

**FARKLI GIDALARDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN
NÜMERİK TAKSONOMİSİ**

Özlem ERTEKİN

**Eylül 2007
DENİZLİ**

**FARKLI GIDALARDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN
NÜMERİK TAKSONOMİSİ**

**Pamukkale Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

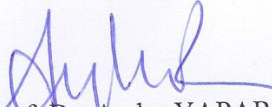
Özlem ERTEKİN

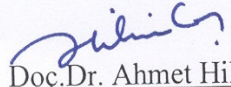
Danışman: Doç. Dr. Ahmet Hilmi ÇON

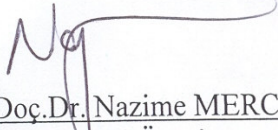
**Eylül 2007
DENİZLİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAY FORMU

Özlem ERTEKİN tarafından Doç.Dr. Ahmet Hilmi ÇON yönetiminde hazırlanan “**Farklı Gıdalardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Nümerik Taksonomisi**” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Aydın YAPAR
Jüri Başkanı


Doç.Dr. Ahmet Hilmi ÇON
Jüri Üyesi (Danışman)


Yrd.Doç.Dr. Nazime MERCAN
Jüri Üyesi

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
...../...../..... tarih vesayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet Ali SARIGÖL
Müdür

TEŞEKKÜR

Tamamlanan bu çalışmanın, planlanmasında, yürütülmesinde ve sonuçların yorumlanmasında baştan sona yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, fikir ve düşünceleriyle derin bilgi ve tecrübelerinden en iyi şekilde yararlandığım değerli danışman hocam Doç.Dr. Ahmet Hilmi ÇON'a,

Çalışmanın yürütülmesinde gerekli tüm olanakların kullanılabilmesi için düşünce ve katkılarını esirgemeyen Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanımız Prof. Dr. Aydın YAPAR'a,

Çalışma sonuçlarının bilgisayar programı ile değerlendirilmesi açısından desteklerini gördüğüm, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyeleri Doç.Dr. Nevzat ŞAHİN'e ve Yrd. Doç.Dr. Kamil IŞIK'a,

Bu çalışma projesini maddi olarak destekleyen "Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi"ne,

Çalışmalarım boyunca manevi desteğini her zaman üzerimde hissettiğim ve devam etmek istediğim akademik kariyer yapma yolunda atacağım her adımda, sabırla yanımda olacaklarına inandığım sevgili aileme,

Ve emeği geçen herkese,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Özlem ERTEKİN

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

İmza: *Ö. Ertekın*

Öğrenci Adı Soyadı: Özlem ERTEKİN

ÖZET

FARKLI GIDALARDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN NÜMERİK TAKSONOMİSİ

Ertekin, Özlem

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği ABD

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Ahmet Hilmi ÇON

Eylül 2007, 161 Sayfa

Araştırmada *Lactobacillaceae* familyasının üyelerinin geleneksel olarak uygulanan karbonhidrat fermantasyon testleri ile yapılan tanımlanmalarında karşılaşılan yetersizlik ve şüpheli durumların nümerik taksonomi ile aşılması amaçlanmıştır. Bakteriyal izolatların tanımlanmasında morfolojik, metabolik ve fizyolojik karakterlerin, standart tip suşlar (izolatlar) ile birlikte belirlenip nümerik taksonomi esasları dahilinde değerlendirilerek homojen gruplar halinde sınıflandırılmaları ve teknolojik özelliklerin tanımlanmaları gerçekleştirilmiştir.

Araştırmada peynir, turşu, sucuk, ekşi hamur gibi farklı gıdalardan elde edilen 32 izolat, 10 tip örneği ve rastgele seçilen 7 duplike izolat karbonhidrat fermantasyon, ağır metallere dayanıklılık, antibiyotiklere duyarlılık, biyokimyasal testler (Farklı sıcaklık, tuz, pH, ox-bile katkılarında gelişebilme, arginin hidroliz ve β -Galaktosidaz aktivitesi, Gram boyama) başlıkları altında denemeye tabi tutulmuştur. Testler sonucunda elde edilen veriler X-Taxon Programı kullanılmak suretiyle +/- olarak kaydedilmiştir. Duplike izolatların da dahil olduğu veri tabanındaki +/- sonuçlar 1/0 formatına dönüştürüldükten sonra NTS_{ys-pc} istatistiksel bilgisayar destekli paket program kullanılarak analizler yapılmıştır. Nümerik taksonomi sonucu izolatların S_{SM}-UPGMA analizine göre aralarındaki benzerlik ilişkisine göre dendogramları oluşturulmuştur.

Nümerik taksonomiye göre izolatlar 7 üyeli (benzerlik %89.4), 15 üyeli (benzerlik %89.4) ve 3 üyeli (benzerlik %90.7) olmak üzere 3 adet çok üyeli, 15 adet de tek üyeli kümeye ayrılmıştır. 3 çok üyeli kümenin birbiri ile benzerliği %80'dir. Bu değerler nümerik taksonomi değerlendirme kriterlerine göre taksonomik yapının iyi sonuçlandığını göstermektedir.

Araştırmada izolatların starter kültür üretimi ve probiyotik özellik açısından büyük önem taşıyan bazı endüstriyel karakterleri de belirlenmiştir. Araştırmada kullanılan izolatların pH değerleri 7. gün için 3.30-4.41 pH arasında ve ortalama 3.86 pH, asitlik dereceleri %1.07-2.47 arasında ve ortalama %1.79 olarak bulunmuştur. İzolatların hidrofobisite değerleri %0-50.82 arasında saptanmıştır. İzolatlardan *L.plantarum* ve *P.pentosaceus*'lar yüksek tuz ve safra tuzuna dayanıklılık, 3.5 ve 9.6 pH'da gelişebilme açısından daha toleranslı bulunurken; izolatların tamamı genellikle antimikrobiyal aktivite gösterme, gastrik suya, ağır metallere, antibiyotiklere ve H₂O₂'ye dayanıklılık, β -Galaktosidaz aktivitesi ve proteolitik aktivite gösterme ve %10-12 alkolde gelişme açısından starter kültür için aranan değerlere sahip bulunmuşlardır. İzolatların plazmid DNA profilleri de 0-8 plazmid aralığında bulunmuştur. Tüm bu veriler izolatların endüstriyel açıdan önemli özelliklere sahip olduklarını, starter ve probiyotik kültür olarak potansiyel taşıdıklarını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Laktik Asit Bakterisi, Nümerik Taksonomi, Dendogram, Starter Kültür, Probiyotik

Prof. Dr. Aydın YAPAR
Doç. Dr. Ahmet Hilmi ÇON
Yrd. Doç. Dr. Nazime MERCAN

ABSTRACT**NUMERICAL TAXONOMY OF LACTIC ACID BACTERIA
ISOLATED FROM DIFFERENT FOOD**

Ertekin, Özlem

M. Sc. Thesis in Food Engineering

Supervisor: Assoc.Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON

September, 161 Pages

In the research, numeric taxonomic study has been aimed at overcoming insufficiency and uncertain conditions which were encountered in the identification of members of the family *Lactobacillaceae* with classical tests of carbohydrate fermentation. In the identification of bacterial isolates, it was performed that morphological, metabolic and physiological characters were classified in homogeneous groups and their technological properties were characterized by specifying them with standard type of strains (isolates) and evaluating within the bases of numeric taxonomic study.

In the research, 32 isolates derived from different foods like cheese, pickle, sausage and sourdough; 10 specimens of them and the system of randomly selected 7 duplicate isolates carbohydrate fermentation tests have been subjected to the tests like endurance to heavy metals, sensitivity to antibiotics, biochemical tests (maturing at different temperature, salt, pH, ox-bile additives, activity of hydrolysis of arginine and β -Galactosidase, Gram straining). Data collected from the tests were recorded as +/- using X-Taxon Program. After converting +/- results in the database, including duplicate isolates, into 1/0 format, analysis of data was performed by using NTS_{ys-pc} statistical computer-aided program. After numeric taxonomic study, by S_{SM}-UPGMA analysis, dendrograms of the isolates were generated according to the similarities among them.

According to numeric taxonomy, the isolates, having 7 members (similarity is 89.4%), 15 members (similarity is 89.4%) and 3 members (similarity is 90.7%) were separated into groups of 3 multi-members and 15 single members. The similarity of the three groups is 80%. These values show that taxonomic structure led to a good result according to taxonomy valuation criterion.

In the research, some industrial characters of the isolates, which were of vital importance in starter culture production and probiotic property, were specified as well. pH values of the isolates used in the research were found between 3.30-4.41 pH for the 7th day, 3.86 pH on average; and acidity degrees of which were found between 1.07-2.47%, 1.79% on average. Hydrophobicity values of the isolates used in the research were determined between 0-50.82%. *L.plantarum* and *P.pentosaceus* isolates were found more tolerant in endurance to high salt, bile salt and maturation at 3.5 and 9.6 pH; all the isolates were generally found to have required values for starter culture in antimicrobial activity, endurance to gastric water, heavy metals, antibiotics and H₂O₂, showing β -Galactosidase activity, proteolytic activity and maturing in 10-12% alcohol. Plasmid DNA profiles of the isolates were determined within the plasmid interval of 0-8 . All these data show us that the isolates have industrially important characteristics and also have potentials as starter and probiotic culture.

