılan çalışma sonucunda 0., 1., 2. ve 3. saatler sonunda tüm *Lactococcus* suşlarında pH 1,2 ve 3'de gelişim gözlenmiştir.

Çizelge 4.4. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş *Lactococcus* suşlarının inkübasyondaki 0.saatte pH 1, 2, 3 ve saf su içindeki 600 nm' de asit toleransı absorbansı

Bakteri Türü	0.saat (abs)			
	Saf su	pH 1	pH 2	pH 3
***Lc. garvieae* KE12**	0.021± 0.005	0.024± 0.007	0.035± 0.010	0.043± 0.021
***Lc. lactis* C13**	0.010± 0.003	0.028± 0.002	0.034± 0.010	0.048± 0.012
***Lc. lactis* subsp. T0625**	0.165± 0.018	0.168± 0.013	0.181± 0.022	0.204± 0.033
***Lc. lactis* RPWL3**	0.172± 0.026	0.150± 0.009	0.220± 0.027	0.247± 0.047
***Lc. lactis* subsp. SNNU0274**	0.169± 0.032	0.166± 0.011	0.269± 0.032	0.304± 0.051
***Lc. garvieae* CAU1397**	0.198± 0.023	0.143± 0.019	0.189± 0.041	0.235± 0.031
***Lc. lactis* subsp. NM45**	0.214± 0.048	0.202± 0.032	0.226± 0.019	0.247± 0.020
***Lc. lactis* FM19LAB**	0.257± 0.032	0.193± 0.027	0.204± 0.053	0.209± 0.018
***Lc. lactis* RCB1008**	0.209± 0.011	0.170± 0.036	0.220± 0.026	0.310± 0.019
***Lc. lactis* subsp. CAU1157**	0.226± 0.017	0.196± 0.052	0.229± 0.071	0.332± 0.013

Çizelge 4.5. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş *Lactococcus* suşlarının inkübasyondaki 1.saatte pH 1, 2, 3 ve saf su içindeki 600 nm' de asit toleransı absorbansı

Bakteri Türü	1.saat (abs)			
	Saf su	pH 1	pH 2	pH 3
***Lc. garvieae* KE12**	0.005± 0.002	0.010± 0.004	0.038± 0.007	0.067± 0.011
***Lc. lactis* C13**	0.043± 0.009	0.056± 0.013	0.067± 0.013	0.134± 0.014
***Lc. lactis* subsp. T0625**	0.170± 0.025	0.151± 0.041	0.182± 0.024	0.197± 0.032
***Lc. lactis* RPWL3**	0.190± 0.033	0.178± 0.029	0.199± 0.046	0.206± 0.009
***Lc. lactis* subsp. SNNU0274**	0.181± 0.026	0.153± 0.016	0.203± 0.012	0.227± 0.018
***Lc. garvieae* CAU1397**	0.198± 0.038	0.119± 0.027	0.308± 0.021	0.434± 0.021
***Lc. lactis* subsp. NM45**	0.264± 0.047	0.159± 0.019	0.180± 0.017	0.247± 0.033
***Lc. lactis* FM19LAB**	0.217± 0.064	0.189± 0.038	0.305± 0.053	0.403± 0.027
***Lc. lactis* RCB1008**	0.218± 0.022	0.232± 0.041	0.266± 0.014	0.297± 0.064
***Lc. lactis* subsp. CAU1157**	0.207± 0.038	0.116± 0.013	0.227± 0.047	0.232± 0.016

Çizelge 4.6. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş *Lactococcus* suşlarının inkübasyondaki 2.saatte pH 1, 2, 3 ve saf su içindeki 600 nm' de asit toleransı absorbansı

Bakteri Türü	2.saat (abs)			
	Saf su	pH 1	pH 2	pH 3
***Lc. garvieae* KE12**	0.024± 0.004	0.033± 0.009	0.041± 0.018	0.056± 0.011
***Lc. lactis* C13**	0.113± 0.017	0.022± 0.012	0.056± 0.023	0.071± 0.013
***Lc. lactis* subsp. T0625**	0.190± 0.019	0.162± 0.017	0.188± 0.011	0.211± 0.047
***Lc. lactis* RPWL3**	0.210± 0.022	0.143± 0.023	0.220± 0.019	0.227± 0.019
***Lc. lactis* subsp. SNNU0274**	0.201± 0.027	0.163± 0.019	0.203± 0.011	0.217± 0.038
***Lc. garvieae* CAU1397**	0.220± 0.021	0.135± 0.035	0.182± 0.017	0.197± 0.016
***Lc. lactis* subsp. NM45**	0.274± 0.038	0.177± 0.037	0.202± 0.022	0.275± 0.022
***Lc. lactis* FM19LAB**	0.228± 0.045	0.178± 0.041	0.186± 0.038	0.235± 0.017
***Lc. lactis* RCB1008**	0.239± 0.016	0.207± 0.016	0.241± 0.016	0.207± 0.013
***Lc. lactis* subsp. CAU1157**	0.217± 0.025	0.187± 0.022	0.201± 0.013	0.228± 0.015

Çizelge 4.7. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş *Lactococcus* suşlarının inkübasyondaki 3. saatte pH 1, 2, 3 ve saf su içindeki 600 nm' de asit toleransı absorbansı

Bakteri Türü	3.saat (abs)			
	Saf su	pH 1	pH 2	pH 3
***Lc. garvieae* KE12**	0.023± 0.012	0.025± 0.010	0.034± 0.018	0.052± 0.012
***Lc. lactis* C13**	0.118± 0.016	0.021± 0.008	0.027± 0.013	0.075± 0.014
***Lc. lactis* subsp. T0625**	0.185± 0.027	0.138± 0.014	0.190± 0.014	0.204± 0.006
***Lc. lactis* RPWL3**	0.203± 0.033	0.137± 0.013	0.218± 0.007	0.230± 0.019
***Lc. lactis* subsp. SNNU0274**	0.194± 0.032	0.158± 0.022	0.200± 0.032	0.283± 0.008
***Lc. garvieae* CAU1397**	0.216± 0.041	0.135± 0.019	0.261± 0.014	0.292± 0.021
***Lc. lactis* subsp. NM45**	0.264± 0.048	0.177± 0.027	0.264± 0.013	0.316± 0.026
***Lc. lactis* FM19LAB**	0.227± 0.017	0.206± 0.036	0.241± 0.017	0.288± 0.044
***Lc. lactis* RCB1008**	0.241± 0.019	0.165± 0.053	0.200± 0.019	0.221± 0.013
***Lc. lactis* subsp. CAU1157**	0.225± 0.013	0.174± 0.017	0.259± 0.023	0.318± 0.011

Sabir ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada kefirden izole edilen *Lc. lactis* suşlarında pH 1, 2 ve 3'de gelişim gözlenmiştir. Wang ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada hardaldan izole edilen 50 farklı LAB suşunun pH 3 değerinde tüm suşların direnç gösterdiğini bildirmiştir. Guerra ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada 1, 2 ve 4 saatlik süre boyunca pH 1,2,3,4 ve 5'de *Lc. lactis* suşunun tamamında direnç gösterdiği gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda *Lactococcus* suşlarının 0., 1., 2., ve 3. saatler sonunda tüm suşların pH 1,2 ve 3'de gelişim göstermesi literatür verileri ile benzer ve beklenildiği gibidir.

4.1.4. Otoagregasyon

Yapılan otoagregasyon analizi sonucunda tüm *Lactococcus* suşları 24 saatlik inkübasyon sonunda otoagregasyon kabiliyeti göstermiştir ve otoagregasyon yetenekleri %19 ile %85 arasında değişmektedir. 24 saat sonunda otoagregasyon yeteneği en yüksek olan suş *Lc. lactis* subsp. NM45 iken, en düşük suş ise *Lc. garvieae* KE12 suşu olmuştur.

Çizelge 4.8. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş *Lactococcus* suşlarının inkübasyondaki 1., 2., 3., 4. ve 24. saattaki % otoagregasyonu

Bakteri Türü	% otoagregasyon (abs)				
	1.saat	2.saat	3.saat	4.saat	24.saat
***Lc. garvieae* KE12**	3,22 ± 0.48	3,91 ± 0.63	4,34 ± 0.27	6,41 ± 0.94	19,27 ± 2,28
***Lc. lactis* C13**	38,77 ± 4,27	41,21 ± 3,36	46,38 ± 5,87	51,63 ± 6,32	64,38 ± 8,77
***Lc. lactis* subsp. T0625**	45,85 ± 6,38	47,33 ± 5,47	48,61 ± 5,51	51,22 ± 4,28	59,63 ± 7,68
***Lc. lactis* RPWL3**	10.25 ± 2,21	12,32 ± 1,47	14,61 ± 1,96	16,87 ± 3,37	26,94 ± 5,47
***Lc. lactis* subsp.SNNU0274**	15,62 ± 1,38	18,06 ± 2,94	19,42 ± 3,03	24,32 ± 0.98	33,66 ± 4,72
***Lc. garvieae* CAU1397**	15,71 ± 1.41	18,11 ± 1.63	21,28 ± 1,44	23,39 ± 1,54	25,49 ± 2,16
***Lc. lactis* subsp. NM45**	67,54 ± 7,78	70.14 ± 5,43	73,47 ± 6,97	77,06 ± 5,18	84,96 ± 4,39
***Lc. lactis* FM19LAB**	57,00 ± 4,81	59,22 ± 3,74	60.38 ± 2,41	62,17 ± 6,31	69,47 ± 6,87
***Lc. lactis* RCB1008**	40.65 ± 3,56	42,04 ± 4,88	44,57 ± 5,37	46,93 ± 5,07	59,66 ± 6,07
***Lc. lactis* subsp. CAU1157**	62,66 ± 5,34	65,34 ± 3,86	67,08 ± 4,71	69,84 ± 8,14	78,09 ± 7,52

Sabir ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada kefirden izole edilen *Lc. lactis* Z3S suşunda 4 saatlik inkübasyon sonucunda otoagregasyon yeteneği %40 olarak tespit edilmiştir. Ribeiro ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada Azorean Pico peynirinden izole edilen *Lc. lactis* L3A21M1 suşunun 1 saatlik inkübasyonu sonucunda otoagregasyon yeteneği %54.52 olarak tespit edilmiştir. Abushelaibi ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada deve sütünden izole edilen *Lc. lactis* KX881768 ve *Lc. lactis* KX881782 suşlarının 24 saatlik inkübasyon sonucunda sırasıyla %2.7 ve %9.0 olarak tespit edilmiştir. Lee ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada Kimçiden izole edilen *Lc.lactis* KC24 suşunun 5 saatlik inkübasyonu sonucunda otoagregasyon yeteneği %36.15 olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda *Lactococcus* suşlarının otoagregasyon yetenekleri literatür verileri ile benzerlik göstermektedir ve 10 *Lactococcus* suşunun tamamı otoagregasyon kabiliyetleri açısından probiyotik olarak kullanılabileceği söylenebilmektedir.

Yapılan çalışma sonucunda *Lc. garvieae* KE12 *ve Lc. lactis* C13 suşunun *B.cereus* ile koagregasyon yetenekleri 24 saatlik inkübasyon sonunda sırasıyla %26.47 ve %38.61'dir. *Lc. lactis* subsp. T0625 *ve Lc. lactis* RPWL3 suşunun *S.*Typhimurium ile koagregasyon yetenekleri 24 saatlik inkübasyon sonunda sırasıyla %24.37 ve %20.11'dir. *Lc. lactis* subsp. SNNU0274 *ve Lc. garvieae* CAU1397 suşunun *E.coli* ile koagregasyon yetenekleri 24 saatlik inkübasyon sonunda sırasıyla %32.18 ve %16.38'dir. *Lc. lactis* subsp. NM45 *ve Lc. lactis* FM19LAB suşunun *S. aureus* ile koagregasyon yetenekleri 24 saatlik inkübasyon sonunda sırasıyla %10.34 ve %4.24'dir. *Lc. lactis* RCB1008 *ve Lc. lactis* subsp. CAU1157 suşunun *L. monocytogenes* ile koagregasyon yetenekleri 24 saatlik inkübasyon sonunda sırasıyla %48.23 ve %64.97'dir.

Çizelge 4.9. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş *Lactococcus garvieae* KE12 *ve Lactococcus lactis* C13 suşunun inkübasyondaki 1., 2. ve 24. saattaki *B. cereus* ile % koagregasyonu

Bakteri Türü	% koagregasyon (*B. cereus*) (abs)		
	1.saat	2.saat	24.saat
***Lc. garvieae* KE12**	12.41 ± 2.16	14.32 ± 1.88	26.47 ± 3.96
***Lc. lactis* C13**	27.36 ± 5.22	29.38 ± 4.25	38.61 ± 6.63

Çizelge 4.10. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş *Lactococcus lactis* subsp. T0625 *ve Lactococcus lactis* RPWL3 suşunun inkübasyondaki 1., 2. ve 24. saattaki *S.* Typhimurium ile % koagregasyonu

Bakteri Türü	% koagregasyon (*S.* Typhimurium) (abs)		
	1.saat	2.saat	24.saat
***Lc. lactis* subsp. T0625**	17.25 ± 0.69	19.72 ± 1.56	24.37 ± 2.16
***Lc. lactis* RPWL3**	11.08 ± 2.51	14.16 ± 1.54	20.11 ± 3.43

Abushelaibi ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada deve sütünden izole edilen *Lc. lactis* KX881768 ve *Lc. lactis* KX881782 suşlarının *S.* Typhimurium ile 4 saatlik inkübasyon sonucunda koagregasyon yeteneği sırasıyla %4.0 ve %21 olarak tespit edilmiştir. Li ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada geleneksel fermente gıdalardan izole edilen 9 *Lc. lactis* suşunun *S.* Typhimurium ile 5 saatlik inkübasyon sonucunda koagregasyon yetenekleri %13 ile %20 arasında değişmektedir.

Çizelge 4.11. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş *Lactococcus lactis* subsp. SNNU0274 *ve Lactococcus garvieae* CAU1397 suşunun inkübasyondaki 1., 2. ve 24. saattaki *E. coli* ile % koagregasyonu

Bakteri Türü	% koagregasyon (*E. coli*) (abs)		
	1.saat	2.saat	24.saat
***Lc. lactis* subsp. SNNU0274**	20.34 ± 3.18	24.54 ± 4.73	32.18 ± 5.77
***Lc. garvieae* CAU1397**	7.00 ± 2.11	9.12 ± 1.94	16.38 ± 4.19

Sabir ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada kefirden izole edilen *Lc. lactis* Z3S suşunun *E. coli* ATTC 11229 ile 4 saatlik inkübasyon sonucu koagregasyon yeteneği %38 olarak tespit edilmiştir. Abushelaibi ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada deve sütünden izole edilen *Lc. lactis* KX881768 ve *Lc. lactis* KX881782 suşlarının *E. coli* O157:H7 ile 4 saatlik inkübasyon sonucunda koagregasyon yeteneği sırasıyla %5.1 ve %8.8 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.12. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş *Lactococcus lactis* subsp. NM45 *ve Lactococcus lactis* FM19LAB suşunun inkübasyondaki 1., 2. ve 24. saattaki *S. aureus* ile % koagregasyonu

Bakteri Türü	% koagregasyon (*S. aureus*) (abs)		
	1.saat	2.saat	24.saat
***Lc. lactis* subsp. NM45**	7,11 ± 1,33	8,19 ± 2,10	10.34 ± 2,69
***Lc. lactis* FM19LAB**	2,11 ± 0.21	3,08 ± 0.52	4,24 ± 0.17

Abushelaibi ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada deve sütünden izole edilen *Lc. lactis* KX881768 ve *Lc. lactis* KX881782 suşlarının *S. aureus* ile 4 saatlik inkübasyon sonucunda koagregasyon yeteneği sırasıyla % 1.3 ve % 4.2 olarak tespit edilmiştir. Lee ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada kimçiden izole edilen *Lc. lactis* KC24 suşunun *S. aureus* ATCC 33591, *S. aureus* ATCC 33593 ve *S. aureus* ATCC 33594 patojen bakterileri ile 5 saatlik inkübasyonu sonucunda koagregasyon yeteneği sırası ile %73.20, % 63.50 ve % 69.74 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.13. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş *Lactococcus lactis* RCB1008 *ve Lactococcus lactis* subsp. CAU1157 suşunun inkübasyondaki 1., 2. ve 24. saattaki *L. monocytogenes* ile % koagregasyonu

Bakteri Türü	**% koagregasyon (*L. monocytogenes*) (abs)**		
	1.saat	**2.saat**	**24.saat**
***Lc. lactis* RCB1008**	30.18 ± 2.46	37.04 ± 5.78	48.23 ± 6.67
***Lc. lactis* subsp. CAU1157**	52.27 ± 3.74	55.29 ± 2.89	64.97 ± 8.19

Ribeiro ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada Azorean Pico peynirinden izole edilen *Lc. lactis* L3A21M1 suşunun *L. monocytogenes* ATCC 7466 ile 1 saatlik inkübasyonu sonucunda koagregasyon yeteneği %46.86 olarak tespit edilmiştir. Abushelaibi ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada deve sütünden izole edilen *Lc. lactis* KX881768 ve *Lc. lactis* KX881782 suşlarının *L. monocytogenes* ile 4 saatlik inkübasyon sonucunda koagregasyon yeteneği sırasıyla %2.1 ve %8.3 olarak tespit edilmiştir. Lee ve ark.(2015) yaptıkları çalışmada kimçiden izole edilen *Lc. lactis* KC24 suşunun *L. monocytogenes* ATCC 15313. *L. monocytogenes* ScottA ve *L. monocytogenes* H7962 patojen bakterileri ile 5 saatlik inkübasyonu sonucunda koagregasyon yeteneği sırası ile %29.28, % 52.02 ve % 74.11 olarak tespit edilmiştir.

Çalışma sonucunda *Lactococcus* suşlarının patojen mikroorganizmalar ile koagregasyon yetenekleri literatür verileri ile benzerlik göstermektedir ve 10 *Lactococcus* suşunun tamamı koagregasyon kabiliyeti açısından probiyotik olarak kullanılabileceği söylenebilmektedir.

4.1.5. Antibakteriyel aktivite

Yapılan iki farklı analiz sonucunda da hiçbir *Lactococcus* suşu antibakteriyel aktivite özelliği gösterememiştir.

Ammor ve ark. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada kuru sosis üreten bir tesisten izole edilen *Lc. garvieae* E1L-74, E1L-75, E1L-76 ve E1L-86 suşlarının hiçbiri *E. coli* 54-8T indikatör patojen mikroorganizmaya karşı antibakteriyel aktivite gösterememiştir. Harris ve ark. (1989) tarafından yapılan bir çalışmada *Lc. lactis* ATCC 11454 ve *Lc. lactis* SIK83 suşları *L. monocytogenes* indikatör patojene karşı antibakteriyel aktivite gösterememiştir. Ertekin ve Çon (2014) tarafından yapılan çalışmada peynirden izole edilen *Lc. lactis* subsp. *lactis* O3 suşu *E. faecium* ve *L. monocytogenes* indikatör patojenlere karşı antibakteriyel aktivite gösterirken, *Lc. lactis* DSM20481 suşu *E. faecium* ve *L. monocytogenes* indikatör patojenlere karşı antibakteriyel aktivite göstermemiştir. Lo ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada bitki, meyve ve sebzelerden izole edilen 13 suşun 7 tanesi *L. monocytogenes* ATCC 7644 indikatör patojene karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Monteagudo ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada farklı süt örneklerinden izole edilen *Lc. lactis* ATCC 11454 ve *Lc. lactis* 660 suşlarından, *Lc. lactis* ATCC 11454 *S. aureus* 5192, *S. aureus* 59, *S. aureus* 361, *B. cereus* PI-1, *L. innocua* 125, *L. monocytogenes* 36 ve *P. fluorescens* 86 indikatör patojenlere karşı antibakteriyel aktivite gösterirken, *S. aureus* 5181, *S. aureus* 13, *P. fluorescens* 2826 ve *A. hydrophila* indikatör patojenlere karşı antibakteriyel aktivite gösterememiştir. *Lc. lactis* 660 suşu ise *S. aureus* 361, *B. cereus* PI-1, *L. innocua* 125, *L. monocytogenes* 36 ve *P. fluorescens* 86 indikatör patojenlere karşı antibakteriyel aktivite gösterirken, *S. aureus* 5192, *S. aureus* 59, *S. aureus* 5181, *S. aureus* 13, *P. fluorescens* 2826 ve *A. hydrophila* indikatör patojenlere karşı antibakteriyel aktivite gösterememiştir. Şahingil ve ark. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada bozadan izole edilen *Lc. lactis* subsp. *lactis* BZ suşu *E. coli* O157:H7 RSSK, *S. aureus* CAMP AU ve *S. aureus* RSKK indikatör patojenlere karşı antibakteriyel aktivite gösteremezken, *L. monocytogenes* AU ve *B. cereus* RSKK indikatör patojenlere karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir.

4.1.6. Diasetil üretimi

Yapılan çalışma sonucunda *Lc. lactis* subsp. CAU1157, *Lc. garvieae* CAU1397 ve *Lc. lactis* subsp. NM45 ve *Lc. garvieae* KE12 suşlarında zayıf gelişim gözlemlenmiştir. Diğer suşlarda gelişme görülmemiştir.

Çizelge 4.14. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş *Lactococcus* suşlarının diasetil üretimi

Bakteri Türü	Diasetil Üretimi
***Lactococcus garvieae* KE12**	+
***Lactococcus lactis* C13**	-
***Lactococcus lactis* subsp. T0625**	-
***Lactococcus lactis* RPWL3**	-
***Lactococcus lactis* subsp. SNNU0274**	-
***Lactococcus garvieae* CAU1397**	+
***Lactococcus lactis* subsp. NM45**	+
***Lactococcus lactis* FM19LAB**	-
***Lactococcus lactis* RCB1008**	-
***Lactococcus lactis* subsp. CAU1157**	+

-:gelişme yok, +:az gelişme, ++:normal gelişme

Kondrotiene ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada taze peynirden izole edilen 13 *Lc. lactis* suşunun hiç birinde diasetil üretimi gözlemlenmemiştir. De Almeida Júnior ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada keçi sütünden izole edilen LAB'nin diasetil üretiminde 50 suşun tamamının da zayıf bir gelişme gösterdiği bildirilmiştir. Özkalp ve Özçelik (2006) tarafından yapılan çalışmada *Lc. lactis* subsp. *lactis. biovar. diacetylactis* türünün 13 suşunda da diasetil üretimi görülmüştür. Çalışma sonucunda *Lactococcus* suşlarının diasetil üretimi literatür verileri ile örtüşmektedir.

4.1.7. H_2O_2 üretimi

Yapılan çalışma sonucunda *Lactococcus* suşlarının tamamının H_2O_2 ürettiği gözlemlenmiştir. *Lc. lactis* subsp. CAU1157 en az H_2O_2 üreten suş iken, *Lc. lactis* RPWL3 en çok H_2O_2 üreten suş olmuştur.

Çizelge 4.15. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş *Lactococcus* suşlarının 400 nm'de H_2O_2 absorbansı

Bakteri Türü	H_2O_2 (abs)
***Lactococcus garvieae* KE12**	1.466± 0.146
***Lactococcus lactis* C13**	1.323± 0.264
***Lactococcus lactis* subsp. T0625**	2.089± 0.389
***Lactococcus lactis* RPWL3**	2.362± 0.647
***Lactococcus lactis* subsp. SNNU0274**	2.349± 0.566
***Lactococcus garvieae* CAU1397**	2.300± 0.716
***Lactococcus lactis* subsp. NM45**	2.293± 0.418
***Lactococcus lactis* FM19LAB**	2.075± 0.226
***Lactococcus lactis* RCB1008**	2.042± 0.961
***Lactococcus lactis* subsp. CAU1157**	2.201± 0.824

Yüksekdağ ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada kefirden izole edilen 4 *Lc. lactis* suşundan 3 tanesinde H_2O_2 üretimi gözlemlenirken, 1 tanesinde H_2O_2 üretimi

gözlemlenmemiştir. Sabir ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada kefirden izole edilen *Lc. lactis* suşunda H_2O_2 üretimi gözlemlenmemiştir. Monteagudo ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada farklı süt örneklerinden izole edilen *Lc. lactis* ATCC 11454 ve *Lc. lactis* 660 suşlarında sırasıyla 6.79 µg/ml ve 6.40 µg/ml H_2O_2 üretimi gözlemlenmiştir. Paus ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada çiğ sütten izole edilen *Lc. garvieae* suşunda H_2O_2 üretimi gözlemlenmemiştir. Çalışma sonucunda *Lactococcus* suşlarının tamamının H_2O_2 üretmesi çalışmada kullanılan bakterilerin starter kültür olarak kullanılması açısından oldukça önemlidir.

4.1.8. EPS üretimi

Yapılan çalışma sonucunda *Lactococcus* suşlarının tamamında EPS üretimi gözlemlenirken, *Lc. lactis* subsp. T0625 suşu en çok EPS üreten, *Lc. garvieae* CAU1397 en az EPS üreten suş olmuştur.

Çizelge 4.16. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş *Lactococcus* suşlarının EPS üretimi

Bakteri Türü	EPS üretimi (mg/L)
***Lactococcus garvieae* KE12**	0.46± 0.16
***Lactococcus lactis* C13**	0.79± 0.13
***Lactococcus lactis* subsp. T0625**	0.93± 0.24
***Lactococcus lactis* RPWL3**	0.44± 0.06
***Lactococcus lactis* subsp. SNNU0274**	0.68± 0.09
***Lactococcus garvieae* CAU1397**	0.39± 0.11
***Lactococcus lactis* subsp. NM45**	0.40± 0.14
***Lactococcus lactis* FM19LAB**	0.55± 0.08
***Lactococcus lactis* RCB1008**	0.52± 0.14
***Lactococcus lactis* subsp. CAU1157**	0.51± 0.21

Van der Meulen ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada süt ve tahıl ürünlerinden izole edilen 40 *Lc. lactis* ve 1 *Lc. garvieae* suşunun tamamında EPS üretimi görülmüştür. Adebayo-tayo ve Onilude'nin (2008) yaptıkları çalışmada Waradan izole edilen *Lc. garvieae* en zayıf EPS üretim aktivitesi gösteren suşlardan olmuştur. *Lc. garvieae* OGWI 1.5 mg/l üretirken *Lc. garvieae* OGFNI suşunda EPS üretim aktivitesi görülmemiştir. Allam ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada *Lc. lactis* subsp. *lactis* KM721 suşunda EPS üretim aktivitesi görülmemiştir. Madiedo ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada *Lc. lactis* subsp. *cremoris* B35 ve *Lc. lactis* subsp. *cremoris* B891 suşlarında EPS üretimi görülmüştür. Abushelaibi ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada deve sütünden izole edilen *Lc. lactis* KX881768 ve *Lc. lactis* KX881782 suşlarında EPS

üretimi görülmüştür. Sabir ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada kefirden izole edilen *Lc. lactis* Z3S suşunda 205 mg/l EPS üretimi görülmüştür. Literatür verilerinin bir kısmı *Lactococcus* suşlarının EPS üretmediğini gösterirken bir kısmı ise *Lactococcus* suşlarının EPS ürettiğini göstermektedir ve çalışma sonucunda 10 *Lactococcus* suşunun tamamının EPS üretme yeteneği açısından starter kültür olarak kullanılabileceği söylenebilmektedir.