Keywords: Lactic Acid Bacteria, Numerical Taxonomy, Dendrogram, Starter Culture, Probiotic

Prof. Dr. Aydın YAPAR

Assoc. Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON

Asst. Prof. Dr. Nazime MERCAN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Yüksek Lisans Tezi Onay Formu.....	i
Teşekkür Sayfası.....	ii
Bilimsel Etik Sayfası.....	iii
Özet.....	iv
Abstract.....	vi
İçindekiler.....	viii
Tablolar Dizini.....	x
Şekiller Dizini.....	xii
Ekler Dizini.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL VE METOT.....	19
2.1. Materyal.....	19
2.2. Metot.....	20
2.2.1. Mikrobiyolojik analizler.....	20
2.2.1.1. Antimikrobiyal aktivite spektrumunun belirlenmesi.....	20
2.2.1.2. Tanımlama testleri.....	20
2.2.1.2.1. Gram boyama.....	20
2.2.1.2.2. Katalaz testi.....	20
2.2.1.2.3. Glukozdan gaz üretimi.....	21
2.2.1.2.4. Arginin hidrolizi testi.....	21
2.2.1.2.5. Karbonhidrat fermantasyon testleri.....	21
2.2.1.3. Farklı pH değerlerinde gelişme.....	22
2.2.1.4. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme.....	22
2.2.1.5. Farklı sıcaklıklarda gelişme.....	22
2.2.1.6. Proteolitik aktivite.....	22
2.2.1.7. Toplam asit üretme yeteneği.....	24
2.2.1.8. β -Galaktosidaz testi.....	24
2.2.1.9. Hidrofobisite.....	25
2.2.1.10. Hidrojen peroksit duyarlılık.....	25
2.2.1.11. Gastrik suya dayanıklılık.....	26
2.2.1.12. Safra tuzuna dayanıklılık.....	26
2.2.1.13. Alkole dayanıklılık.....	26
2.2.1.14. Antibiyotiklere duyarlılık.....	27
2.2.1.15. Plazmid DNA izolasyonu.....	27
2.2.1.16. Ağır metallere dayanıklılık.....	29
2.2.1.17. Nümerik taksonomi.....	30
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	32
3.1. Nümerik Taksonomi.....	32
3.1.1. Verilerin toplanması.....	32
3.1.2. Verilerin kodlanması.....	35
3.1.3. İstatiksel analiz.....	35
3.1.4. Son veri matrisi ve test hatasının hesaplanması.....	35
3.1.5. S_{SM} -UPGMA analizine göre nümerik taksonomi.....	36
3.2. İzolatların Endüstriyel Özelliklerine Göre Değerlendirilmesi.....	47

3.2.1. Antimikrobiyal aktivite spektrumu.....	47
3.2.2. Farklı sıcaklıklarda gelişme.....	53
3.2.3. Farklı pH değerlerinde gelişme	57
3.2.4. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme.....	60
3.2.5. Proteolitik aktivite.....	64
3.2.6. Toplam asit üretme yeteneği.....	68
3.2.7. β -Galaktosidaz testi.....	74
3.2.8. Hidrofobisite.....	76
3.2.9. Hidrojen peroksit duyarlılık.....	79
3.2.10. Safra tuzuna dayanıklılık.....	82
3.2.11. Gastrik suya dayanıklılık.....	85
3.2.12. Alkole dayanıklılık.....	87
3.2.13. Plazmid DNA izolasyonu.....	90
3.2.14. İzolatların temel özellikleri.....	93
3.2.15. Antibiyotiklere duyarlılık.....	97
3.2.16. Ağır metallere dayanıklılık.....	109
4. SONUÇ.....	116
KAYNAKLAR.....	121
EKLER.....	132
ÖZGEÇMİŞ.....	161

TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 3.1 Test hatasını tespit etmek için duplikat olarak kullanılan izolatlar.....	32
Tablo 3.2 Nümerik taksonomi çalışmasında kullanılan birim karakterler.....	33
Tablo 3.2 Devam.....	34
Tablo 3.3 S_{SM} -UPGMA analizinde oluşan çok üyeli kümelere göre test izolatları ve tip izolatının dağılımı ve kaynakları.....	38
Tablo 3.4 S_{SM} -UPGMA analizinde oluşan tek üyeli kümelere göre test izolatlarının ve tip izolatlarının dağılımı ve kaynakları.....	39
Tablo 3.5 S_{SM} -UPGMA analizine göre dağılım gösteren kümelerin izolat sayısı ve benzerlik seviyeleri.....	40
Tablo 3.6 Duplike izolatların karşılaştırılması ile test hatasının hesaplanması.....	40
Tablo 3.6 Devam.....	41
Tablo 3.6 Devam.....	42
Tablo 3.6 Devam.....	43
Tablo 3.6 Devam.....	44
Tablo 3.7 Küme 1 izolatlarının antimikrobiyal aktivite değerleri.....	48
Tablo 3.8 Küme 2 izolatlarının antimikrobiyal aktivite değerleri.....	49
Tablo 3.9 Küme 3 izolatlarının antimikrobiyal aktivite değerleri.....	50
Tablo 3.10 Tek üyeli kümelerin antimikrobiyal aktivitesi.....	51
Tablo 3.11 Küme 1 izolatlarının farklı sıcaklık değerlerinde gelişimi.....	53
Tablo 3.12 Küme 2 izolatlarının farklı sıcaklık değerlerinde gelişimi.....	54
Tablo 3.13 Küme 3 izolatlarının farklı sıcaklık değerlerinde gelişimi.....	55
Tablo 3.14 Tek üyeli kümelerin farklı sıcaklık değerlerinde gelişimi.....	56
Tablo 3.15 Küme 1 izolatlarının farklı pH değerlerinde gelişimi.....	58
Tablo 3.16 Küme 2 izolatlarının farklı pH değerlerinde gelişimi.....	59
Tablo 3.17 Küme 3 izolatlarının farklı pH değerlerinde gelişimi.....	59
Tablo 3.18 Tek üyeli kümelerin farklı pH değerlerinde gelişimi.....	60
Tablo 3.19 Küme 1 izolatlarının farklı % NaCl değerlerinde gelişimi.....	61
Tablo 3.20 Küme 2 izolatlarının farklı % NaCl değerlerinde gelişimi.....	61
Tablo 3.21 Küme 3 izolatlarının farklı %NaCl değerlerinde gelişimi.....	62
Tablo 3.22 Tek üyeli kümelerin farklı %NaCl değerlerinde gelişimi.....	63
Tablo 3.23 Küme 1 izolatlarının proteolitik aktivite değerleri.....	65
Tablo 3.24 Küme 2 izolatlarının proteolitik aktivite değerleri.....	66
Tablo 3.25 Küme 3 izolatlarının proteolitik aktivite değerleri.....	66
Tablo 3.26 Tek üyeli kümelerin proteolitik aktivite değerleri.....	67
Tablo 3.27 Küme 1 izolatlarının pH değerleri ve toplam asit üretim miktarları	69
Tablo 3.28 Küme 2 izolatlarının pH değerleri ve toplam asit üretim miktarları.....	70
Tablo 3.29 Küme 3 izolatlarının pH değerleri ve toplam asit üretim miktarları.....	71
Tablo 3.30 Tek üyeli kümelerin pH değerleri ve toplam asit üretim miktarları.....	71
Tablo 3.31 Küme 1 izolatlarının β -Galaktosidaz aktivitesi sonuçları.....	74
Tablo 3.32 Küme 2 izolatlarının β -Galaktosidaz aktivitesi sonuçları.....	75
Tablo 3.33 Küme 3 izolatlarının β -Galaktosidaz aktivitesi sonuçları.....	75
Tablo 3.34 Tek üyeli kümelerin β -Galaktosidaz aktivitesi sonuçları.....	76
Tablo 3.35 Küme 1 izolatlarının % hidrofobisite değerleri.....	77
Tablo 3.36 Küme 2 izolatlarının % hidrofobisite değerleri.....	78
Tablo 3.37 Küme 3 izolatlarının % hidrofobisite değerleri.....	78
Tablo 3.38 Tek üyeli kümelerin % hidrofobisite değerleri.....	79