4.2. Teknolojik Özelliklerin Değerlendirilmesi

4.2.1. Farklı sıcaklıklarda gelişme

Yapılan çalışmada 4 °C'de hiçbir *Lactococcus* suşu gelişme göstermezken, 15 °C'de tüm *Lactococcus* suşları gelişme göstermiştir. 45 °C'de ise *Lc. lactis* FM19LAB suşu oldukça fazla gelişme göstermiş ve *Lc. lactis* C13, *Lc. garvieae* CAU1397 ve *Lc. lactis* RCB1008' de normal gelişim gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.17. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş *Lactococcus* suşlarının 4, 15 ve 45 °C'de gelişimi

Bakteri Türü	**Sıcaklık**		
	4 °C	**15 °C**	**45 °C**
***Lc. garvieae* KE12**	-	+	-
***Lc. lactis* C13**	-	+	+
***Lc. lactis* subsp. T0625**	-	+	-
***Lc. lactis* RPWL3**	-	+	-
***Lc. lactis* subsp. SNNU0274**	-	+	-
***Lc. garvieae* CAU1397**	-	+	+
***Lc. lactis* subsp. NM45**	-	+	-
***Lc. lactis* FM19LAB**	-	+	++
***Lc. lactis* RCB1008**	-	+	+
***Lc. lactis* subsp. CAU1157**	-	+	-

-:gelişme yok, +:normal gelişme, ++:yüksek gelişme

Ertürkmen ve Öner (2015) yaptıkları çalışmada 7 farklı beyaz peynirden izole edilen 23 adet *Lc. lactis* suşunun 15 °C'de %100 ve 45 °C'de %47'sinin gelişme gösterdiği gözlemlenmiştir. Uhlman ve ark. (1992) yaptıkları çalışmada sebzelerden izole edilen *Lc. lactis* suşlarında 4 °C ve 45 °C'de gelişme gözlemlenmemiştir. Cogan ve ark. (1997) yaptıkları çalışmada *Lactococcus* suşlarının 45 °C'de gelişme gösteremediği gözlemlenmiştir. Teixeira ve ark. (1996) yaptıkları çalışmada *Lc. garvieae* suşlarının 45°C'de zayıf bir gelişme gösterdiği gözlemlenmiştir. Nomura ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada süt ve bitkilerden izole edilen 23 *Lc. lactis* suşundan

hiçbiri 45 °C'de gelişme göstermemiştir. Nguyen ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada vahşi deniz balıklarının bağırsağından izole edilen *Lc. lactis* WFLU12 suşunun 10 °C'de geliştiği ve 45 °C'de gelişme göstermediği gözlemlenmiştir. Ertekin ve Çon (2014) yaptıkları çalışmada peynirden izole edilen *Lc. lactis* subsp. *lactis* O3 suşunun 10 °C'de gelişemediği, 15 °C ve 45 °C'de geliştiği, *Lc. lactis* DSM20481 suşunun 10 °C ve 45 °C'de gelişemediği, 15 °C'de geliştiği gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen veriler literatür verileri ile benzerlik göstermektedir.

4.2.2. Alkole dayanıklılık

Yapılan çalışma sonucunda *Lc. lactis* subsp. CAU1157 suşu %12 ve %15 alkol içeren besiyerinde, *Lc. garvieae* KE12 ve *Lc. lactis* subsp. AT0625 suşları %15 alkol içeren besiyerinde gelişmemiştir. Diğer tüm *Lactococcus* suşları tüm alkol konsantrasyonlarında gelişme göstermiştir.

Çizelge 4.18. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş *Lactococcus* suşlarının % 3, 6, 12 ve 15 (v/v) alkol konsatrasyonlarındaki gelişimi

Bakteri Türü	Alkol Oranı (v/v)			
	%3.0	%6.0	%12.0	%15.0
***Lc. garvieae* KE12**	+	+	+	-
***Lc. lactis* C13**	++	++	+	+
***Lc. lactis* subsp. T0625**	++	++	++	-
***Lc. lactis* RPWL3**	++	++	++	++
***Lc. lactis* subsp. SNNU0274**	+++	+	+	+
***Lc. garvieae* CAU1397**	++	+	+	+
***Lc. lactis* subsp. NM45**	+++	+++	+++	+++
***Lc. lactis* FM19LAB**	++	+	+	+
***Lc. lactis* RCB1008**	+	+	+	+
***Lc. lactis* subsp. CAU1157**	+	+	-	-

-:gelişme yok, +:normal gelişme, ++:yüksek gelişme, +++:oldukça yüksek gelişme

Ertekin ve Çon (2014) yaptıkları çalışmada peynirden izole edilen *Lc. lactis* subsp. *lactis* O3 ve *Lc. lactis* DSM20481 suşlarının %10 alkol oranında gelişme gösterdiğini bildirmiştir. Gonzalez ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada *Lc. lactis* R-604 suşu %10 alkol oranında gelişme göstermiştir. Diez ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada *Lc. lactis* NZ9700, *Lc. lactis* MG1363, *Lc. lactis* MGΔargR ve *Lc. lactis* MGΔahrC suşları % 2,4,6 ve 10 alkol konsatrasyonlarında gelişme göstermiştir. Ertekin (2007) tarafından yapılan bir çalışmada *Lc. lactis* subsp. *lactis* O3 suşu ve *Lc. lactis* 7 suşu %10 ve %12 alkol konsantrasyonunda gelişme gösterirken, %15 alkol

konsatrasyonunda gelişme göstermemiştir. Literatür verileri çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

4.2.3. NaCl'ye dayanıklılık

Yapılan çalışmada 7 günlük inkübasyon süresi sonunda *Lactococcus* suşlarının tamamı tüm NaCl konsantrasyonlarında gelişme göstermiştir. *Lc. lactis* C13 ve *Lc. lactis* subsp. T0625 farklı tuz konsantrasyonlarına en dirençli suşlar olurken, *Lc. garvieae* KE12 suşu en az direnç gösteren suş olmuştur.

Çizelge 4.19. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş *Lactococcus* suşlarının % 0, 4, 6.5 ve 10'luk NaCl konsatrasyonlarındaki gelişimi

Bakteri Türü	**NaCl Oranı**			
	%0	**%4.0**	**%6.5**	**%10.0**
***Lc. garvieae* KE12**	+	+	+	+
***Lc. lactis* C13**	++	++	++	+++
***Lc. lactis* subsp. T0625**	++	+++	+++	+++
***Lc. lactis* RPWL3**	++	++	++	++
***Lc. lactis* subsp. SNNU0274**	++	++	++	++
***Lc. garvieae* CAU1397**	++	++	++	++
***Lc. lactis* subsp. NM45**	++	++	++	++
***Lc. lactis* FM19LAB**	++	++	++	++
***Lc. lactis* RCB1008**	++	++	++	++
***Lc. lactis* subsp. CAU1157**	++	++	++	++

+:normal gelişme, ++:yüksek gelişme, +++:oldukça yüksek gelişme

Ayad ve ark. (1999) yaptıkları çalışmada 23 adet *Lc. lactis* suşunun tamamının %4'lük NaCl konsantrasyonunda geliştiği gözlemlenmiştir. Ertürkmen ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada 7 farklı beyaz peynirden izole edilen 23 adet *Lc. lactis* suşunun %4 NaCl konsantrasyonunda 19 tanesinin gelişme gösterdiği sadece 4 suşun gelişme göstermediği, %6.5 NaCl konsantrasyonunda 11 suşun gelişme gösterdiği 12 suşun gelişme göstermediği gözlemlenmiştir. Ertekin ve Çon (2014) yaptıkları çalışmada peynirden izole edilen *Lc. lactis* subsp. *lactis* O3 suşu %6.5'luk NaCl konsatrasyonunda gelişme gösterirken, %8 ve %9'luk NaCl konsatrasyonlarında gelişme göstermemiştir ve *Lc. lactis* DSM20481 suşu %6.5. %8 ve %9'luk NaCl konsatrasyonlarının tamamında gelişme göstermiştir. Kondrotiene ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada taze peynirden izole edilen 13 *Lc. lactis* suşunun %4'lük NaCl konsantrasyonunda tamamının geliştiği, %6.5 NaCl konsantrasyonunda 9 tanesinde iyi gelişim, 4 tanesinde zayıf gelişim gözlemlenmiştir. Nguyen ve ark. (2017) yaptıkları

çalışmada yabani balıkların bağırsak mukuslarından izole edilen *Lc. lactis* WFLU12 suşu %4'lük NaCl konsantrasyonunda gelişme gösterirken, %6.5 ve %9'luk NaCl konsatrasyonlarında gelişme gözlemlenmemiştir. Gonzalez ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada *Lc. lactis* R-604 suşu %1, 3, 5 ve 7' lik NaCl konsantrasyonlarında gelişim göstermiştir. Elde edilen sonuçlara göre çalışmada kullanılan *Lactococcus* suşları farklı tuz konsantrasyonlarına karşı gösterdiği direnç literatür verilerinden daha olumludur.

4.2.4. H_2O_2'ye dayanıklılık

Yapılan çalışma sonucunda 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda tüm bakteri suşları tüm H_2O_2 konsantrasyonlarında gelişim göstermiştir. H_2O_2 konsatrasyonu arttıkça canlı mikroorganizma sayısında azalma gözlemlenmiştir. *Lc. lactis* subsp. NM45, *Lc. garvieae* CAU1397 ve *Lc. lactis* RPWL3 suşları hidrojen perokside karşı en dirençli suşlar iken, *Lc. garvieae* KE12, *Lc. lactis C13* ve *Lc. lactis* subsp. T0625 suşları en hassas olanlardır.

Çizelge 4.20. Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş *Lactococcus* suşlarının 0.4, 0.7 ve 1mM'lIk H_2O_2 konsatrasyonlarında 600 nm' deki absorbansı

Bakteri Türü	**H_2O_2 (abs)**		
	0.4 mM	**0.7 mM**	**1 mM**
***Lc. garvieae* KE12**	0.454± 0.124	0.189± 0.066	0.147± 0.036
***Lc. lactis* C13**	0.397± 0.046	0.244± 0.121	0.121± 0.081
***Lc. lactis* subsp. T0625**	0.452± 0.103	0.191± 0.112	0.115± 0.063
***Lc. lactis* RPWL3**	1.840± 0.419	1.463± 0.356	1.060± 0.243
***Lc. lactis* subsp. SNNU0274**	1.383± 0.347	1.114± 0.249	0.936± 0.129
***Lc. garvieae* CAU1397**	1.584± 0.228	1.336± 0.168	1.092± 0.183
***Lc. lactis* subsp. NM45**	1.816± 0.469	1.442± 0.171	1.003± 0.321
***Lc. lactis* FM19LAB**	1.665± 0.336	1.320± 0.286	1.177± 0.168
***Lc. lactis* RCB1008**	0.961± 0.177	0.711± 0.092	0.329± 0.119
***Lc. lactis* subsp. CAU1157**	0.896± 0.539	0.689± 0.187	0.531± 0.089

Ertekin ve Çon (2014) yaptıkları çalışmada peynirden izole edilen *Lc. lactis* subsp. *lactis* O3 suşu 2000, 10000 ve 20000 ppm H_2O_2 varlığında gelişme göstermezken, *Lc. lactis* DSM20481 suşu tüm konsatrasyonlarda gelişme göstermiştir. Ertekin (2007) tarafından yapılan çalışmada *Lc. lactis* subsp. *lactis* O3 suşu 2000, 10000 ve 20000 ppm H_2O_2 varlığında gelişme göstermezken, *Lc. Lactis* 7 suşu tüm konsatrasyonlarda gelişme göstermiştir. Elde edilen sonuçlara göre çalışmada kullanılan *Lactococcus* suşları farklı H_2O_2'e karşı gösterdiği direnç literatür verilerinden daha olumludur.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Çalışmada çeşitli tulum peynirlerinden izole edilen *Lactococcus* türünden toplam 10 adet suşun probiyotik ve teknolojik özellikleri belirlenmiştir. Bu kapsamda safra tuzuna dayanıklılık, mide özsuyuna ve pankreas özsuyuna dayanıklılık, asit toleransı, otoagregasyon, antibakteriyal aktivite, diasetil üretimi, H_2O_2 üretimi, EPS üretimi, farklı sıcaklıklarda gelişme, alkole dayanıklılık, NaCl'ye dayanıklılık ve H_2O_2'ye dayanıklılık olmak üzere toplam 12 adet analiz gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen izolatların probiyotik özelliklerinin tespiti için safra tuzuna, mide özsuyuna ve pankreas özsuyuna dayanıklılık, asit toleransı, otoagregasyon, antibakteriyal aktivite, diasetil, H_2O_2 ve EPS üretimi değerlerini içeren probiyotik özelliklerinin tümünün dikkate alındığı değerlendirme sonucunda *Lc. garvieae CAU1397* ve *Lc. lactis* FM19LAB suşlarının iyi özelliklere sahip olduğu ortaya konulmuştur.

Elde edilen izolatların teknolojik özelliklerinin tespiti için farklı sıcaklıklarda gelişme, alkole dayanıklılık, NaCl'ye dayanıklılık ve H_2O_2'ye dayanıklılık analizleri uygulanmıştır.

Mikroorganizmaların gelişme sıcaklıkları gıdaların üretimi, depolanması ve muhafazası açısından büyük önem taşımaktadır. Farklı sıcaklıklarda gelişme analizi sonucunda beklenildiği üzere en iyi büyüme sıcaklıkları olan 10 °C'de tüm *Lactococcus* suşları gelişme göstermiştir. 45 °C'de ise *Lc. lactis* FM19LAB suşu oldukça fazla gelişme göstermiş ve *Lc. lactis* C13, *Lc. garvieae* CAU1397 ve *Lc. lactis* RCB1008' de normal gelişim gözlemlenmesi bu suşların yüksek sıcaklık koşullarında da canlılıklarını sürdürebildiğini göstermektedir.

Mikroorganizmaların gelişmesinde etanolün varlığı genellikle olumsuz etki ortaya koymaktadır. Alkole dayanıklılık analizi sonucunda *Lc. lactis* subsp. CAU1157 suşu %12 ve %15 alkol içeren besiyerinde, *Lc. garvieae* KE12 ve *Lc. lactis* subsp. AT0625 suşları %15 alkol içeren besiyerinde gelişemezken, diğer tüm *Lactococcus* suşları tüm alkol konsantrasyonlarında gelişme göstermiştir. Buda sonuç olarak çalışmada kullanılan *Lactococcus* suşlarının yüksek alkol konsantrasyonlarına karşı dayanıklı olduğunu göstermektedir.

Asidik fermente gıdaların üretiminde mikroorganizmaların yüksek tuz konsantrasyonlarına karşı dayanıklılığı oldukça önemlidir. NaCl'ye dayanıklılık analizinde 7 günlük inkübasyon süresi sonunda çalışmada kullanılan tüm *Lactococcus* suşlarının farklı NaCl konsantrasyonlarına dayanıklı olduğu tespit edilmiştir.

Hidrojen peroksidin mikroorganizmaları inhibe edici etkisi olduğundan, starter kültür seçiminde bu bileşiğe dayanıklılık oldukça önemlidir. H_2O_2'ye dayanıklılık analizi sonucunda tüm *Lactococcus* suşları tüm H_2O_2 konsantrasyonlarında gelişim göstermiştir.

5.2 Öneriler

Geleneksel gıdaların araştırılması ve tanımlanması ekonomik gelişime katkı sağlamaktadır. Halen gıda sanayiinde kullanılan laktik kültürlerin hemen hemen tamamının yurt dışından ithal ediliyor olması, kendi geleneksel ürünlerimizden izole edilen laktik asit bakterilerinin de çoğunlukla atıl vaziyette kalması, teknolojik ve fonksiyonel özelliklerinin saptanıp gıda endüstrisinin kullanımına sunulamaması gözlemlenen bir eksikliktir. Bu eksikliğin giderilebilmesi için ülkemiz geleneksel gıdalarından elde edilen starter kültürlerin endüstriyel boyutta üretimini sağlayacak ve ülkemizin rekabet gücünü artıracak projeler geliştirilerek bu sorun ortadan kaldırılabilinir.

KAYNAKLAR

Abe, K. ve Uchida, K., 1989, Correlation between depression of catabolite control of xylose metabolism and a defect in the phosphoenolpyruvate: mannose phosphotransferase system in Pediococcus halophilus, *Journal of Bacteriology*, 171 (4), 1793-1800.

Abushelaibi, A., Al-Mahadin, S., El-Tarabily, K., Shah, N. P. ve Ayyash, M., 2017, Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from camel milk, *LWT-Food Science and Technology*, 79, 316-325.

Ackermann, H.-W., 2007, 5500 Phages examined in the electron microscope, *Archives of Virology*, 152 (2), 227-243.

Adams, M., 1999, Safety of industrial lactic acid bacteria, *Journal of Biotechnology*, 68 (2-3), 171-178.

Adebayo-tayo, B. C. ve Onilude, A. A., 2008, Screening of lactic acid bacteria strains isolated from some Nigerian fermented foods for EPS production, *World Applied Sciences Journal*, 4 (5), 741-747.

Aguirre, M. ve Collins, M., 1993, Lactic acid bacteria and human clinical infection, *Journal of Applied Microbiology*, 75 (2), 95-107.

Alander, M., Korpela, R., Saxelin, M., Vilpponen-Salmela, T., Mattila-Sandholm, T. ve Von Wright, A., 1997, Recovery of Lactobacillus rhamnosus GG from human colonic biopsies, *Letters in Applied Microbiology*, 24 (5), 361-364.

Alander, M., Satokari, R., Korpela, R., Saxelin, M., Vilpponen-Salmela, T., Mattila-Sandholm, T. ve von Wright, A., 1999, Persistence of colonization of human colonic mucosa by a probiotic strain, Lactobacillus rhamnosusGG, after oral consumption, *Applied and Environmental Microbiology*, 65 (1), 351-354.

Allam, M. G., Darwish, A. M., Ayad, E. H., Shokery, E. S. ve Darwish, S. M., 2017, Lactococcus species for conventional Karish cheese conservation, *LWT-Food Science and Technology*, 79, 625-631.

Almeida, K. E., Tamime, A. ve Oliveira, M., 2009, Influence of total solids contents of milk whey on the acidifying profile and viability of various lactic acid bacteria, *LWT-Food Science and Technology*, 42 (2), 672-678.

Ammor, M. S. ve Mayo, B., 2007, Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update, *Meat Science*, 76 (1), 138-146.

Ammor, S., Tauveron, G., Dufour, E. ve Chevallier, I., 2006, Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility: 1—Screening and characterization of the antibacterial compounds, *Food Control*, 17 (6), 454-461.

Angmo, K., Kumari, A. ve 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.

Anonymus, 2001, Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria, *Prevention*, 5 (1), 1-34.

Ayad, E. H., Verheul, A., de Jong, C., Wouters, J. T. ve Smit, G., 1999, Flavour forming abilities and amino acid requirements of Lactococcus lactis strains isolated from artisanal and non-dairy origin, *International Dairy Journal*, 9 (10), 725-735.

Bautista-Gallego, J., Arroyo-López, F. N., Rantsiou, K., Jiménez-Díaz, R., Garrido-Fernández, A. ve Cocolin, L., 2013, Screening of lactic acid bacteria isolated from fermented table olives with probiotic potential, *Food Research International*, 50 (1), 135-142.

Bedani, R., Rossi, E. A. ve Saad, S. M. I., 2013, Impact of inulin and okara on Lactobacillus acidophilus La-5 and Bifidobacterium animalis Bb-12 viability in a fermented soy product and probiotic survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions, *Food Microbiology*, 34 (2), 382-389.

Bernet, M.-F., Brassart, D., Neeser, J.-R. ve Servin, A. L., 1993, Adhesion of human bifidobacterial strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen-cell interactions, *Applied and Environmental Microbiology*, 59 (12), 4121-4128.

Bernet, M.-F., Brassart, D., Neeser, J.-R. ve Servin, A., 1994, Lactobacillus acidophilus LA 1 binds to cultured human intestinal cell lines and inhibits cell attachment and cell invasion by enterovirulent bacteria, *Gut*, 35 (4), 483-489.

Betoret, E., Betoret, N., Arilla, A., Bennár, M., Barrera, C., Codoñer, P. ve Fito, P., 2012, No invasive methodology to produce a probiotic low humid apple snack with potential effect against Helicobacter pylori, *Journal of Food Engineering*, 110 (2), 289-293.

Bissonnette, F., Labrie, S., Deveau, H., Lamoureux, M. ve Moineau, S., 2000, Characterization of mesophilic mixed starter cultures used for the manufacture of aged cheddar cheese, *Journal of Dairy Science*, 83 (4), 620-627.

Blaiotta, G., Di Capua, M., Coppola, R. ve Aponte, M., 2012, Production of fermented chestnut purees by lactic acid bacteria, *International Journal of Food Microbiology*, 158 (3), 195-202.

Boris, S., Suarez, J. ve Barbes, C., 1997, Characterization of the aggregation promoting factor from Lactobacillus gasseri, avaginal isolate, *Journal of Applied Microbiology*, 83 (4), 413-420.

Caballero, B., Trugo, L. ve Finglas, P., 2003, Encyclopedia of food sciences and nutrition: Volumes 1-10, Ed. 2, Elsevier Science BV, p.

Cai, H., Thompson, R., Budinich, M. F., Broadbent, J. R. ve Steele, J. L., 2009, Genome sequence and comparative genome analysis of Lactobacillus casei: insights into their niche-associated evolution, *Genome Biology and Evolution*, 1, 239-257.

Cai, Y., Yang, J., Pang, H. ve Kitahara, M., 2011, Lactococcus fujiensis sp. nov., a lactic acid bacterium isolated from vegetable matter, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61 (7), 1590-1594.

Carminati, D., Giraffa, G., Quiberoni, A., Binetti, A., Suárez, V. ve Reinheimer, J., 2010, Advances and trends in starter cultures for dairy fermentations, *Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel Applications*, 177.

Carr, F. J., Chill, D. ve Maida, N., 2002, The lactic acid bacteria: a literature survey, *Critical Reviews in Microbiology*, 28 (4), 281-370.

Castro, W., Cruz, A., Rodrigues, D., Ghiselli, G., Oliveira, C., Faria, J. ve Godoy, H., 2013, Effects of different whey concentrations on physicochemical characteristics and viable counts of starter bacteria in dairy beverage supplemented with probiotics, *Journal of Dairy Science*, 96 (1), 96-100.

Cerning, J., 1995, Production of exopolysaccharides by lactic acid bacteria and dairy propionibacteria, *Le Lait*, 75 (4-5), 463-472.

Champagne, C. P., Gardner, N. J. ve Roy, D., 2005, Challenges in the addition of probiotic cultures to foods, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45 (1), 61-84.

Charteris, W., Kelly, P., Morelli, L. ve Collins, J., 1998, Development and application of an in vitro methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium species in the upper human gastrointestinal tract, *Journal of Applied Microbiology*, 84 (5), 759-768.

Chauviere, G., Coconnier, M.-H., Kerneis, S., Fourniat, J. ve Servin, A. L., 1992, Adhesion of human Lactobacillus acidophilus strain LB to human enterocyte-like Caco-2 cells, *Microbiology*, 138 (8), 1689-1696.

Chen, Y.-s., Chang, C.-h., Pan, S.-f., Wang, L.-t., Chang, Y.-c., Wu, H.-c. ve Yanagida, F., 2013, Lactococcus taiwanensis sp. nov., a lactic acid bacterium isolated from fresh cummingcordia, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63 (7), 2405-2409.

Chich, J.-F., Marchesseau, K. ve Gripon, J.-C., 1997, Intracellular esterase from Lactococcus lactis subsp. lactis NCDO 763: purification and characterization, *International Dairy Journal*, 7 (2-3), 169-174.

Cho, S.-L., Nam, S.-W., Yoon, J.-H., Lee, J.-S., Sukhoom, A. ve Kim, W., 2008, Lactococcus chungangensis sp. nov., a lactic acid bacterium isolated from activated sludge foam, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58 (8), 1844-1849.

Chow, J., 2002, Probiotics and prebiotics: a brief overview, *Journal of Renal Nutrition*, 12 (2), 76-86.

Cizeikiene, D., Juodeikiene, G., Paskevicius, A. ve Bartkiene, E., 2013, Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against pathogenic and spoilage microorganism isolated from food and their control in wheat bread, *Food Control*, 31 (2), 539-545.

Claesson, M. J., van Sinderen, D. ve O'Toole, P. W., 2008, Lactobacillus phylogenomics–towards a reclassification of the genus, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58 (12), 2945-2954.

Cleary, P. ve Cheng, Q., 2006, Medically important beta-hemolytic streptococci, In: The Prokaryotes, Eds: Springer, p. 108-148.

Coconnier, M.-H., Bernet, M.-F., Kernéis, S., Chauvière, G., Fourniat, J. ve Servin, A. L., 1993a, Inhibition of adhesion of enteroinvasive pathogens to human intestinal Caco-2 cells by Lactobacillus acidophilus strain LB decreases bacterial invasion, *FEMS Microbiology Letters*, 110 (3), 299-305.

Coconnier, M. H., Bernet, M. F., Chauvière, G. ve Servin, A. L., 1993b, Adhering heat-killed human Lactobacillus acidophilus, strain LB, inhibits the process of pathogenicity of diarrhoeagenic bacteria in cultured human intestinal cells, *Journal of Diarrhoeal Diseases Research*, 235-242.

Cogan, T., 1995, Flavour production by dairy starter cultures, *Symposium Series-Society for Applied Bacteriology (United Kingdom)*.

Cogan, T. M., Barbosa, M., Beuvier, E., Bianchi-Salvadori, B., Cocconcelli, P. S., Fernandes, I., Gomez, J., Gomez, R., Kalantzopoulos, G. ve Ledda, A., 1997, Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products, *Journal of Dairy Research*, 64 (3), 409-421.

Collins, M., Farrow, J., Phillips, B. ve Kandler, O., 1983, Streptococcus garvieae sp. nov. and Streptococcus plantarum sp. nov, *Microbiology*, 129 (11), 3427-3431.

Collins, M., Farrow, J., Phillips, B., Ferusu, S. ve Jones, D., 1987, Classification of Lactobacillus divergens, Lactobacillus piscicola, and some catalase-negative, asporogenous, rod-shaped bacteria from poultry in a new genus, Carnobacterium, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 37 (4), 310-316.

Collins, M., Ash, C., Farrow, J., Wallbanks, S. ve Williams, A., 1989, 16S ribosomal ribonucleic acid sequence analyses of lactococci and related taxa. Description of Vagococcus fluvialis gen. nov., sp. nov, *Journal of Applied Microbiology*, 67 (4), 453-460.

Collins, M., Rodrigues, U., Ash, C., Aguirre, M., Farrow, J., Martinez-Murcia, A., Phillips, B., Williams, A. ve Wallbanks, S., 1991, Phylogenetic analysis of the genus Lactobacillus and related lactic acid bacteria as determined by reverse transcriptase sequencing of 16S rRNA, *FEMS Microbiology Letters*, 77 (1), 5-12.

Collins, M., Samelis, J., Metaxopoulos, J. ve Wallbanks, S., 1993, Taxonomic studies on some Leuconostoc-like organisms from fermented sausages: description of a

new genus Weissella for the Leuconostoc paramesenteroides group of species, *Journal of Applied Microbiology*, 75 (6), 595-603.

Conway, P., Gorbach, S. ve Goldin, B., 1987, Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells, *Journal of Dairy Science*, 70 (1), 1-12.

Corcoran, B. M., Stanton, C., Fitzgerald, G. F. ve Ross, R. P., 2007, Growth of probiotic lactobacilli in the presence of oleic acid enhances subsequent survival in gastric juice, *Microbiology*, 153 (Pt 1), 291-299.

Corr, S. C., Gahan, C. G. ve Hill, C., 2007, Impact of selected Lactobacillus and Bifidobacterium species on Listeria monocytogenes infection and the mucosal immune response, *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 50 (3), 380-388.

Crow, V. L., Holland, R., Pritchard, G. G. ve Coolbear, T., 1994, The diversity of potential cheese ripening characteristics of lactic acid starter bacteria: 2. The levels and subcellular distributions of peptidase and esterase activities, *International Dairy Journal*, 4 (8), 723-742.