Tablo 3.39 Küme 1 izolatlarının H ₂ O ₂ konsantrasyonlarında % gelişme değerleri....	79
Tablo 3.40 Küme 2 izolatlarının H ₂ O ₂ konsantrasyonlarında % gelişme değerleri...	80
Tablo 3.41 Küme 3 izolatlarının H ₂ O ₂ konsantrasyonlarında % gelişme değerleri.....	81
Tablo 3.42 Tek üyeli kümelerin H ₂ O ₂ konsantrasyonlarında % gelişme değerleri...	81
Tablo 3.43 Küme 1 izolatlarının farklı ox-bile içeriğinde gelişme sonuçları	82
Tablo 3.44 Küme 2 izolatlarının farklı ox-bile içeriğinde gelişme sonuçları.....	83
Tablo 3.45 Küme 3 izolatlarının farklı ox-bile içeriğinde gelişme sonuçları	83
Tablo 3.46 Tek üyeli kümelerin farklı ox-bile içeriğinde gelişme sonuçları	84
Tablo 3.47 Küme 1 izolatlarının gastrik suya dayanıklılık sonuçları.....	85
Tablo 3.48 Küme 2 izolatlarının gastrik suya dayanıklılık sonuçları.....	86
Tablo 3.49 Küme 3 izolatlarının gastrik suya dayanıklılık sonuçları.....	86
Tablo 3.50 Tek üyeli kümelerin gastrik suya dayanıklılık sonuçları.....	87
Tablo 3.51 Küme 1 izolatlarının alkole dayanıklılık sonuçları.....	88
Tablo 3.52 Küme 2 izolatlarının alkole dayanıklılık sonuçları.....	88
Tablo 3.53 Küme 3 izolatlarının alkole dayanıklılık sonuçları.....	89
Tablo 3.54 Tek üyeli kümelerin alkole dayanıklılık sonuçları.....	89
Tablo 3.55 Küme 1 izolatlarının plazmid DNA sayıları	90
Tablo 3.56 Küme 2 izolatlarının plazmid DNA sayıları.....	91
Tablo 3.57 Küme 3 izolatlarının plazmid DNA sayıları.....	91
Tablo 3.58 Tek üyeli kümelerin plazmid DNA sayıları.....	92
Tablo 3.59 Küme 1 izolatlarının temel özellikleri ve izolasyon kaynakları.....	93
Tablo 3.60 Küme 2 izolatlarının temel özellikleri ve izolasyon kaynakları.....	94
Tablo 3.61 Küme 3 izolatlarının temel özellikleri ve izolasyon kaynakları.....	95
Tablo 3.62 Tek üyeli kümelerin temel özellikleri ve izolasyon kaynakları.....	95
Tablo 3.63 Küme 1 izolatlarının antibiyotik duyarlılık testi sonuçları.....	98
Tablo 3.64 Küme 2 izolatlarının antibiyotik duyarlılık testi sonuçları.....	99
Tablo 3.65 Küme 3 izolatlarının antibiyotik duyarlılık testi sonuçları.....	103
Tablo 3.66 Tek üyeli kümelerin antibiyotik duyarlılık testi sonuçları.....	104
Tablo 3.67 Küme 1 izolatlarının ağır metallere dayanıklılık testi sonuçları.....	109
Tablo 3.68 Küme 2 izolatlarının ağır metallere dayanıklılık testi sonuçları.....	110
Tablo 3.68 Devam.....	111
Tablo 3.68 Devam.....	112
Tablo 3.69 Küme 3 izolatlarının ağır metallere dayanıklılık testi sonuçları.....	112
Tablo 3.70 Tek üyeli kümelerin ağır metallere dayanıklılık testi sonuçları.....	113
Tablo 3.70 Devam.....	114
Tablo 3.70 Devam.....	115

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1 S_{SM} -UPGMA analizine göre test izolatları ve tip izolatları arasındaki ilişkiyi gösteren dendogram.....	37
Şekil 3.2 Tirozin standart kurvesi.....	64

EKLER DİZİNİ

	Sayfa
Ek-1 Çalışmada izolatlara uygulanan karbonhidrat fermantasyon testleri ve sonuçları.....	133
Ek-1 Devam.....	134
Ek-1 Devam.....	135
Ek-1 Devam.....	136
Ek-2 Çalışmada izolatlara uygulanan ağır metallere dayanıklılık testleri ve sonuçları.....	137
Ek-2 Devam	138
Ek-2 Devam	139
Ek-2 Devam	140
Ek-2 Devam	141
Ek-2 Devam.....	142
Ek-3 Çalışmada izolatlara uygulanan antibiyotik duyarlılık testleri ve sonuçları.....	143
Ek-3 Devam.....	144
Ek-4 Çalışmada izolatlara uygulanan biyokimyasal testler ve sonuçları.....	145
Ek-4 Devam.....	146
Ek-5 Nümerik taksonomide kullanılan karbonhidrat fermantasyon testleri ve sonuçları.....	147
Ek-5 Devam.....	148
Ek-5 Devam.....	149
Ek-5 Devam.....	150
Ek-6 Nümerik taksonomide kullanılan ağır metallere dayanıklılık testleri ve sonuçları.....	151
Ek-6 Devam.....	152
Ek-6 Devam.....	153
Ek-6 Devam.....	154
Ek-7 Nümerik taksonomide kullanılan antibiyotik duyarlılık testleri ve sonuçları.....	155
Ek-7 Devam.....	156
Ek-8 Nümerik taksonomide kullanılan biyokimyasal testler.....	157
Ek-8 Devam.....	158
Ek-9 Çalışmada kullanılan test karakterlerinin kısaltmaları.....	159
Ek-9 Devam.....	160

1.GİRİŞ

Taksonomi; organizmaların özelliklerini ve çeşitliliklerini, organizmalar arasındaki farklılıkları ve ilişkileri ortaya koyan, sınıflandırma, isimlendirme, identifikasyon, genetik mekanizma analizi, filogeni ve evrimsel süreçleri içeren temel bir bilim dalıdır. Genel sistematik içerisinde yer alan bakteriyal sistematik, başlangıçta, sezgiye dayalı bir bilim dalı olarak ortaya çıkmış olmasına rağmen, daha sonraları, kimyasal, moleküler ve nümerik fenetik işlemlerin uygulanması ve hızla artan gelişimi ile bir bilim dalı haline gelmiştir (Goodfellow ve Q'Donnell 1993, Goodfellow ve Q'Donnell 1994).

Bu bilimin temelleri, günümüzden yaklaşık 250 yıl kadar önce İsveçli botanik bilgini Carl von Linne'nin taksonomik kategoriler için genel kuralları ortaya koyması ile atılmıştır. von Linne canlıların özelliklerini tanımak ve tarif etmek için bir sistem koymanın yani, her organizmaya ayrı bir isim vermenin bilimsel çalışmalarda kaosu önleyeceğini çok önceden düşünmüştür (Johansson 1999).

Bakteriyal sınıflandırma ilk olarak patojenik bakterilerin ayırt edilmesine gereksinim duyulmasından ortaya çıkmıştır. Özellikle buna sebebiyet veren özel hastalıklar; typhoid, tüberküloz, frengi ve antrakstır. Bu hastalık etmenleri ile aynı habitat içinde bulunan komensal ve saprofit bakterilerin birbirinden ayrılması hedeflenmiştir. Antibiyotik çağdan önce bakteriyal taksonomi tıbbi mikrobiyologların en önemli ilgi alanı olmuştur. Bu alana ilgi patojenik mekanizmalar ve mikrobiyal direnç üzerine ilginin artması ile azalmıştır. Bununla beraber, epidemiyolojik çalışmalar ve takipler için kesin tanımlamalara halen ciddi gereksinim duyulmakta ve tür bazında identifikasyon en önemli epidemiyolojik işaret olarak kabul edilmektedir. Bu araştırmalar biyoteknoloji ve taksonomide çok büyük gelişmeler sağlamıştır. Taksonomik metotlar, endüstrinin ve modern ilaç üretiminin gereksinim duyduğu moleküler karakterizasyon testleri ile deneysel biyokimyasal testlerin kombine edilerek kullanımıyla gittikçe gelişmektedir (Grimont 1999).

Taksonomi; sınıflandırma, isimlendirme ve tanımlama olmak üzere birbirinden farklı ama kendi içlerinde birbirleri ile ilişkili üç alanı kapsamaktadır (Grimont 1999, Johansson 1999).

Sınıflandırma, organizmaların gruplandırılarak veya ortak benzerlikleri ya da evrimdeki ilişkileri esas alınarak takson (çoğulu: taksa) adı verilen gruplar içinde düzene konmasıdır. İsimlendirme, her organizma türünün çeşitli taksonomik dizilerine yayımlanmış kurallara uygun olarak isim verme işlemidir. Tanımlama ise taksonominin uygulamalı yönüdür; organizmaların özelliklerini saptama ve kaydetme, dolayısı ile hangi taksona ait olduklarını tayin etme işlemidir. Bu şekilde bu organizmalar tam bir taksonomik şema içinde yerleştirilebilirler (Grimont 1999, Johansson 1999).

Sınıflandırmada günümüze kadar kullanılan bazı özellikler aşağıdaki şekilde açıklanabilir.

Morfolojik Karakterler: Morfolojik özelliklerin karşılaştırılmasının mikroorganizma taksonomisinde büyük değeri vardır, çünkü birçok genin ekspresyonuna bağlı olan yapı özellikleri genetik bakımdan genellikle sabittir ve en azından ökaryotlarda çevredeki değişmelere bağlı olarak büyük ölçüde değişmez. Katı besiyerinde koloni morfolojileri ve sıvı besiyerinde gelişme karakteristikleri genellikle cins karakteristikleri olarak değerlendirmeye alınmaktadır (Çakmakçı ve Karahan 1995, Grimont 1999, Johansson 1999).

Bakterilerin yapısında yer alan veya almayan flagella, pili, kapsul ve endospor gibi yapılar sınıflandırmaya yardımcı olabilmektedir. Böylece morfolojik benzerlik iyi bir filogenetik ilişki göstergesi olmaktadır. Ayrıca bakterilerin teşhislerinde boyanma farklılıkları teşhisin ilk basamağını teşkil etmektedir. Hücre şekli, hücre büyüklüğü, koloni morfolojisi, boyanma özelliği, siller ve filagella, hareket mekanizması, endosporun şekli ve yeri, spor morfolojisi ve yeri, hücredeki iç cisimler ve renk morfolojik özellikler olarak sınıflandırmada önem taşımaktadır (Çakmakçı ve Karahan 1995, Grimont 1999, Johansson 1999).