Cruz, A. G., Antunes, A. E., Sousa, A. L. O., Faria, J. A. ve Saad, S. M., 2009, Ice-cream as a probiotic food carrier, *Food Research International*, 42 (9), 1233-1239.

Da Cruz, A. G., Buriti, F. C. A., de Souza, C. H. B., Faria, J. A. F. ve Saad, S. M. I., 2009, Probiotic cheese: health benefits, technological and stability aspects, *Trends in Food Science & Technology*, 20 (8), 344-354.

Daeschel, M., Andersson, R. E. ve Fleming, H., 1987, Microbial ecology of fermenting plant materials, *FEMS Microbiology Letters*, 46 (3), 357-367.

Dalié, D., Deschamps, A. ve Richard-Forget, F., 2010, Lactic acid bacteria–Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review, *Food Control*, 21 (4), 370-380.

Dave, R. ve Shah, N., 1998, Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt, *Journal of Dairy Science*, 81 (11), 2804-2816.

De Almeida Júnior, W. L. G., da Silva Ferrari, Í., de Souza, J. V., da Silva, C. D. A., da Costa, M. M. ve Dias, F. S., 2015, Characterization and evaluation of lactic acid bacteria isolated from goat milk, *Food Control*, 53, 96-103.

De Azeredo, G. A., Stamford, T. L. M., Nunes, P. C., Neto, N. J. G., De Oliveira, M. E. G. ve De Souza, E. L., 2011, Combined application of essential oils from Origanum vulgare L. and Rosmarinus officinalis L. to inhibit bacteria and autochthonous microflora associated with minimally processed vegetables, *Food Research International*, 44 (5), 1541-1548.

De Bruyn, I. N., Holzapfel, W. H., Visser, L. ve Louw, A. I., 1988, Glucose metabolism by Lactobacillus divergens, *Microbiology*, 134 (8), 2103-2109.

De Souza Oliveira, R. P., Perego, P., de Oliveira, M. N. ve Converti, A., 2011, Effect of inulin as prebiotic and synbiotic interactions between probiotics to improve fermented milk firmness, *Journal of Food Engineering*, 107 (1), 36-40.

De Vos, W. M. ve Vaughan, E. E., 1994, Genetics of lactose utilization in lactic acid bacteria, *FEMS Microbiology Reviews*, 15 (2-3), 217-237.

De Vuyst, L. ve Degeest, B., 1999, Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria, *FEMS Microbiology Reviews*, 23 (2), 153-177.

Del Re, B., Sgorbati, B., Miglioli, M. ve Palenzona, D., 2000, Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of Bifidobacterium longum, *Letters in Applied Microbiology*, 31 (6), 438-442.

Delbes-Paus, C., Dorchies, G., Chaabna, Z., Callon, C. ve Montel, M.-C., 2010, Contribution of hydrogen peroxide to the inhibition of Staphylococcus aureus by Lactococcus garvieae in interaction with raw milk microbial community, *Food Microbiology*, 27 (7), 924-932.

Dicks, L., Dellaglio, F. ve Collins, M., 1995, Proposal To Reclassify Leuconostoc oenos as Oenococcus oeni [corrig.] gen. nov., comb. nov, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 45 (2), 395-397.

Díez, L., Solopova, A., Fernández-Pérez, R., González, M., Tenorio, C., Kuipers, O. P. ve Ruiz-Larrea, F., 2017, Transcriptome analysis shows activation of the arginine deiminase pathway in Lactococcus lactis as a response to ethanol stress, *International Journal of Food Microbiology*, 257, 41-48.

Ding, W., Wang, L., Zhang, J., Ke, W., Zhou, J., Zhu, J., Guo, X. ve Long, R., 2017, Characterization of antioxidant properties of lactic acid bacteria isolated from spontaneously fermented yak milk in the Tibetan Plateau, *Journal of Functional Foods*, 35, 481-488.

Doelle, H. ve Manderson, G., 1969, Preparation of extracts of culture liquids for gas-chromatographic determination of acidic fermentation products, *Antonie van Leeuwenhoek*, 35 (1), 467-478.

Donkor, O., Henriksson, A., Vasiljevic, T. ve Shah, N. P., 2005, Probiotic Strains as Starter Cultures Improve Angiotensin-converting Enzyme Inhibitory Activity in Soy Yogurt, *Journal of Food Science*, 70 (8).

Donnet-Hughes, A., Rochat, F., Serrant, P., Aeschlimann, J. ve Schiffrin, E., 1999, Modulation of nonspecific mechanisms of defense by lactic acid bacteria: effective dose, *Journal of Dairy Science*, 82 (5), 863-869.

Donohue, D. ve Salminen, S., 1996, Safety of probiotic bacteria, *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 5, 25-28.

Elizaquível, P., Sánchez, G., Salvador, A., Fiszman, S., Dueñas, M., López, P., De Palencia, P. F. ve Aznar, R., 2011, Evaluation of yogurt and various beverages as carriers of lactic acid bacteria producing 2-branched (1, 3)-β-D-glucan, *Journal of Dairy Science*, 94 (7), 3271-3278.

Erkkilä, S. ve Petäjä, E., 2000, Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use, *Meat Science*, 55 (3), 297-300.

Ertekin, Ö., 2007, Farklı gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin nümerik taksonomisi, *Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Ertekin, Ö. ve Çon, A. H., 2014, Farklı Gıdalardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Endüstriyel ve Probiyotik Özellikleri, *Academic Food Journal/Akademik GIDA*, 12 (4).

Ertürkmen, P. ve Zübeyde, Ö., 2015, Beyaz Peynir Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Başlatıcı (Starter) Kültür Özelliklerinin Biyokimyasal Yöntemlerle Belirlenmesi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 19 (3).

Euzéby, J. P., 1997, List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: a folder available on the Internet, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47 (2), 590-592.

Farrow, J. ve Collins, M., 1984, DNA base composition, DNA-DNA homology and long-chain fatty acid studies on Streptococcus thermophilus and Streptococcus salivarius, *Microbiology*, 130 (2), 357-362.

Federal, R., 1988, Nisin preparation affirmation of GRAS status as a direct human ingredient, *Food Registration*, 54, 11247-11251.

Fox, P., Lucey, J. ve Cogan, T., 1990, Glycolysis and related reactions during cheese manufacture and ripening, *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 29 (4), 237-253.

Franz, C. M. A. P., Holzapfel, W. H. ve Stiles, M. E., 1999, Enterococci at the crossroads of food safety?, *International Journal of Food Microbiology*, 47 (1), 1-24.

Freter, R., 1992, Factors affecting the microecology of the gut, In: Probiotics, Eds: Springer, p. 111-144.

Fukushima, Y., Kawata, Y., Hara, H., Terada, A. ve Mitsuoka, T., 1998, Effect of a probiotic formula on intestinal immunoglobulin A production in healthy children, *International Journal of Food Microbiology*, 42 (1-2), 39-44.

Fuller, R., 1989, Probiotics m man and animals A review, *J Appl Bactenol*, 66.

Fuller, R., 1992, History and development of probiotics, In: Probiotics, Eds: Springer, p. 1-8.

G-Alegría, E., López, I., Ruiz, J. I., Sáenz, J., Fernández, E., Zarazaga, M., Dizy, M., Torres, C. ve 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.

Gangadharan, D. ve Nampoothiri, K. M., 2011, Folate production using Lactococcus lactis ssp cremoris with implications for fortification of skim milk and fruit juices, *LWT-Food Science and Technology*, 44 (9), 1859-1864.

García-Quintáns, N., Magni, C., de Mendoza, D. ve López, P., 1998, The citrate transport system of Lactococcus lactis subsp. lactis biovar diacetylactis is induced by acid stress, *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (3), 850-857.

Garvie, E., 1986, Genus Pediococcus Claussen 1903, 68, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*.

Garvie, E. I., 1978, Streptococcus raffinolactis Orla-Jensen and Hansen, a group N streptococcus found in raw milk, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 28 (2), 190-193.

Garvie, E. I. ve Farrow, J. A., 1982, Streptococcus lactis subsp. cremoris (Orla-Jensen) comb. nov. and Streptococcus lactis subsp. diacetilactis (Matuszewski et al.) nom. rev., comb. nov, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 32 (4), 453-455.

Gilliland, S. ve Speck, M., 1977, Enumeration and identity of lactobacilli in dietary products, *Journal of Food Protection*, 40 (11), 760-762.

Gilliland, S., 1979, Beneficial interrelationships between certain microorganisms and humans: candidate microorganisms for use as dietary adjuncts, *Journal of Food Protection*, 42 (2), 164-167.

Gilliland, S., Staley, T. ve Bush, L., 1984, Importance of Bile Tolerance of Lactobacillus acidophilus Used as a Dietary Adjunct1, *Journal of Dairy Science*, 67 (12), 3045-3051.

Giraffa, G., 2002, Enterococci from foods FEMS Microbiology Reviews, 26 pp. 163–171.

Goldin, B. R. ve Gorbach, S. L., 1992, Probiotics for humans, *Probiotics: The Scientific Basis*, 355-376.

Golić, N., Čadež, N., Terzić-Vidojević, A., Šuranská, H., Beganović, J., Lozo, J., Kos, B., Šušković, J., Raspor, P. ve Topisirović, L., 2013, Evaluation of lactic acid bacteria and yeast diversity in traditional white pickled and fresh soft cheeses from the mountain regions of Serbia and lowland regions of Croatia, *International Journal of Food Microbiology*, 166 (2), 294-300.

Gonzalez, E. E., Olson, D. ve Aryana, K., 2017, Salt tolerance of Lactococcus lactis R-604 as influenced by mild stresses from ethanol, heat, hydrogen peroxide, and UV light, *Journal of Dairy Science*, 100 (6), 4290-4293.

González, L., Sandoval, H., Sacristán, N., Castro, J., Fresno, J. ve Tornadijo, M., 2007, Identification of lactic acid bacteria isolated from Genestoso cheese throughout ripening and study of their antimicrobial activity, *Food Control*, 18 (6), 716-722.

Gorjbach, S., Nahas, L., Weinstein, L., PLAUT, A., Spanknebel, G. ve Levitan, R., 1967, Studies of intestinal microflora. II. Microorganisms of the small intestine and their relations to oral and fecal flora, *Gastroenterology*, 53 (6), 856-867.

Guder, A., Wiedemann, I. ve Sahl, H. G., 2000, Posttranslationally modified bacteriocins—the lantibiotics, *Peptide Science*, 55 (1), 62-73.

Guerra, N. P., Bernárdez, P. F., Méndez, J., Cachaldora, P. ve Castro, L. P., 2007, Production of four potentially probiotic lactic acid bacteria and their evaluation as feed additives for weaned piglets, *Animal Feed Science and Technology*, 134 (1-2), 89-107.

Guo, X.-H., Kim, J.-M., Nam, H.-M., Park, S.-Y. ve 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.

Hammes, W. P., Bantleon, A. ve Min, S., 1990, Lactic acid bacteria in meat fermentation, *FEMS Microbiology Letters*, 87 (1-2), 165-173.

Hammes, W. P. ve Vogel, R. F., 1995, The genus lactobacillus, In: The genera of lactic acid bacteria, Eds: Springer, p. 19-54.

Handley, P. S., Harty, D. W., Wyatt, J. E., Brown, C. R., Doran, J. P. ve Gibbs, A. C., 1987, A comparison of the adhesion, coaggregation and cell-surface hydrophobicity properties of fibrillar and fimbriate strains of Streptococcus salivarius, *Microbiology*, 133 (11), 3207-3217.

Hardie, J., 1986, Genus streptococcus, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2, 1043-1071.

Hardie, J. ve Whiley, R., 1995, The genus Streptococcus, In: The genera of lactic acid bacteria, Eds: Springer, p. 55-124.

Hardie, J. ve Whiley, R., 1997, Classification and overview of the genera Streptococcus and Enterococcus, *Journal of Applied Microbiology*, 83 (S1).

Harper, D. ve Loesche, W. J., 1984, Growth and acid tolerance of human dental plaque bacteria, *Archives of Oral Biology*, 29 (10), 843-848.

Harris, L., Daeschel, M., Stiles, M. ve Klaenhammer, T., 1989, Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria Against Listeria monocytogene s, *Journal of Food Protection*, 52 (6), 384-387.

Hartke, A., Bouché, S., Giard, J.-C., Benachour, A., Boutibonnes, P. ve Auffray, Y., 1996, The lactic acid stress response of Lactococcus lactis subsp. lactis, *Current Microbiology*, 33 (3), 194-199.

Hassan, A., Frank, J., Schmidt, K. ve Shalabi, S., 1996, Textural properties of yogurt made with encapsulated nonropy lactic cultures, *Journal of Dairy Science*, 79 (12), 2098-2103.

Heidebach, T., Först, P. ve Kulozik, U., 2010, Influence of casein-based microencapsulation on freeze-drying and storage of probiotic cells, *Journal of Food Engineering*, 98 (3), 309-316.

Helander, I. M., Von Wright, A. ve Mattila-Sandholm, T., 1997, Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against Gram-negative bacteria, *Trends in Food Science & Technology*, 8 (5), 146-150.

Hofmann, A. F. ve Mysels, K. J., 1992, Bile acid solubility and precipitation in vitro and in vivo: the role of conjugation, pH, and Ca2+ ions, *Journal of Lipid Research*, 33 (5), 617-626.

Holzapfel, W., Geisen, R. ve 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.

Holzapfel, W. H., Haberer, P., Snel, J., Schillinger, U. ve in't Veld, J. H. H., 1998, Overview of gut flora and probiotics, *International Journal of Food Microbiology*, 41 (2), 85-101.

Holzapfel, W. H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J. ve Schillinger, U., 2001, Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition–, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73 (2), 365s-373s.

Holzapfel, W. H. ve Wood, B. J., 2014, Lactic acid bacteria: biodiversity and taxonomy, John Wiley & Sons, p.

Hood, S. ve Zoitola, E., 1988, Effect of low pH on the ability of Lactobacillus acidophilus to survive and adhere to human intestinal cells, *Journal of Food Science*, 53 (5), 1514-1516.

Hoque, M., Akter, F., Hossain, K., Rahman, M., Billah, M. ve Islam, K., 2010, Isolation, identification and analysis of probiotic properties of Lactobacillus spp. from selective regional yoghurts, *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 5 (1), 39-46.

Horvath, P., Coûté-Monvoisin, A.-C., Romero, D. A., Boyaval, P., Fremaux, C. ve Barrangou, R., 2009, Comparative analysis of CRISPR loci in lactic acid bacteria genomes, *International Journal of Food Microbiology*, 131 (1), 62-70.

Hudault, S., Liévin, V., Bernet-Camard, M.-F. ve Servin, A. L., 1997, Antagonistic activity exerted in vitro and in vivo by Lactobacillus casei (strain GG) against Salmonella typhimurium C5 infection, *Applied and Environmental Microbiology*, 63 (2), 513-518.

Isolauri, E., Salminen, S. ve Ouwehand, A. C., 2004, Probiotics, *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 18 (2), 299-313.

Jack, R. W., Tagg, J. R. ve Ray, B., 1995, Bacteriocins of gram-positive bacteria, *Microbiological Reviews*, 59 (2), 171-200.

Jankovic, M., Robbiani, D. F., Dorsett, Y., Eisenreich, T., Xu, Y., Tarakhovsky, A., Nussenzweig, A. ve Nussenzweig, M. C., 2010, Role of the translocation partner in protection against AID-dependent chromosomal translocations, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107 (1), 187-192.

Jansen, S. C., van Dusseldorp, M., Bottema, K. C. ve Dubois, A. E., 2003, Intolerance to dietary biogenic amines: a review, *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 91 (3), 233-241.

Jayamanne, V. ve Adams, M., 2006, Determination of survival, identity and stress resistance of probiotic bifidobacteria in bio-yoghurts, *Letters in Applied Microbiology*, 42 (3), 189-194.

Jeronymo-Ceneviva, A. B., de Paula, A. T., Silva, L. F., Todorov, S. D., Franco, B. D. G. M. ve Penna, A. L. B., 2014, Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from water-buffalo mozzarella cheese, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 6 (3-4), 141-156.

Johansson, M.-L., Nobaek, S., Berggren, A., Nyman, M., Björck, I., Ahrne, S., Jeppsson, B. ve Molin, G., 1998, Survival of Lactobacillus plantarum DSM 9843 (299v), and effect on the short-chain fatty acid content of faeces after ingestion of a rose-hip drink with fermented oats, *International Journal of Food Microbiology*, 42 (1-2), 29-38.

Kalogridou-Vassiliadou, D., 1984, Lipolytic activity and heat resistance of extracellular lipases of some Gram-negative bacteria, *Milchwissenschaft (Germany, FR)*.

Kalui, C. M., Mathara, J. M. ve Kutima, P. M., 2010, Probiotic potential of spontaneously fermented cereal based foods–A review, *African Journal of Biotechnology*, 9 (17), 2490-2498.

Kandler, O., 1986, Genus Lactobacillus Beijerinck 1901, 212^< AL, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2, 1209-1234.

Karimi, R., Mortazavian, A. ve Karami, M., 2012, Incorporation of Lactobacillus casei in Iranian ultrafiltered Feta cheese made by partial replacement of NaCl with KCl, *Journal of Dairy Science*, 95 (8), 4209-4222.

Kashket, E. R., 1987, Bioenergetics of lactic acid bacteria: cytoplasmic pH and osmotolerance, *FEMS Microbiology Reviews*, 3 (3), 233-244.

Kebary, K., Hussein, S. ve Badawi, R., 1998, Improving viability of bifidobacterium and their effect on frozen ice milk.

Kilpper-Bälz, R., Fischer, G. ve Schleifer, K. H., 1982, Nucleic acid hybridization of group N and group D streptococci, *Current Microbiology*, 7 (4), 245-250.

Kimoto-Nira, H., Kobayashi, M., Nomura, M., Sasaki, K. ve Suzuki, C., 2009, Bile resistance in Lactococcus lactis strains varies with cellular fatty acid composition: analysis by using different growth media, *International Journal of Food Microbiology*, 131 (2-3), 183-188.

Kimoto-Nira, H., Suzuki, C., Sasaki, K., Kobayashi, M. ve Mizumachi, K., 2010, Survival of a Lactococcus lactis strain varies with its carbohydrate preference under in vitro conditions simulated gastrointestinal tract, *International Journal of Food Microbiology*, 143 (3), 226-229.

Klaenhammer, T., Altermann, E., Arigoni, F., Bolotin, A., Breidt, F., Broadbent, J., Cano, R., Chaillou, S., Deutscher, J. ve Gasson, M., 2002, Discovering lactic acid bacteria by genomics, In: Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications, Eds: Springer, p. 29-58.

Klaenhammer, T. R., Barrangou, R., Buck, B. L., Azcarate-Peril, M. A. ve Altermann, E., 2005, Genomic features of lactic acid bacteria effecting bioprocessing and health, *FEMS Microbiology Reviews*, 29 (3), 393-409.

Klaenhammer, T. R., Altermann, E., Pfeiler, E., Buck, B. L., Goh, Y.-J., O'flaherty, S., Barrangou, R. ve Duong, T., 2008, Functional genomics of probiotic Lactobacilli, *Journal of Clinical Gastroenterology*, 42, S160-S162.

Kleerebezem, M. ve Hugenholtz, J., 2003, Metabolic pathway engineering in lactic acid bacteria, *Current Opinion in Biotechnology*, 14 (2), 232-237.

Klingberg, T. D., Axelsson, L., Naterstad, K., Elsser, D. ve Budde, B. B., 2005, Identification of potential probiotic starter cultures for Scandinavian-type fermented sausages, *International Journal of Food Microbiology*, 105 (3), 419-431.

Klingberg, T. D. ve Budde, B. B., 2006, The survival and persistence in the human gastrointestinal tract of five potential probiotic lactobacilli consumed as freeze-dried cultures or as probiotic sausage, *International Journal of Food Microbiology*, 109 (1-2), 157-159.

Kondrotiene, K., Kasnauskyte, N., Serniene, L., Gölz, G., Alter, T., Kaskoniene, V., Maruska, A. S. ve Malakauskas, M., 2018, Characterization and application of newly isolated nisin producing Lactococcus lactis strains for control of Listeria monocytogenes growth in fresh cheese, *LWT-Food Science and Technology*, 87, 507-514.

Konsiky, J., 1982, Colicins and other bacteriocins with an established mode of action, *Ann. Rev. Microbiol*, 36, 125.

Kos, B., Šušković, J., Vuković, S., Šimpraga, M., Frece, J. ve Matošić, S., 2003, Adhesion and aggregation ability of probiotic strain Lactobacillus acidophilus M92, *Journal of Applied Microbiology*, 94 (6), 981-987.

Kroger, M., Kurmann, J. ve Rasic, J., 1992, Fermented Milks—Past, Present, *Applications of Biotechnology to Traditional Fermented Foods: Report of an Ad Hoc Panel of the Board on Science and Technology for International Development*, 61.

Kusuda, R., Kawai, K., Salati, F., Banner, C. ve Fryer, J., 1991, Enterococcus seriolicida sp. nov., a fish pathogen, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 41 (3), 406-409.

Labrie, S. J. ve Moineau, S., 2007, Abortive infection mechanisms and prophage sequences significantly influence the genetic makeup of emerging lytic lactococcal phages, *Journal of Bacteriology*, 189 (4), 1482-1487.

Lancefield, R. C., 1933, A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci, *Journal of Experimental Medicine*, 57 (4), 571-595.

Latorre-Guzman, B., Kado, C. ve Kunkee, R., 1977, Lactobacillus hordniae, a new species from the leafhopper (Hordnia circellata), *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 27 (4), 362-370.

Lee, H., Yoon, H., Ji, Y., Kim, H., Park, H., Lee, J., Shin, H. ve Holzapfel, W., 2011, Functional properties of Lactobacillus strains isolated from kimchi, *International Journal of Food Microbiology*, 145 (1), 155-161.

Lee, N.-K., Han, K. J., Son, S.-H., Eom, S. J., Lee, S.-K. ve Paik, H.-D., 2015, Multifunctional effect of probiotic Lactococcus lactis KC24 isolated from kimchi, *LWT-Food Science and Technology*, 64 (2), 1036-1041.

Lee, Y.-K. ve Salminen, S., 1995, The coming of age of probiotics, *Trends in Food Science & Technology*, 6 (7), 241-245.

Lehto, E. M. ve Salminen, S., 1997, Adhesion of two Lactobacillus strains, one Lactococcus and one Propionibacterium strain to cultured human intestinal Caco-2 cell line, *Bioscience and Microflora*, 16 (1), 13-17.

Leite, A., Miguel, M., Peixoto, R., Ruas-Madiedo, P., Paschoalin, V., Mayo, B. ve Delgado, S., 2015, Probiotic potential of selected lactic acid bacteria strains isolated from Brazilian kefir grains, *Journal of Dairy Science*, 98 (6), 3622-3632.

Li, B., Tian, F., Liu, X., Zhao, J., Zhang, H. ve Chen, W., 2011, Effects of cryoprotectants on viability of Lactobacillus reuteri CICC6226, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 92 (3), 609-616.

Li, Q., Liu, X., Dong, M., Zhou, J. ve Wang, Y., 2015, Aggregation and adhesion abilities of 18 lactic acid bacteria strains isolated from traditional fermented food, *Int J Agric Policy Res*, 3 (2), 84-92.

Li, S., Zhao, Y., Zhang, L., Zhang, X., Huang, L., Li, D., Niu, C., Yang, Z. ve Wang, Q., 2012, Antioxidant activity of Lactobacillus plantarum strains isolated from traditional Chinese fermented foods, *Food Chemistry*, 135 (3), 1914-1919.

Libudzisz, Z. ve Galewska, E., 1991, Citrate metabolism in Lactococcus lactis subsp. lactis var. diacetylactis strains, *Molecular Nutrition & Food Research*, 35 (6), 611-618.

Liong, M. ve Shah, N., 2006, Effects of a Lactobacillus casei synbiotic on serum lipoprotein, intestinal microflora, and organic acids in rats, *Journal of Dairy Science*, 89 (5), 1390-1399.

Lister, J., 1873, Memoirs: A Further Contribution to the Natural History of Bacteria and the Germ Theory of the Fermentative Changes, *Journal of Cell Science*, 2 (52), 380-408.

Lo, R., Bansal, N. ve Turner, M. S., 2018, Characterisation of Lactococcus lactis isolates from herbs, fruits and vegetables for use as biopreservatives against Listeria monocytogenes in cheese, *Food Control*, 85, 472-483.

Lonvaud-Funel, A., 1998, Le développement des bactéries lactiques dans le vin, *Traité d'oenologie*, 1, 197-224.

Macedo, A. C., Tavares, T. G. ve Malcata, F. X., 2003, Esterase activities of intracellular extracts of wild strains of lactic acid bacteria isolated from Serra da Estrela cheese, *Food chemistry*, 81 (3), 379-381.

Madureira, A. R., Amorim, M., Gomes, A. M., Pintado, M. E. ve Malcata, F. X., 2011, Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions, *Food Research International*, 44 (1), 465-470.

Makarova, K., Slesarev, A., Wolf, Y., Sorokin, A., Mirkin, B., Koonin, E., Pavlov, A., Pavlova, N., Karamychev, V. ve Polouchine, N., 2006, Comparative genomics of the lactic acid bacteria, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103 (42), 15611-15616.

Manini, F., Casiraghi, M., Poutanen, K., Brasca, M., Erba, D. ve Plumed-Ferrer, C., 2016, Characterization of lactic acid bacteria isolated from wheat bran sourdough, *LWT-Food Science and Technology*, 66, 275-283.

Mannion, P. ve Rothburn, M., 1990, Diagnosis of bacterial endocarditis caused by Streptococcus lactis and assisted by immunoblotting of serum antibodies, *Journal of Infection*, 21 (3), 317-318.

Marshall, V. ve Tamime, A., 1997, Physiology and biochemistry of fermented milks, In: Microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk, Eds: Springer, p. 153-192.

Marshall, V. M. ve Rawson, H., 1999, Effects of exopolysaccharide-producing strains of thermophilic lactic acid bacteria on the texture of stirred yoghurt, *International Journal of Food Science & Technology*, 34 (2), 137-143.

Martinez-Murcia, A. ve Collins, M., 1990, A phylogenetic analysis of the genus Leuconostoc based on reverse transcriptase sequencing of 16 S rRNA, *FEMS Microbiology Letters*, 70 (1), 73-83.

Martins, E. M. F., Ramos, A. M., Vanzela, E. S. L., Stringheta, P. C., de Oliveira Pinto, C. L. ve Martins, J. M., 2013, Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bacteria, *Food Research International*, 51 (2), 764-770.

Mishra, V. ve Prasad, D. N., 2005, Application of in vitro methods for selection of Lactobacillus casei strains as potential probiotics, *Int J Food Microbiol*, 103 (1), 109-115.

Mogensen, G., 1995, Realities and trends in probiotic attributes of lactic acid bacteria and their market impact, *Presses Universitaires de Caen, Caen, France*, 175-185.

Mohammadi, R., Sohrabvandi, S. ve Mohammad Mortazavian, A., 2012, The starter culture characteristics of probiotic microorganisms in fermented milks, *Engineering in Life Sciences*, 12 (4), 399-409.

Moineau, S., 1999, Applications of phage resistance in lactic acid bacteria, *Antonie van Leeuwenhoek*, 76 (1-4), 377-382.

Molly, K., Smet, I. D., Nollet, L., Woestyne, M. V. ve Verstraete, W., 1996, Effect of lactobacilli on the ecology of the gastro-intestinal microbiota cultured in the SHIME reactor, *Microbial Ecology in Health and Disease*, 9 (2), 79-89.

Monteagudo-Mera, A., Rodríguez-Aparicio, L., Rúa, J., Martínez-Blanco, H., Navasa, N., García-Armesto, M. R. ve Ferrero, M. Á., 2012, In vitro evaluation of physiological probiotic properties of different lactic acid bacteria strains of dairy and human origin, *Journal of Functional Foods*, 4 (2), 531-541.