Fizyolojik ve Metabolik Özellikler: Bu özellikler mikroorganizma enzimleri ve transport proteinlerinin yapı ve aktiviteleri ile doğrudan ilgili olduğundan çok önemlidir. Proteinler gen ürünleri olduğundan bu özelliklerin analizi mikroorganizma genomlarının karşılaştırılmasına dolaylı olarak olanak sağlar. Diğer yandan atmosferik oksijenin varlığında gelişme yeteneği taksonomik belirleyicilikte önemlidir (Grimont 1999, Johansson 1999). Taksonomik belirleyicilikte önemli olan bazı fizyolojik ve metabolik özellikler; karbon ve azot kaynakları, hücre duvarı yapıları, ışın saçma, hareket, ozmotik basınca dayanma, oksijenle ilişkiler, çoğalma için (optimum, en

yüksek, en düşük) sıcaklık dereceleri, çoğalma için (optimum, en yüksek, en düşük) pH dereceleri, genel beslenme tipi, enerji dönüşümü mekanizmaları, enerji kaynakları, fermantasyon ürünleri, fotosentez pigmentleri, tuz gereksinimleri ve tuz toleransı, metabolik inhibitörlere ve antibiyotiklere duyarlılık, oluşturulan ikincil metabolitler ve depo maddeleri olarak gösterilebilir (Johansson 1999).

Ekolojik Özellikler: Mikroorganizmaların buldukları ortamla ilişkilerini etkileyen ekolojik özellikler taksonomi açısından da değerlidir. Zira, çok yakın mikroorganizmalar bile ekolojik özellikleri açısından önemli farklar gösterebilirler. Simbiyotik ilişkilerin niteliği, belli bir konakta hastalık yapabilme yeteneği, ısı, pH, oksijen ve ozmotik yoğunluk gereksinimleri taksonomik bakımdan önemli ekolojik özelliklerdir (Johansson 1999).

Biyokimyasal Aktiviteler: Mikrobiyolojide kullanılan biyokimyasal testler, bakterilerin metabolik aktivitelerinin ortaya konulmasında faydalanılan deneysel çalışmalardır. Biyokimyacıların kullandığı testlere karşın (bilinen protein içerikleri ile hücre ekstratları üzerine kantitatif olarak yapılan), mikrobiyologlar tarafından kullanılan testler genel olarak kompleks bir besiyeri içerisindeki substratları ve belirlenmemiş bir bakteri sayısını içerecek şekilde yapılır. Karbon kaynağı kullanım testleri taksonomi için çok yararlıdır (Grimont 1999). Bu testin uygun minimal agar, saf karbon kaynağı, doğru sıcaklık ile NaCl, MgCl₂ ve gelişme faktörlerini içeren besiyerinde yapılması gereklidir.

Karbonhidrat kaynakları üzerine etki eden enzimatik aktivite bakteriler arasındaki farklılıkları tespit için geniş ölçüde kullanılır. Hatta son derece birbirine yakın bakteriler seçilmiş karbonhidratların kullanım kabiliyetine göre birbirlerinden ayrılabilir (Çakmakçı ve Karahan 1995).

Genetik Özellikler: Ökaryotların çoğu eşeyli üreyebildiklerinden bunların sınıflandırılmasında genetik analizlerin büyük yararı olmuştur. Prokaryotlarda eşeyli üreme olmadığı halde transformasyon ve kojugasyon yolu ile genlerdeki değişimin incelenmesi sınıflandırmada bazen yararlı olmaktadır. Transformasyon farklı bakteri türleri arasında olur, farklı cinsler arasında gerçekleşmesi nadirdir. Bakterilerde transformasyon genomlar benzer olmadıkça gerçekleşemediğinden iki köken arasında transformasyonun gösterilmesi yakın benzerliğin belirtisidir (Johansson 1999).

Konjugasyon çalışmaları, özellikle enterik bakteriler arasında yapılanlar, taksonomiye yararlı veriler sağlamaktadır. Plazmidler de birçok bakteri türünde bulunmadıkları ve çoğu fenotipik özellikleri kodlayan genler taşıdıklarından taksonomi için önemlidirler (Johansson 1999).

Moleküllere Ait Özellikler: Proteinler ve nükleik asitlerin incelenmesi taksonomiye büyük yararı olan çalışmalardır. Bu moleküller ya doğrudan gen ürünü olduklarından ya da genlerin kendileri olduklarından, protein ve nükleik asitlerin karşılaştırılması gerçek benzerlikler hakkında önemli bilgiler verir. Bu özellikler üç başlık altında incelenir. Bunlar; protein içeriklerine göre sınıflandırma, nükleik asitlerin baz sıralanışına göre sınıflandırma, nükleik asit hibridizasyonuna göre sınıflandırmadır.

Serolojik Özellikler: Seroloji kan serumu ile ilgili bilime verilen isimdir. Özellikle serumda bağışıklık özellikleri esas alınır. Bakteriyal hücreler çok farklı antijenler içerirler. Bu antijenler monoklonal veya poliklonal antikorlar ile farklı immunolojik yöntemler ile belirlenebilirler. Yüzey antijenleri protein, polisakkarit, lipopolisakkarit özelliindedirler ve monospesifik poliklonal antikorlarla tüm hücre aglutinasyon testi ile kolayca belirlenebilirler. Antijenik karakteristikler bakterileri serotip veya serogruplara ayırmada kullanılırlar. Antikorlar proteinlerdir, kanda dolaşırlar ve bakterilere yüksek oranda bağlanırlar. Bu antikorlara antiserum adı verilmektedir. Antiserumlar günümüzde ticari olarak üretilmekte ve tıbbi bakımdan önemli bakterilerin teşhisinde kullanılmaktadır (Çakmakçı ve Karahan 1995, Johansson 1999).

Kimyasal Kompozisyon: Lipitlerin, fosfolipitlerin, mikolik asitlerin, yağ asitlerinin, isoprenoid quinonesin, peptidoglikan hidrolizatlarının kromatografisi kemotaksonomiye oluşturur. Bu metotlar bazı bakteri grupları için esastır. Yağ asitlerinin gaz likit kromatografisi sonuçları standardize edilmiş ve karakterizasyon için bir sistem oluşturulmuştur. Bakterilerin tanımlanmasında ticari olarak kullanılmaktadır (Grimont 1999).

Bazı laboratuvarlarda tüm hücrenin protein elektroforezi tanımlama amaçlı olarak kullanılmaktadır. Ancak sonuç çok kompleks olduğu için değerlendirme bilgisayar ile yapılabilmektedir. Ayrıca, elde edilen sonuçların laboratuvarlar arası karşılaştırılabilirliği de düşüktür (Grimont 1999). Enzim elektroforezi ise önemli bir taksonomik değerdir. Bu yöntemde tek gen ürünü olan 10-20 enzim elektroforeze tabi tutulur. Her bir enzim için belirlenen elektromorf kaydedilir ve her bir farklı suşun

gösterdiği genetik farklılık elektromorflar arasındaki farklılıktan hareketle belirlenir. Bu yöntem bakteriyal populasyon içinde ancak belirli klonlar için kullanılabilir. Farklı türler ise bu yöntem ile kolayca ayrılır.

Günümüze kadar bakteriyal sınıflandırma filogenetik (doğal) ve yapay sınıflandırma olarak ikiye ayrılmaktaydı. Bunlardan filogenetik sınıflandırma için basit morfolojik ve fizyolojik özellikler yeterli gelmemektedir. Çünkü bu sınıflandırma akrabalığı dikkate almakta ve çok daha karmaşık kimyasal özelliklerin belirlenmesini de gerektirmektedir. Yapay sınıflandırma ise araştırmaya alınan bir mikroorganizmanın morfolojik ve fizyolojik özelliklerini belirleyerek önceden verilen bir anahtara göre tanısını gerçekleştirmektedir (Şahin 1990).

Günümüzde ise bilgisayarların geliştirilmesi ile sınıflandırmada sayısal (nümerik) taksonomi adı verilen nicel yaklaşımlara olanak veren üçüncü bir sınıflandırma şekli (Nümerik Taksonomi) bulunmuştur.

Nümerik Taksonomi: Nümerik olarak kodlanan ve birer karakter olarak ifade edilen veriler için çeşitli matematiksel yöntemlerin uygulanması ve organizmaların kapsamlı benzerliğine dayanarak kümelere yerleştirilmesiyle dendogramlar şeklinde ilişkilerin ortaya konmasıdır (Manfio 1995). Bu sınıflandırma pek çok araştırmacı tarafından bakteri sistematğinde uygulanmaktadır (Sneath ve Sokal 1973, Sneath 1978a, Goodfellow ve Dickinson 1985, MacDonell ve Colwell 1985, Sackin ve Jones 1993).

Bu sınıflandırmada mikroorganizmaların birçok özelliği ile ilgili bilgiler sayısal analiz için uygun bir şekle dönüştürülmekte ve sonra bir bilgisayar yardımı ile karşılaştırılmaktadır. Ortaya çıkan sınıflandırma, her birine eşit ağırlık verilmiş birçok özelliğin karşılaştırılması ile değerlendirilen genel benzerliklere dayanmaktadır. Bu yöntem kullanılarak doğru ve güvenilir bir sınıflandırma için; en az 50, ideal olarak 100-200 adet morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik verilerden oluşan karakter karşılaştırılmalıdır (Sackin ve Jones 1993, Johansson 1999).