Mundt, J., 1986, Enterococci, *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 2, 1063-1065.

Müller-Thurgau, H., 1908, Bakterienblasen. Zentbl, *Bakt. Abt. II*, 20, 353-400.

N'guessan, K. F., Brou, K., Jacques, N., Casaregola, S. ve Dje, K. M., 2011, Identification of yeasts during alcoholic fermentation of tchapalo, a traditional sorghum beer from Côte d'Ivoire, *Antonie van Leeuwenhoek*, 99 (4), 855-864.

Naidu, A., Bidlack, W. ve Clemens, R., 1999, Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB), *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39 (1), 13-126.

Nes, I. F. ve Holo, H., 2000, Class II antimicrobial peptides from lactic acid bacteria, *Peptide Science*, 55 (1), 50-61.

Nguyen, T. L., Park, C.-I. ve Kim, D.-H., 2017, Improved growth rate and disease resistance in olive flounder, Paralichthys olivaceus, by probiotic Lactococcus lactis WFLU12 isolated from wild marine fish, *Aquaculture*, 471, 113-120.

Niku-Paavola, M. L., Laitila, A., Mattila-Sandholm, T. ve Haikara, A., 1999, New types of antimicrobial compounds produced by Lactobacillus plantarum, *Journal of Applied Microbiology*, 86 (1), 29-35.

Nomura, M., Kobayashi, M., Narita, T., Kimoto-Nira, H. ve Okamoto, T., 2006, Phenotypic and molecular characterization of Lactococcus lactis from milk and plants, *Journal of Applied Microbiology*, 101 (2), 396-405.

Nualkaekul, S., Salmeron, I. ve Charalampopoulos, D., 2011, Investigation of the factors influencing the survival of Bifidobacterium longum in model acidic solutions and fruit juices, *Food Chemistry*, 129 (3), 1037-1044.

Nualkaekul, S., Lenton, D., Cook, M. T., Khutoryanskiy, V. V. ve Charalampopoulos, D., 2012, Chitosan coated alginate beads for the survival of microencapsulated

Lactobacillus plantarum in pomegranate juice, *Carbohydrate Polymers*, 90 (3), 1281-1287.

Oliveira, R. P. D. S., Perego, P., Converti, A. ve De Oliveira, M. N., 2009, Effect of inulin on growth and acidification performance of different probiotic bacteria in co-cultures and mixed culture with Streptococcus thermophilus, *Journal of Food Engineering*, 91 (1), 133-139.

Olson, D. ve Aryana, K., 2008, An excessively high Lactobacillus acidophilus inoculation level in yogurt lowers product quality during storage, *LWT-Food Science and Technology*, 41 (5), 911-918.

Olson, N. F., 1990, The impact of lactic acid bacteria on cheese flavor, *FEMS Microbiology Letters*, 87 (1-2), 131-147.

Özkalp, B. ve Akçelik, M., 2006, Doğal Tip Lactococcus Lactis Suşlarının Endüstriyel Starter Kültür Potansiyellerinin Belirlenmesi.

Park, M. S., Kim, M.-J. ve Ji, G.-E., 2007, Assessment of lipopolysaccharide-binding activity of Bifidobacterium and its relationship with cell surface hydrophobicity, autoaggregation, and inhibition of interleukin-8 production, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17 (7), 1120-1126.

Parker, M., 1977, The pattern of streptococcal disease in man, *Society for Applied Bacteriology Symposium Series*, 71-106.

Patel, H. M., Wang, R., Chandrashekar, O., Pandiella, S. S. ve Webb, C., 2004, Proliferation of Lactobacillus plantarum in Solid-State Fermentation of Oats, *Biotechnology Progress*, 20 (1), 110-116.

Patrick, W. A. ve Wagner, H. B., 1949, Determination of hydrogen peroxide in small concentrations, *Analytical Chemistry*, 21 (10), 1279-1280.

Pedersen, K. ve Tannock, G., 1989, Colonization of the porcine gastrointestinal tract by lactobacilli, *Applied and Environmental Microbiology*, 55 (2), 279-283.

Pennacchia, C., Vaughan, E. ve Villani, F., 2006, Potential probiotic Lactobacillus strains from fermented sausages: Further investigations on their probiotic properties, *Meat science*, 73 (1), 90-101.

Perez, S., Lorenzo, P. L., Garcia, M., Hernandez, P. ve Ordonez, J., 1982, Heat resistance of enterococci, *Milchwissenschaft*, 37 (12), 724-726.

Pérez, T., Balcázar, J. L., Peix, A., Valverde, A., Velázquez, E., de Blas, I. ve Ruiz-Zarzuela, I., 2011, Lactococcus lactis subsp. tructae subsp. nov. isolated from the intestinal mucus of brown trout (Salmo trutta) and rainbow trout (Oncorhynchus mykiss), *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61 (8), 1894-1898.

Pfeiler, E. A. ve Klaenhammer, T. R., 2007, The genomics of lactic acid bacteria, *Trends in Microbiology*, 15 (12), 546-553.

Piper, P. W., 1993, Molecular events associated with acquisition of heat tolerance by the yeast Saccharomyces cerevisiae, *FEMS Microbiology Reviews*, 11 (4), 339-355.

Poolman, B., Kunji, E., Hagting, A., Juillard, V. ve Konings, W., 1995, The proteolytic pathway of Lactococcus lactis, *Society for Applied Bacteriology Symposium Series*, 65S.

Postma, P. ve Lengeler, J., 1985, Phosphoenolpyruvate: carbohydrate phosphotransferase system of bacteria, *Microbiological Reviews*, 49 (3), 232.

Pot, B., Devriese, L., Hommez, J., Miry, C., Vandemeulebroecke, K., Kersters, K. ve Haesebrouck, F., 1994, Characterization and identification of Vagococcus fluvialis strains isolated from domestic animals, *Journal of Applied Microbiology*, 77 (4), 362-369.

Pyar, H. ve Peh, K. K., 2011, Effect of cryoprotective agents on survival and stability of Lactobacillus acidophilus cultured in food-grade medium, *International Journal of Dairy Technology*, 64 (4), 578-584.

Quivey Jr, R. G., Kuhnert, W. L. ve Hahn, K., 2000, Adaptation of oral streptococci to low pH.

Raccach, M. ve Baker, R., 1978, Formation of hydrogen peroxide by meat starter cultures, *Journal of Food Protection*, 41 (10), 798-799.

Ranadheera, R., Baines, S. ve Adams, M., 2010, Importance of food in probiotic efficacy, *Food Research International*, 43 (1), 1-7.

Reid, G., McGroarty, J. A., Angotti, R. ve Cook, R. L., 1988, Lactobacillus inhibitor production against Escherichia coli and coaggregation ability with uropathogens, *Canadian Journal of Microbiology*, 34 (3), 344-351.

Reid, G., Jass, J., Sebulsky, M. T. ve McCormick, J. K., 2003, Potential uses of probiotics in clinical practice, *Clinical Microbiology Reviews*, 16 (4), 658-672.

Ribeiro, S. C., O'Connor, P. M., Ross, R. P., Stanton, C. ve Silva, C. C., 2016, An anti-listerial Lactococcus lactis strain isolated from Azorean Pico cheese produces lacticin 481, *International Dairy Journal*, 63, 18-28.

Robins-Browne, R. M. ve Levine, M. M., 1981, The fate of ingested lactobacilli in the proximal small intestine, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 34 (4), 514-519.

Robinson, R. K., 2014, Encyclopedia of food microbiology, Academic press, p.

Rojas, M. ve Conway, P., 1996, Colonization by lactobacilli of piglet small intestinal mucus, *Journal of Applied Microbiology*, 81 (5), 474-480.

Ross, R. P., Morgan, S. ve Hill, C., 2002, Preservation and fermentation: past, present and future, *International Journal of Food Microbiology*, 79 (1-2), 3-16.

Ross, R. P., Fitzgerald, G., Collins, J. K., Coakley, M., Desmond, C. ve Stanton, C., 2003, Challenges facing development of probiotic-containing functional foods, In: Handbook of Fermented Functional Foods, Eds: CRC press, p. 43-74.

Ruas-Madiedo, P., Alting, A. C. ve Zoon, P., 2005, Effect of exopolysaccharides and proteolytic activity of Lactococcus lactis subsp. cremoris strains on the viscosity and structure of fermented milks, *International Dairy Journal*, 15 (2), 155-164.

Ruiz-Moyano, S., Martín, A., Benito, M. J., Nevado, F. P. ve de Guía Córdoba, M., 2008, Screening of lactic acid bacteria and bifidobacteria for potential probiotic use in Iberian dry fermented sausages, *Meat Science*, 80 (3), 715-721.

Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Mättö, J. ve Mattila-Sandholm, T., 2000, Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties, *Journal of Biotechnology*, 84 (3), 197-215.

Sabir, F., Beyatli, Y., Cokmus, C. ve Onal-Darilmaz, D., 2010, Assessment of potential probiotic properties of Lactobacillus spp., Lactococcus spp., and Pediococcus spp. strains isolated from kefir, *J Food Sci*, 75 (9), M568-573.

Sakala, R., Hayashidani, H., Kato, Y., Kaneuchi, C. ve Ogawa, M., 2002, Isolation and characterization of Lactococcus piscium strains from vacuum-packaged refrigerated beef, *Journal of Applied Microbiology*, 92 (1), 173-179.

Salminen, S., Isolauri, E. ve Salminen, E., 1996a, Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges, *Antonie van Leeuwenhoek*, 70 (2), 347-358.

Salminen, S., Isolauri, E. ve Salminen, E., 1996b, Probiotics and stabilisation of the gut mucosal barrier, *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 5, 53-56.

Salminen, S., Laine, M., Vonwright, A., Vuopio-Varkila, J., Korhonen, T. ve Mattila-Sandholm, T., 1996c, Development of selection criteria for probiotic strains to assess their potential in functional foods: a Nordic and European approach, *Bioscience and Microflora*, 15 (2), 61-67.

Salminen, S., von Wright, A., Morelli, L., Marteau, P., Brassart, D., de Vos, W. M., Fondén, R., Saxelin, M., Collins, K. ve Mogensen, G., 1998, Demonstration of safety of probiotics—a review, *International Journal of Food Microbiology*, 44 (1-2), 93-106.

Salminen, S., Ouwehand, A., Benno, Y. ve Lee, Y., 1999, Probiotics: how should they be defined?, *Trends in Food Science & Technology*, 10 (3), 107-110.

Salminen, S. ve Von Wright, A., 2004, Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects, CRC Press, p.

Salvetti, E., Fondi, M., Fani, R., Torriani, S. ve Felis, G. E., 2013, Evolution of lactic acid bacteria in the order Lactobacillales as depicted by analysis of glycolysis and pentose phosphate pathways, *Systematic and Applied Microbiology*, 36 (5), 291-305.

Samaržija, D., Antunac, N. ve Lukač Havranek, J., 2001, Taxonomy, physiology and growth of Lactococcus lactis: a review, *Mljekarstvo*, 51 (1), 35-48.

Sanchez, B., Los REYES-GAVILÁN, D., Margolles, A. ve Gueimonde, M., 2009, Probiotic fermented milks: present and future, *International Journal of Dairy Technology*, 62 (4), 472-483.

Satomi, M., Kimura, B., Mizoi, M., Sato, T. ve Fujii, T., 1997, Tetragenococcus muriaticus sp. nov., a new moderately halophilic lactic acid bacterium isolated from fermented squid liver sauce, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47 (3), 832-836.

Savadogo, A., Ouattara, A. C., Bassole, H. I. ve Traore, S. A., 2006, Bacteriocins and lactic acid bacteria-a minireview, *African Journal of Biotechnology*, 5 (9).

Schillinger, U. ve Holzapfel, W., 1995, The genus Carnobacterium, In: The genera of lactic acid bacteria, Eds: Springer, p. 307-326.

Schillinger, U., Guigas, C. ve Holzapfel, W. H., 2005, In vitro adherence and other properties of lactobacilli used in probiotic yoghurt-like products, *International Dairy Journal*, 15 (12), 1289-1297.

Schleifer, K., Kraus, J., Dvorak, C., Kilpper-Bälz, R., Collins, M. ve Fischer, W., 1985, Transfer of Streptococcus lactis and related streptococci to the genus Lactococcus gen. nov, *Systematic and Applied Microbiology*, 6 (2), 183-195.

Schleifer, K., 1987, Recent changes in the taxonomy of lactic acid bacteria, *FEMS Microbiology Letters*, 46 (3), 201-203.

Schleifer, K. ve Kilpper-Bälz, R., 1987, Molecular and chemotaxonomic approaches to the classification of streptococci, enterococci and lactococci: a review, *Systematic and Applied Microbiology*, 10 (1), 1-19.

Schleifer, K. ve Ludwig, W., 1995, Phylogenetic relationships of lactic acid bacteria, In: The genera of lactic acid bacteria, Eds: Springer, p. 7-18.

Schleifer, K. H. ve Kilpper-Bälz, R., 1984, Transfer of Streptococcus faecalis and Streptococcus faecium to the Genus Enterococcus nom. rev. as Enterococcus faecalis comb. nov. and Enterococcus faecium comb. nov, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 34 (1), 31-34.

Seale, D., 1986, Bacterial inoculants as silage additives, *Journal of Applied Bacteriology*, 61 (15), 9-26.

Shah, N. P., 2001, Functional foods from probiotics and prebiotics, *Food Technology*.

Shah, N. P., 2007, Functional cultures and health benefits, *International Dairy Journal*, 17 (11), 1262-1277.

Sharp, M., McMahon, D. J. ve Broadbent, J. R., 2008, Comparative Evaluation of Yogurt and Low-Fat Cheddar Cheese as Delivery Media for Probiotic Lactobacillus casei, *Journal of Food Science*, 73 (7).

Sharpe, M. E., Fryer, T. ve Smith, D., 1979, Identification of the lactic acid bacteria, *Identification Methods for Microbiologists*, 157, 233-259.