Nümerik taksonomi çalışmasında başarılı ve güvenilir sonuçlar için, çevresel faktörlerden etkilenmeyen, tek gen ya da operonun ekspresyonunu temsil eden karakterlerin seçimi büyük önem taşımaktadır. Böyle karakterler stabil olduğu için güvenilir doğal sınıflandırmalar elde edilmektedir. Pratikte, organizmaların mümkün

olduğu kadar çok, biyolojik yönlerini temsil eden bir seri test kullanmak gerekmektedir. İdeal bir test listesi; koloni ve mikromorfoloji verilerini, gelişme karakterlerini, biyokimyasal testleri, inhibitör ajanların etkisini, enerji ve gelişme için tek karbon kaynağı bileşikleri, serolojik, kemotaksonomik ve moleküler genetik bilgileri içermektedir. Amaç; taksonlar arasındaki akrabalık ilişkilerini gösterecek veya farklılıkları belirleyecek yeterli bilgiyi elde etmek olduğu için çalışmada kullanılan izolatların tümüyle pozitif veya tümüyle negatif sonuç verdiği testler taksonomik çalışmada intra-takson ayırt edici özelliğe sahip değildir ve son veri değerlendirme matriksinden çıkartılabilmektedir (Priest ve Austin 1993).

Nümerik taksonomide uygulanan test yöntemi ve bu yöntemin optimizasyonu da önem taşımaktadır. Besiyeri formülasyonu, inokülasyon metotları, inkübasyon süresi ve sıcaklığı, ekim miktarı ve mikroorganizmanın gelişme fazı (logaritmik faz olmalı) standart olmalıdır (Williams vd 1983, Priest ve Austin 1993).

1940'larda, çok sayıda antibiyotiğin *Streptomyces* türleri tarafından üretildiği keşfedildikten sonra cins üzerinde yoğun izolasyon çalışmaları başlatılmış, bunun sonucunda da çok sayıda *Streptomyces* türü tanımlanmış ve patentlenmiştir (Anderson ve Wellington 2001). *Streptomyces* sistematigi üzerine yapılan ilk çalışmalar, daha çok morfolojik ve pigmentasyon özelliklerine dayalı olduğundan *Streptomyces* tür sayısında patlamaya neden olmuştur. Bununla birlikte, yeni türlerin sınıflandırılması ve tanımlanması için kabul edilebilir metotların eksikliği, bu türlerin morfolojik ve kültürel özelliklerindeki farklılıklara göre adlandırılmasına neden olmuştur. Böylelikle tanımlanan *Streptomyces* tür sayısı 1970'lerde 3000'e kadar yükselmiştir ve tanımlanan bu türler sadece patent literatürde yer almıştır. Bu suşların çoğunun birbirlerinin sinonimi olduğu düşünülmektedir (Anderson ve Wellington 2001). *Streptomyces* sistematigindeki problemlerin giderilmesindeki en büyük katkıyı çok sayıda fenotipik özelliklerin kullanılmasıyla karakterize edilen nümerik taksonomi sağlamıştır. Nümerikal taksonomi veritabanlarından elde edilen bilgiler kullanılarak, *Streptomyces* identifikasyonu için muhtemel veritabanları oluşturulmuştur (Williams vd 1983, Anderson ve Wellington 2001). Nümerik taksonomik metotlarla tanımlanmış taksonlar, çok fazla sayıda karakter bakımından test edildikleri için stabil taksonlardır. Bu nedenle, nümerik taksonomi; tür ve tür altı kategorilerindeki *Actinomycetes*'ler arasındaki ilişkileri açıklamada kullanılan en güvenilir yol olarak kabul edilmiştir (Goodfellow ve Dickinson 1985, Öztürk 2000).

Günümüzde türler arasındaki ilişkileri açıklamada güvenilir yol olarak kabul edilen nümerik taksonomiden laktik asit bakterilerinin sınıflandırılmasında da yararlanılmalıdır. Çünkü gıda fermantasyonlarında kullanımlarının yaygınlığından dolayı laktik asit bakterileri, metabolik özellikleri, gelişme performansı, endüstriyel prosese direnç, son üründe yaşama kabiliyeti, raf ömrü vb. özellikler açısından karakterize edilmektedir. Bu çalışmalara ilave olarak, teknolojik kabullerin yapılması, güvenlik ve kalite kontrolün geliştirilmesi de önemli bir kriter olmuştur. Bu bağlamda laktik asit bakterilerinin güvenilir olarak tanımlanması çok önemli bir noktaya işaret etmektedir. Son 10 yılda, bilimsel topluluklar, insan tüketimi için kullanılan bakterilerin tanımlanmasının iyileştirilmesine özel ilgi duymuşlardır (Temmerman vd 2004). İşte bu noktada, laktik asit bakterilerinin sınıflandırılmasında nümerik taksonominin önemi ortaya çıkmaktadır.

Doğada çok yaygın olarak bulunduğu bilinen laktik asit bakterileri ile ilgili çalışmalar mikrobiyoloji bilim dalının doğuşu ile birlikte başlamıştır. İlk kez 19. yüzyıl sonlarında sütte fermantasyona ve koagülasyona yol açan bakteriler laktik asit bakterileri olarak isimlendirilmiş ve daha sonraki yıllarda *Lactobacillaceae* familyası içerisinde sınıflandırılmışlardır.

Laktik asit bakterileri, tabiatta yaygın oluşları, çeşitli gıda maddelerinde sıkça rastlanılan bozulmalara neden olmaları ve bazı gıdaların üretim ve olgunlaştırılmasında önemli rol oynamaları nedeniyle gıda teknolojisinde büyük önem taşımaktadır. Çiğ materyalin laktik asit bakterileri ile fermente edilerek yeni gıdaların üretilmesi ve çeşitli gıdaların bu yöntemle muhafazası en eski muhafaza metotlarından birisi olarak kabul edilmektedir. Süt bu bakteriler ile yoğurt, ekşi süt, peynir, tereyağı vb. ürünlere işlenmektedir. Tüm dünyada yaygın olarak tüketilen fermente et ürünleri ve farklı sebzelerden üretilen turşular laktik asit fermantasyonu ile hazırlanmakta ve muhafaza edilmektedir (Gökalp 1982, Andersson 1989, Mayra-Makinen ve Bigret 1993, Sánchez vd 2000). Laktik asit bakterilerinin belirleyici metaboliti laktik asittir ve doğal habitatları; insanlar, hayvanlar ve bitkilerdir (Temmerman vd 2004).

Morfolojik açıdan çok değişken özellik gösteren (kısa veya uzun çomak veya kok şekilli) laktik asit bakterisi familya üyeleri, fizyolojik açıdan oldukça benzer özellik göstermektedirler. Tüm üyeler; Gram-pozitif, katalaz negatif (düşük oranda şeker ihtiva eden ortamda pseudokatalaza sahip suşlar görülebilir), *Sporolactobacillus inulinus* hariç spor oluşturmeyen, fakültatif anaerobik, *Pediococcus* cinsi hariç yalnız tek

düzlemde bölünen ve bazı istisnalar hariç hareketsiz, çubuk veya kok şeklinde bakteriler olarak tanımlanmaktadır (Sharpe vd 1966, Şahin 1990). Mutlak fermantatifler ve asıl fermantasyon ürünü olarak laktik asit üretmektedirler. Hem grubu (katalaz, stokrom) içermeksizin oksijen varlığında gelişebilen nadir mikroorganizmalardır. Doğal habitatları süt ve süt mamülleri, işlenmemiş, taze veya çürümüş bitkiler, insan ve hayvanların bağırsak mukoza ve içerikleridir (Schlegel 1986, Tunail ve Köşker 1989).

Laktik asit bakterileri çeşitli gıdalardaki faaliyetleri sonucu karbonhidratlardan (heksozlardan) laktik asit üretme yeteneğine sahip mikroorganizmalardır ve bu mikroorganizmalar cins ve tür özelliklerine bağlı olarak karbonhidratlardan laktik asit yanında asetik asit, karbondioksit, alkol ve bazı tat ve aroma maddeleri üretebilmektedirler. Bunların dışında laktik asit bakterileri gıdaların bozulmasında rol oynayan mikroorganizmalar ve insanlarda hastalıklara neden olan patojen mikroorganizmalar üzerinde de ürettikleri asit ve bazı antimikrobiyal maddeler (bakteriosinler vb.) nedeniyle antogonistik etkiye sahiptirler. Bu nedendir ki laktik asit bakterilerinin faaliyetiyle üretilen fermente gıdalar, gıda zehirlenmeleri ve enfeksiyonları düşünüldüğünde insan sağlığı açısından daha güvenilir gıdalar olarak kabul edilebilmektedir (Turantaş 1999).