Sheehan, V. M., Ross, P. ve Fitzgerald, G. F., 2007, Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8 (2), 279-284.

Shehata, M., El Sohaimy, S., El-Sahn, M. A. ve Youssef, M., 2016, Screening of isolated potential probiotic lactic acid bacteria for cholesterol lowering property and bile salt hydrolase activity, *Annals of Agricultural Sciences*, 61 (1), 65-75.

Siezen, R. J., Bayjanov, J., Renckens, B., Wels, M., van Hijum, S. A., Molenaar, D. ve van Hylckama Vlieg, J. E., 2010, Complete genome sequence of Lactococcus lactis subsp. lactis KF147, a plant-associated lactic acid bacterium, *Journal of Bacteriology*, 192 (10), 2649-2650.

Simpson, P., Stanton, C., Fitzgerald, G. ve Ross, R., 2005, Intrinsic tolerance of Bifidobacterium species to heat and oxygen and survival following spray drying and storage, *Journal of Applied Microbiology*, 99 (3), 493-501.

Simpson, W. ve Taguchi, H., 1995, The genus Pediococcus, with notes on the genera Tetratogenococcus and Aerococcus, In: The genera of lactic acid bacteria, Eds: Springer, p. 125-172.

Skyttä, E., Haikara, A. ve Mattila-Sandholm, T., 1993, Production and characterization of antibacterial compounds produced by Pediococcus damnosus and Pediococcus pentosaceus, *Journal of Applied Microbiology*, 74 (2), 134-142.

Smaoui, S., Elleuch, L., Bejar, W., Karray-Rebai, I., Ayadi, I., Jaouadi, B., Mathieu, F., Chouayekh, H., Bejar, S. ve Mellouli, L., 2010, Inhibition of fungi and gram-negative bacteria by bacteriocin BacTN635 produced by Lactobacillus plantarum sp. TN635, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 162 (4), 1132-1146.

Stackebrandt, E. ve Schleifer, K., 1983, Molecular systematics of procaryotes, *Annu. Rev. Microbiol*, 37, 143-187.

Stadnik, J. ve Dolatowski, Z. J., 2013, Changes in selected parameters related to proteolysis during ageing of dry-cured pork loins inoculated with probiotics, *Food Chemistry*, 139 (1-4), 67-71.

Stiles, M. E. ve Holzapfel, W. H., 1997, Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy, *International Journal of Food Microbiology*, 36 (1), 1-29.

Stingele, F., Vincent, S. J., Faber, E. J., Newell, J. W., Kamerling, J. P. ve Neeser, J. R., 1999, Introduction of the exopolysaccharide gene cluster from Streptococcus thermophilus Sfi6 into Lactococcus lactis MG1363: production and characterization of an altered polysaccharide, *Molecular Microbiology*, 32 (6), 1287-1295.

Şahingil, D., İşleroğlu, H., Yildirim, Z., Akcelik, M. ve Yildirim, M., 2011, Characterization of lactococcin BZ produced by Lactococcus lactis subsp. lactis BZ isolated from boza, *Turkish Journal of Biology*, 35 (1), 21-33.

Tagg, J. R., Dajani, A. S. ve Wannamaker, L. W., 1976, Bacteriocins of gram-positive bacteria, *Bacteriological reviews*, 40 (3), 722.

Talwalkar, A. ve Kailasapathy, K., 2004, A review of oxygen toxicity in probiotic yogurts: influence on the survival of probiotic bacteria and protective techniques, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3 (3), 117-124.

Tamime, A., Wszolek, M., Božanić, R. ve Özer, B., 2011, Popular ovine and caprine fermented milks, *Small Ruminant Research*, 101 (1), 2-16.

Tamime, A. Y. ve Robinson, R. K., 1999, Yoghurt: science and technology, Woodhead Publishing, p.

Tannock, G. W., 1997, Probiotic properties of lactic-acid bacteria: plenty of scope for fundamental R & D, *Trends in Biotechnology*, 15 (7), 270-274.

Tassou, C., Panagou, E. ve Katsaboxakis, K., 2002, Microbiological and physicochemical changes of naturally black olives fermented at different temperatures and NaCl levels in the brines, *Food Microbiology*, 19 (6), 605-615.

Teixeira, L. M., Merquior, V. L. C., Vianni, M. d. C. E., Carvalho, M. d. G. S., Fracalanzza, S. E., Steigerwalt, A. G., Brenner, D. J. ve Facklam, R. R., 1996, Phenotypic and genotypic characterization of atypical Lactococcus garvieae strains isolated from water buffalos with subclinical mastitis and confirmation of L. garvieae as a senior subjective synonym of Enterococcus seriolicida, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 46 (3), 664-668.

Terzic-Vidojevic, A., Mihajlovic, S., Uzelac, G., Veljovic, K., Tolinacki, M., Nikolic, M., Topisirovic, L. ve Kojic, M., 2014, Characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Travnik young cheeses, sweet creams and sweet kajmaks over four seasons, *Food Microbiology*, 39, 27-38.

Terzić-Vidojević, A., Tonković, K., Pavunc, A. L., Beganović, J., Strahinić, I., Kojić, M., Veljović, K., Golić, N., Kos, B. ve Čadež, N., 2015, Evaluation of autochthonous lactic acid bacteria as starter cultures for production of white pickled and fresh soft cheeses, *LWT-Food Science and Technology*, 63 (1), 298-306.

Teuber, M., Meile, L. ve Schwarz, F., 1999, Acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria from food, *Antonie van Leeuwenhoek*, 76 (1-4), 115-137.

Teuber, M. ve Geis, A., 2006, The genus lactococcus, In: The prokaryotes, Eds: Springer, p. 205-228.

Thompson, J., 1987, Regulation of sugar transport and metabolism in lactic acid bacteria, *FEMS Microbiology Reviews*, 3 (3), 221-231.

Tsujita, T., Shirai, K., Saito, Y. ve Okuda, H., 1990, Relationship between lipase and esterase, *Progress in Clinical and Biological Research*, 344, 915-933.

Tuomola, E., 1999, In vitro adhesion of probiotic lactic acid bacteria, E. Tuomola, p.

Tuomola, E. M. ve Salminen, S. J., 1998, Adhesion of some probiotic and dairy Lactobacillus strains to Caco-2 cell cultures, *International Journal of Food Microbiology*, 41 (1), 45-51.

Uhlman, L., Schillinger, U., Rupnow, J. ve Holzapfel, W., 1992, Identification and characterization of two bacteriocin-producing strains of Lactococcus lactis isolated from vegetables, *International Journal of Food Microbiology*, 16 (2), 141-151.

Uymaz, B., 2010, Probiyotikler ve kullanım alanları, *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16 (1), 95-104.

Uysal Pala, C., Karagül Yüceer, Y., Pala, A. ve Savas, T., 2006, Sensory properties of drinkable yogurt made from milk of different goat breeds, *Journal of Sensory Studies*, 21 (5), 520-533.

Van Casteren, W., Dijkema, C., Schols, H., Beldman, G. ve Voragen, A., 1998, Characterisation and modification of the exopolysaccharide produced by Lactococcus lactis subsp. cremoris B40, *Carbohydrate Polymers*, 37 (2), 123-130.

Van den Berg, D. J., Smits, A., Pot, B., Ledeboer, A. M., Kersters, K., Verbake, J. M. ve Verrips, C. T., 1993, Isolation, screening and identification of lactic acid bacteria from traditional food fermentation processes and culture collections, *Food Biotechnology*, 7 (3), 189-205.

Van der Meulen, R., Grosu-Tudor, S., Mozzi, F., Vaningelgem, F., Zamfir, M., de Valdez, G. F. ve De Vuyst, L., 2007, Screening of lactic acid bacteria isolates from dairy and cereal products for exopolysaccharide production and genes involved, *International Journal of Food Microbiology*, 118 (3), 250-258.

Van Geel-Schutten, G., Flesch, F., Ten Brink, B., Smith, M. ve Dijkhuizen, L., 1998, Screening and characterization of Lactobacillus strains producing large amounts of exopolysaccharides, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 50 (6), 697-703.

Van Vuuren, H. ve Dicks, L., 1993, Leuconostoc oenos: a review, *American Journal of Enology and Viticulture*, 44 (1), 99-112.

Vendrell, D., Balcázar, J. L., Ruiz-Zarzuela, I., De Blas, I., Gironés, O. ve Múzquiz, J. L., 2006, Lactococcus garvieae in fish: a review, *Comparative İmmunology, Microbiology and İnfectious Diseases*, 29 (4), 177-198.

Vera-Pingitore, E., Jimenez, M. E., Dallagnol, A., Belfiore, C., Fontana, C., Fontana, P., von Wright, A., Vignolo, G. ve Plumed-Ferrer, C., 2016, Screening and characterization of potential probiotic and starter bacteria for plant fermentations, *LWT-Food Science and Technology*, 71, 288-294.

Vinderola, C. ve Reinheimer, J., 2003, Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative “in vitro” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance, *Food Research International*, 36 (9-10), 895-904.

Vinderola, G., Prosello, W., Molinari, F., Ghiberto, D. ve Reinheimer, J., 2009, Growth of Lactobacillus paracasei A13 in Argentinian probiotic cheese and its impact on

the characteristics of the product, *International Journal of Food Microbiology*, 135 (2), 171-174.

Währen, M., 1990, Brot und Getreide in der Urgeschichte, p.

Wang, S. C., Chang, C. K., Chan, S. C., Shieh, J. S., Chiu, C. K. ve Duh, P.-D., 2014, Effects of lactic acid bacteria isolated from fermented mustard on lowering cholesterol, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4 (7), 523-528.

Wang, W., Bao, Y., Hendricks, G. M. ve Guo, M., 2012, Consistency, microstructure and probiotic survivability of goats' milk yoghurt using polymerized whey protein as a co-thickening agent, *International Dairy Journal*, 24 (2), 113-119.

Wang, X., Brown, I., Evans, A. ve Conway, P., 1999, The protective effects of high amylose maize (amylomaize) starch granules on the survival of Bifidobacterium spp. in the mouse intestinal tract, *Journal of Applied Microbiology*, 87 (5), 631-639.

Wegmann, U., O'Connell-Motherway, M., Zomer, A., Buist, G., Shearman, C., Canchaya, C., Ventura, M., Goesmann, A., Gasson, M. J. ve Kuipers, O. P., 2007, Complete genome sequence of the prototype lactic acid bacterium Lactococcus lactis subsp. cremoris MG1363, *Journal of bacteriology*, 189 (8), 3256-3270.

Weitzel, G., Pilatus, U. ve Rensing, L., 1987, The cytoplasmic pH, ATP content and total protein synthesis rate during heat-shock protein inducing treatments in yeast, *Experimental Cell Research*, 170 (1), 64-79.

Wijtzes, T., Bruggeman, M., Nout, M. ve Zwietering, M., 1997, A computerised system for the identification of lactic acid bacteria, *International Journal of Food Microbiology*, 38 (1), 65-70.

Williams, A., Fryer, J. ve Collins, M., 1990, Lactococcus piscium sp. nov. a new Lactococcus species from salmonid fish, *FEMS Microbiology Letters*, 68 (1-2), 109-113.

Williams, A., Rodrigues, U. ve Collins, M., 1991, Intrageneric relationships ofEnterococci as determined by reverse transcriptase sequencing of small-subunit rRNA, *Research in Microbiology*, 142 (1), 67-74.

Williams, A. ve Collins, M., 1992, Genus-and species-specific oligonucleotide probes derived from 16S rRNA for the identification of vagococci, *Letters in Applied Microbiology*, 14 (2), 17-21.

Woese, C. R., 1987, Bacterial evolution, *Microbiological Reviews*, 51 (2), 221.

Yang, D. ve Woese, C. R., 1989, Phylogenetic structure of the "leuconostocs": an interesting case of a rapidly evolving organism, *Systematic and Applied Microbiology*, 12 (2), 145-149.

Yang, J., Ji, Y., Park, H., Lee, J., Park, S., Yeo, S., Shin, H. ve Holzapfel, W. H., 2014, Selection of functional lactic acid bacteria as starter cultures for the fermentation

of Korean leek (Allium tuberosum Rottler ex Sprengel.), *International Journal of Food Microbiology*, 191, 164-171.

Yüksekdağ, Z., Beyatli, Y. ve Aslim, B., 2004, Determination of some characteristics coccoid forms of lactic acid bacteria isolated from Turkish kefirs with natural probiotic, *LWT-Food Science and Technology*, 37 (6), 663-667.

Zare, F., Champagne, C., Simpson, B., Orsat, V. ve Boye, J., 2012, Effect of the addition of pulse ingredients to milk on acid production by probiotic and yoghurt starter cultures, *LWT-Food Science and Technology*, 45 (2), 155-160.

Zechini, B., Cipriani, P., Papadopoulou, S., Di Nucci, G., Petrucca, A. ve Teggi, A., 2006, Endocarditis caused by Lactococcus lactis subsp. lactis in a patient with atrial myxoma: a case report, *Diagnostic Microbiology and İnfectious Disease*, 56 (3), 325-328.

Zhang, H. ve Cai, Y., 2014, Lactic Acid Bacteria, Springer, p.

Zhang, Z.-G., Ye, Z.-Q., Yu, L. ve Shi, P., 2011, Phylogenomic reconstruction of lactic acid bacteria: an update, *BMC Evolutionary Biology*, 11 (1), 1.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Erhan KAZANCIGİL
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Malatya 04/09/1989
Telefon : 05331365723
Faks :
e-mail : erhan_kazancigil@hotmail.com

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	İzmir Kız Anadolu Lisesi, Konak, İzmir	2008
Üniversite	:	Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,Gıda Mühendisliği Bölümü, Selçuklu, Konya	2015
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Selçuklu, Konya	2018
Doktora	:		

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2016-2017	Sofra Unlu Mamulleri	Gıda Mühendisi
2017-2018	Atisal-On Adi Ortaklığı	Gıda Mühendisi

UZMANLIK ALANI

Süt ve Süt Ürünleri Teknolojisi, Mikrobiyoloji

YABANCI DİLLER

İngilizce