Dünyada asidik gıda fermantasyonlarının yaygınlaşması ve endüstriyel üretime kaymasıyla, baskın fermantasyon mikroflorasının meydana gelmesinde starter laktik asit bakterilerinin kullanımı büyük önem taşır konuma gelmiştir. Laktik asit bakterileri sadece peynir ve diğer fermente mandıra ürünlerinin çeşitliliğini artırmakla kalmayıp, aynı zamanda diğer ham materyallerin fermente edilmesinde de bilinçli olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bunlar içerisinde tahıl, sebze, meyve (meyve püreleri) ve et vb. ile bunlardan hazırlanan gıdalar önem taşımaktadır. Laktik asit bakterileri sağlıklı gıda ürününü elde etme, lezzeti geliştirme ve muhafazada önemlidir. Bununla beraber, laktik asit bakterileri gıda katkılarının, nutrasetiklerin ve endüstriyel kimyasalların biyoteknolojik üretimleri üzerine yürütülen (bakteriyoloji ve moleküler biyoloji esas olan) çalışmalar için de önem taşımaktadırlar. Ayrıca laktik asit bakterilerinin özel suşları insan vücut sisteminde sağlıkça yararlılık sağlayan probiyotikler ve gıda katkıları olarak da kullanılmaktadır. Bu bakterilere karşı endüstriyel ilgi, bu bakterilerin endüstriyel ve medikal uygulamaları nedeniyle her geçen gün artmaktadır. Laktik asit bakterilerinin gıda için fonksiyonel karakterizasyon göstermesinden ve biyokimyasal

özelliklerinden dolayı, genetikle ilgili aktiviteleri çok geniş alanda araştırılmaktadır (Salminen vd 2006).

Laktik asit bakterileri, fermantasyonun yönlendirilmesi ve hızlandırılmasında, bir fermente gıdanın üretiminde ham materyale katılan ve istenilen hücre sayısını artıran mikrobiyal bir araçtır (Leroy ve De Vuyst 2004). Laktik asit bakteri cinsine ait türlerin kullanıldığı yerler birbirinden farklılaşmıştır. Buna göre: *Lactobacillus*'lar süt, et, sebze ve tahılda; *Lactococcus*'lar sütte, *Leuconostoc*'lar süt ve sebze; *Pediococcus*'lar sebze ve ette, *Oenococcus*'lar şarapta; *Enterococcus*'lar ve *Streptococcus*'lar da sütte kullanılmaktadır. Filogenetik olarak laktik asit bakterilerine ait olmamasına rağmen bazı suşları laktik asit bakterilerine benzer özellik gösteren *Bifidobacterium*, *Propionibacterium* ve *Brevibacterium* da gıda endüstrisinde starter olarak kullanılmaktadır (Temmerman vd 2004).

Bugün endüstriyel anlamda fermente gıdaların üretiminde starter kültür kullanımı esastır. Son yıllarda fonksiyonel gıdaların endüstriyel üretiminde starter kültür olarak kullanılan laktik asit bakterilerinin yeni starter kültürleri geliştirilmiştir. Starter laktik asit bakterileri; mikrobiyal güvenliği sağlama, daha iyi organoleptik özellik gösterme, şeker polimerleri, tatlandırıcılar, aromatik bileşenler, vitaminler ve yararlı enzimler üretme gibi teknolojik anlamda faydaları ile besleyicilik açısından faydaları ve probiyotik özellik göstermesi avantajlarıyla önem taşımaktadır. (Paul Ross vd 2002, Leroy ve De Vuyst 2004, Temmerman 2004). Laktik asit bakterileri organik asitlerin üretimiyle ham materyalin asidifikasyonunu artırmakta, asetik asit, etanol, aroma bileşikleri, bakteriosinler, eksopolisakkaritler ve önemli birkaç enzimin üretimini sağlamaktadır. Son üründe tekstürün düzeltilmesine katkıda bulunmaktadır (Leroy ve De Vuyst 2004). Günümüzde gıda ve sağlık arasında ilişki kurulduğunda laktik asit bakterilerinin tüketiciye büyük yarar sağladığı ispatlanmıştır. Tüm bunların sonucu olarak da, laktik asit bakterilerinin ilgili suşlarıyla, sağlığı koruyucu özellikler gösteren gıda ürünlerinin marketlerde fonksiyonel gıdalar olarak satışa sunulması son yıllarda dikkate değer bir gelişme göstermiştir.

Bugüne kadar gıda katkı maddeleri organoleptik özelliklerin düzenlenmesi ve gıdaların bozulmadan muhafazasında gerekli kabul edilmiştir. Ancak bugün gıda katkılarının kullanımı doğal olmayan ve güvenilir olmayan uygulamalar olarak görülmekte ve katkıların kullanımının azaltılması; taze, güvenilir, lezzetli, şeker, yağ, tuz içeriği düşük ve kolay hazırlanan ürünler marketlerde tercih edilmektedir. Ancak

bunu sağlamaya yönelik olarak sadece ham materyal ile üretim yapmak her zaman mümkün olmamaktadır. Örneğin peynir yapımında, ham süt yüksek düzeyde geleneksel özellikleri taşıyan çeşitli peynirlerin üretimine olanak sağlamakta, ancak *Listeria monocytogenes* gibi güvenlik risklerinin oluşmasına da sebebiyet vermektedir. Diğer taraftan pastörizasyon ise flavor kaybını beraberinde getirmektedir. Bu durum pazar isteklerini dikkate alma açısından gıda endüstrisini baskı altına almaktadır. İşte bu noktada gıda fermantasyonunda, starter kültürlerin kullanımı alternatif uygulamalardan birisi olarak ortaya çıkar. Ancak, ne yazık ki endüstriyel starter kültürler, üretim çeşitliliği ve gerekli karakteristikler açısından eksiktir ve arzulanan ticari yetenekleri sınırlıdır. Gıda mikroflorasının metabolizmalarının ve genomiklerin anlaşılma isteğindeki artış, starterlerin gelişmesi için yeni bir bakış açısı getirmekte ve moleküler biyolojik çalışmaların starter kültürler ve starter kültürlerin istenmeyen özellikleri üzerine yönelmesini sağlamaktadır (Leroy ve De Vuyst 2004).

Fermente gıdaların önceki üretimlerinde ham materyalde bulunan doğal mikrofloranın gelişimi ile gerçekleşen spontane (kendiliğinden) fermantasyon esastır. Son ürünün kalitesi, ham materyalin özellikleri ve mikrobiyal florasına bağlıdır. Bu nedenle spontane fermantasyon bir önceki iyi kaliteli ürünün bir kısmının, bir sonraki üretimde aşılama materyali olarak kullanılması (back slopping) ile optimize edilmiştir. Böylece, back slopping istenilen suşların baskınlığıyla sonuçlanmış, fermantasyon prosesi kısaltarak fermantasyonda başarısızlık riski azalmıştır. Back slopping sauerkraut ve ekşi hamurun üretimi ile mikrobiyal ekoloji ile üretilen ürünlerin önemli bir kısmında kullanılmaktadır. Bugün, halen fermente gıdaların ve içeceklerin üretiminde spontane fermantasyon ve back slopping az gelişmiş ülkelerde güvenilir ucuz muhafaza metodu olarak tanımlanmaktadır (Leroy ve De Vuyst 2004). Seçilmiş starter kültürlerin direk kullanılması, fermantasyon prosesinin üzerinde yüksek derecede kontrol ve son üründe standardizasyon sağlamaktadır. Starter suşlar, fizyolojik ve metabolik özellikleri doğrulanmış doğal habitatlardan veya başarılı fermente ürünlerden izole edilmiş mikroorganizmalar olmaktadır (Leroy ve De Vuyst 2004).

Laktik asit bakterilerinin probiyotik özellikleri son yıllarda büyük ölçüde ön plana çıkmıştır. Probiyotikler kavramı ilk kez 1900'lerde kullanılmış olmakla birlikte bu terim 1965'te Lilly ve Stillvell tarafından türetilmiştir. Probiyotik kavramı, insan ve hayvanlarda, doğal mikroflora ile sisteme yararlı etkiler sağlayan canlı mikroorganizmaları ifade etmektedir (Soomro vd 2002). Probiyotikler 1992 yılında

Havendar ve Huis in't Veld tarafından da "insan ve hayvana uygulandığında doğal mikroflorada amaçlanan düzelme için yararlı etkiler gösteren, canlı mikroorganizmaların tek veya karışım kültürü" olarak tanımlanmıştır (Sanders 1995).

En iyi çalışılan probiyotikler laktik asit bakterileridir. Bunlar içerisinde yer alan *Lactobacillus*'lar ve *Bifidobacterium*'ların yararlı etkileri yıllardır tartışılmıştır. Günümüzde ticari ürünlerde kullanılan probiyotik bakterilerin başlıca üyeleri *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* generasıdır. Bu iki cins üyeleri gastrik aside, safra tuzuna ve pankreatik enzimlere direnç göstermekte, bağırsak mukozasına yapışmakta ve bağırsak sisteminde kolonize olmaktadır (Rolfe 2000). Probiyotik suşlardan bazıları *Lactobacillus*'lardan *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus gasseri* ve *Lactobacillus reuteri*, *Bifidobacterium*'lardan *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* ve *Bifidobacterium infantis*'i içermektedir (Heller 2001, Soomro vd 2002).

Çok uzun yıllardır, bağırsak sağlığının yoğurt ve süt gibi günlük fermente ürünlerin kullanımıyla iyileştirildiği şeklinde kurulan bağlantılar modern bilim tarafından da iyi bir şekilde desteklenmiştir. Bakterilerin toksik etkisinin ve patojenik bakterilerin gelişiminin önlenmesine yardım eden *Lacidophilus* probiyotiğinin yeteneği iyi bir şekilde anlaşılmıştır (Soomro vd 2002).

Probiyotiklerin gastrointestinal sistem üzerinde olumlu etkileri, bağışıklık sisteminde veya endogenous floranın modülasyonunda doğrudan veya dolaylı olmaktadır (Marteau vd 2001, Sullivan ve Nord 2002). Probiyotikler immun sisteminin modüle edilmesinde, kolesterolü düşürmede, romatizma iltihabının tedavisinde, kanserin önlenmesinde, laktoz intoleransının düzeltilmesinde ve atopik deri yangısının azaltılması veya korunmasında, ishal, Crohn's hastalığı, üriner sistem enfeksiyonlarında tedavi edici olarak kullanılmıştır. Bu probiyotik ajanlar içerisinde çeşitli *Lactobacillus* suşlarının yer aldığı yüzlerce literatür de görülmektedir (Reid 1999).

Lactobacillus spp. ve *Bifidobacterium* spp. bağırsak mikroflorasının önemli üyeleridir ve probiyotik bakteri olarak ortak şekilde çalışmaktadırlar. Laktoz intoleransını azaltmada, kandaki kolesterolü düşürmede, bağışıklık tepkilerinin artmasında ve kanseri önlemede etkilidirler. Laktik asit bakterilerinin in-vitro koşullarda *Salmonella typhimirium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*,

Clostridium perfringens ve *Clostridium difficile* içeren çoğu enterik patojenin gelişimini inhibe ettiği kanıtlanmıştır (Rolfe 2000).

Geleneksel fermente mandıra ürünleri, günümüzde hala Romanya'nın günlük gıdasında çok önemli bir yere sahiptir. Romanya ham süt ve fermente mandıra ürünlerinde en sıklıkla bulunan laktik asit bakterilerinin, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc spp.* ve *Enterococcus spp.* olduğu tespit edilmiştir. Son araştırmada yeni bir tür olarak *E.saccharominimus* bulunmuştur (Zamfir vd 2006).

Starter kültür laktik asit bakterisi laktozun fermantasyonu ile laktik asidin üretiminde belirleyici rol oynamaktadır. Laktik asit, ham peynirlerin asidik flavorunun oluşmasında ve peynirin kesilmesi tekstüründe ve fermantasyonun gerçekleşmesinden sorumlu olmaktadır. İlave olarak, starterlerin buradaki asıl rolleri: Uçucu flavor bileşenlerinin üretimi yani diasetil ve asetaldehitler ile peynir olgunlaşmasında gerekli olan proteolitik ve lipolitik enzimlerin sentezini yapmak ve patojenlerin durdurulmasını sağlamaktır. Böylece peynir üretiminde kullanılan starter kültürler peynir kalitesinin belirlenmesinde çok önemli olmaktadır (Kayagil 2006).

Olgunlaşma süresince süttten asit üretimi ve flavor gelişimi starterlerin proteolitik aktivitesi ile ilgili olmaktadır. Laktik asit bakterilerinin proteolitik aktivitesi, onların kendi gelişimleri için aminoasitlerin üretimine yardım etmektedir. Bacillus'lar, Pseudomonas, Enterococcus ile karşılaştırıldığında laktik asit bakterileri düşük proteolitik aktivite göstermesine rağmen bu aktivite peynir olgunlaşmasında önemli rol oynamaktadır. Yüksek proteolitik aktiviteli starter kültürler sert peynirleri olgunlaştırırken kullanılmıştır. Yarı sert peynirler için olgunlaşma süresi 2-3 aydır ve düşük proteolitik aktivite gerekmektedir. Proteazlar peptidazlar ile dengelenmezse, peynirde yüksek oranda bulunursa acılaşmaya ve tekstür eksikliğine neden olabilmektedir. Starter olarak kullanılan 4 cins Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc ve Streptococcus'dur. Beşinci cins olarak Pediococcus son zamanlarda fazlaca önerilen bakteri cinsidir (Kayagil 2006).

Başka bir çalışmada peynir üretiminde starter kültürlerin kullanımının peynir altı suyunun ayrımını teşvik ettiği ifade edilmiştir. Bu starterler patojenik bakterilerin gelişimini inhibe etmekte, aroma bileşiklerini ve olgunlaşma derecesini artırmaktadır. Böylece ürünün lezzeti, aroması daha etkili olmakta ve starter kültür kombinasyonları

(DVS ve liyofilize kültürler) ile yüksek kaliteli peynir üretimi gerçekleştirilmektedir (Dağdemir vd 2003).

Peynirde starter kültür kullanımında istenilen özellikler; yüksek asit üretim kabiliyeti olması, iyi lezzet ve koku üretmesi (istenen dozda ve kombinasyonda), yüksek proteolitik aktivitede olmaması dolayısıyla hızlı olgunlaşma ve acılaşımaya neden olmaması, patojenleri inhibe etmek için yüksek antogonistik aktivitede olması, fajlara dirençli olması, antibiyotiklere karşı direnç göstermesi, peynir üretim sıcaklığında gelişebilmesi ve elbetteki tuz konsantrasyonlarına dirençli olmasıdır (Kayagil 2006).

Türk beyaz peynirleri üretiminde *L.lactis* ssp. *lactis* ve *L.lactis* ssp. *cremoris*'in farklı oranlardaki karışımı yüksek kalitedeki beyaz peynirlerin üretiminde sıklıkla kullanılmaktadır (Dağdemir vd 2003).

Laktik asit bakterilerinin kullanıldığı diğer bir fermente ürün sucuktur. Sucuk olgunlaştırılmış taze etlerin önce kıyma haline getirildikten sonra tuz ve diğer katkı maddeleri ile karıştırılıp bağırsağa doldurulduktan sonra doğal koşullarda veya hızlandırılmış yöntemlerle kurutulup, olgunlaştırılmasıyla elde edilen geleneksel çiğ üründür (Çon 1995) Bir başka deyişle fermente kuru sucuklar yağ ve yağsız et, tuz, nitrat veya nitrit, şeker ve özel maddelerin (çoğunlukla keklikotu ve siyah karabiber) bütünüyle karışımı ve kılıflanması ve bunu fermantasyon ve kurutmanın izlemesiyle oluşan ürünler olarak tanımlanmaktadır (Ammor ve Mayo 2007).

Laktik asit bakterilerinin sucuk hamurundaki görevi hamura katılan şekerden (genellikle glikoz) en kısa zamanda laktik asit üretmeleridir. Laktik asit hamurun pH'sını düşürmektedir. Bunun dışında laktik asit bakterileri kas proteinlerinin yapısını etkilemekte, sonuç olarak son ürünün dilimlenme kabiliyetini artırmakta, kür edilmiş sucuğun tipik pembe renginden sorumlu olmakta yani nitrosomyoglobinin myoglobine reaksiyonunu sağlamaktadır. Bununla beraber serbest asitlerin ve asetik asit tatlarını oluşturarak son ürün lezzetine katkıda bulunmaktadır. Organik asitlerin üretimi son ürün güvenliği ve raf ömrü üzerinde de belirleyici bir faktör olmaktadır. Patojenik ve bozucu mikrofloranın inhibisyonu bu organik asitlerin yeterli formasyonu ve hızı üzerine bağlanmaktadır. Hızlı pH düşüşü ve negatif starter kültürler ile sucuktaki biyojenik aminlerin birikimi önlenmektedir (Ammor ve Mayo 2007).

Sucukta bakteriyal starter kültürün kullanımı 1940'da konu edilmiştir. Ticari starter kültürler geliştirilmiştir ve 1957'de et endüstrisine sunulmuştur (Everson vd 1970). Fermente et ürünleri için bilinen starter kültürler *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Debaryomyces* ve *Penicillium* türleridir (Öztan 2003). *L.sake*, *L.curvatus*, *L.plantarum*, *L.pentosus*, *L.casei*, *P.pentosaceus* ve *P.acidilactici* ticari olarak ette yaygın kullanılan laktik asit starter kültürleridir. (Ammor ve Mayo 2007).

Mikroorganizmaların starter kültür olarak et ürünlerinde kullanılabilmesi için bu kültürler halofilik özellik göstermeli, nitrit tolerant olmalı (%6 NaCl konsantrasyonunda ve 150 ppm NaNO₂ bulunan ortamda çalışabilmeli), çalışma sıcaklık aralıkları 15-43°C olmalı, patojenik, toksik ve mutajenik özellik gösteren metabolitler ve biyojen aminler üretmemeli, mutlaka laktik asit üretmelidir. Eğer starter kültür olarak laktik asit bakterileri kullanılıyorsa mutlaka homofermantatif olmalı, proteolitik veya lipolitik olmamalı, hidrojen peroksit, asetik asit veya gaz üretmemeli, diğer starter görevi gören maddeleri tolere etmeli veya sinerjistik özellik göstermeli, nitratları indirgeyebilmeli, katalaz pozitif olmalı, H₂O₂ üretmemeli, nitriti nitrate yükseltmemeli, patojenik olmamalı, ürünün tat ve kokusunu olumlu etkilemelidir (Öztan 2003).

Sucuktaki laktik asit bakterileri önemli probiyotik etkiye de sahiptir. Probiyotik organizmalar zararlı popülasyonların aktivitesini önlemek veya yararlı aktivitelerin oluşumunda artış sağlamak, bağırsaktaki sağlıklı mikrobiyal dengeyi oluşturmak için tüketilir. Et ürünlerinin genellikle ısıtılmaması nedeni ile probiyotikleri yeterli oranda taşınmaları açısından büyük avantajları vardır (Ammor ve Mayo 2007).

Bir diğer fermente ürün olan ekşi hamur, un ve su karışımının laktik asit bakterileri ve mayalarla fermente edilmiş halidir. Bu mikroorganizmalar, genellikle undan, hamur katkılarından veya çevreden gelmektedir. Ekşi hamur fermantasyonları, hamurda amaçlanan özellikleri artırır; hacmi, tekstürü, flavoru, ekmeğin besleyici değerini geliştirir; ekmeğin (pazar veya sergide) rafta kalış süresini uzatır, şekilsel ve bakteriyal bozulmayı yavaşlatır (De Vuyst ve Vancanneyt 2007, Gänzle vd 2007).

Geleneksel olarak ekşi hamur, ekmeğin hamurunu mayalamak için ve asitliğin geliştirilmesi için kullanılmıştır. Bu geleneksel ekşi hamur fermantasyonları (tip 1 hamurlar) 20. yy'da fırıncılık mayasının da eklenmesiyle yenilenmiştir. *Lactobacillus*

sanfranciscensis genellikle sürekli olarak tip1 ekşi hamurdan izole edilmiş ve mayalamada ajan olarak kullanılmıştır. Bu nedenle bu mikroorganizmanın ekşi hamur için temsilci mikroorganizma olduğu düşünülmüştür. Gelişmiş fermantasyonlar ve spontane fermantasyonlar ile üretilmiş ekşi hamurlardan laktik asit bakterilerinin 40'ın üzerinde suşu izole edilmiştir (Gänzle vd 2007). Ekşi hamur mikroflorasında 3 anahtar suşun *L.sanfranciscensis*, *L.plantarum* ve *L.pontis* olduğu bildirilmiştir (Gänzle vd 2007).

Laktik asit bakterilerinin önemli olduğu bir diğer ürün turşudur. Turşu fermantasyonunda birçok mikroorganizma faaliyette bulunur. Asıl faaliyette bulunması istenen ise laktik asit meydana getiren laktik asit bakterileridir. Bu durum salamura suyundaki tuz konsantrasyonunu iyi ayarlamakla olmaktadır (Türker 1975). Genellikle turşu; sebze ve meyvelerin belirli tuz konsantrasyonlu salamura veya kendi öz suları içinde laktik asit bakterileriyle fermantasyona uğratılmaları ile oluşan, laktik asitin ve ortamdaki tuzun koruyucu etkisi sonucu uzun süre dayanıklılık kazanan ürünler olarak tanımlanmaktadır (Aktan vd 1999).

Laktik asit bakterileri ile ilgili farklı özelliklerden yararlanılarak birçok taksonomik çalışma yapılmıştır. Nijerya'da üretilen ogi ve 3 geleneksel nişastalı alkolik fermente içecekten elde edilen 120 adet *Lactobacillus* izolatının, İsveç ekşi hamurlarından elde edilen 18 referans suş ve *Lactobacillus*'un 50 adet tip suşu ile birlikte, 49 farklı karbonhidratın fermantasyon kabiliyetine göre fenotipik taksonomisi yapılmıştır. İzolatlar %82 benzerlik olan 7 ana gruba ayrılmıştır. Bunlardan 3'ü *L.plantarum* ve *L.plantarum* benzeri, diğerleri de *L.confosus*, *L.murinis*, *L.agilis* ve *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*'tir. *L.plantarum*'ların fenotipik özelliklerinin geniş sınır değerler içerisinde değiştiği de ifade edilmiştir (Johansson vd 1995).

L.plantarum'un akraba ilişkisi olan 140 soyunun farklılığı iki moleküler teknikle (RAPD ve Southern hibridizasyon) çalışılmıştır. Çalışılan soyların %93'ünden (56/60) fazlası RAPD ve hibridizasyon sonuçlarına dayalı klasifikasyonlarında birbirine yakın sonuçlar vermiştir. Fermantasyon testlerine göre kıyaslandığında *L.plantarum* olarak sınıflanan grupta melezitoz, α -metil-D-mannoside ve dulsitol kullanımı açısından farklılıklar belirlenmiştir (Bringel vd 2001).

Sağlıklı atların bağırsak mukozasından izole edilen *Lactobacillus*'ların identifikasyonları API 50 CH kiti kullanılarak yapılmıştır. *Lactobacillus*'lar seçici

kültür ortamından izole edilmiş (Her örnekten 1-2 izolat olmak üzere 51 toplam izolat) ve fenotipik olarak onların farklı karbonhidratları fermente kabiliyetleri karakterize edilmiştir. Yaklaşık 200 *Lactobacillus* cinsine ait fermantasyon test sonuçları ile *Lactobacillus* izolatlarının sonuçları karşılaştırılarak nümerik taksonomisi yapılmıştır. İzolatlar 10 farklı gruba sınıflandırılmıştır. İzolatların %4'ü tür bazında tanımlanamamıştır (Lönner ve Johansson 2005). Bu oran klasik tanımlamada elde edilen başarı oranından oldukça yüksektir.

Farklı üreticiler tarafından üretilen 12 İtalyan ewe peynirinden (6 farklı tipte) starter olmayan 400 adet muhtemel *Lactobacillus* izolatı elde edilmiştir. 123 izolat ve 10 tip suş fenotipik, genetik ve hücre duvarı protein karakterizasyon analizlerine tabi tutulmuştur. Fenotipik olarak, peynir izolatlarının %32'si *L.plantarum*, %15'i *L.brevis*, %12'si *L.paracasei* subsp. *paracasei*, %9'u *L.curvatus*, %6'sı *L.fermentum*, %6'sı *L.casei* subsp. *casei*, %5'i *L.pentosus*, %3'ü *L.casei* subsp. *pseudopantarum* ve %1'i *L.rhamnosus* olarak tanımlanmıştır. İzolatların %11'i ise fenotipik olarak tanımlanamamıştır (De Angelis vd 2001).

Endüstriyel olarak fermente edilmiş süttten 4 ve geleneksel olarak fermente edilmiş süttten 10 baskın laktik asit bakteri izolatı ile birlikte 14 referans *Lactobacillus* ve 3 *Lactococcus* suşu 32 karakter açısından test edilmiştir. Geleneksel olarak fermente edilmiş süttten izole edilen tüm izolatlar *Lactobacillus* cinsine ait bulunmuştur. Bunlardan *L.helveticus*, *L.plantarum*, *L.delbrueckii* subsp. *lactis*, *L.casei* subsp. *casei*, ve *L.casei* subsp. *pseudopantarum* türleri ile birlikte 3 izolat betabakteri veya streptobakteri olarak, 4 izolat da *L.lactis* olarak tanımlanmıştır (Feresu ve Muzondo 1990).

Modifiye edilmiş atmosfer koşullarında paketlenmiş domuz ve tavuk etinden 94 Gram-pozitif, katalaz negatif bakteri izole edilmiş ve sırasıyla 1.75 ve 2.5 kGy dozda ışınlanmıştır. Nümerik taksonomi sonucu grup 1, test suşlarının 78'i (%83) ile birlikte 3 *L.sake* suşunu içermektedir. Grup 2, 3 test suşu ile *C.piscicola* ve *C.divergens*'in tip suşlarını, grup 3, iki tavuk suşunu ve *L.curvatus*'u içirmiştir. Grup 4, domuz suşu ve *Leuconostoc dextranicum*'u, grup 5 ve 6 sırasıyla 4 domuz ve 2 tavuk suşunu içirmiştir. 4 test suşu ise çalışmada herhangi bir grup içerisinde yer almamıştır (Grant ve Patterson 1991).

Paketlenmiş soğutulmuş et ve et ürünlerinden izole edilen 94 adet laktik asit bakterisi, Brochothrix, Lactobacillus, Leuconostoc, Pediococcus ve Streptococcus'un 59 adet referans suşu kullanılarak 96 fenotipik karakterine göre sınıflandırılmıştır. Tüm mikroorganizmalar 2 veya daha fazla üyeye sahip 23 gruba %84 benzerlikte sınıflandırılmıştır (Borch ve Molin 1988).

Bozulmuş vakum paketlenmiş Viyana sosislerinden izole edilen 61 laktik asit bakterisi ile 15 referans suş 72 fenotipik özellik için test edilmiştir. Tanımlamada identifikasyon şeması ile bilgisayarda kayıtlı veriler kullanılarak yapılan tanımlamada cins düzeyinde iki yöntem arasında yüksek korelasyon (%86.9) bulunmuştur. Tür bazında ise bu oran %54.8'dir. Nümerik taksonomi ile sınıflanan 60 suş, 6 gruba (%89 benzerlikle) ayrılmıştır (Dykes vd 1994).

Tatlı su balığı ve onların çevresinden izole edilen 249 laktik asit bakterisinin tanımlaması ve sınıflandırması yapılmıştır. İzolatların yaklaşık olarak %90'ı (226 suş) Asetat agar üzerinde gelişmemiş ve fenotipik homojenitesine göre Carnobacterium olarak kabul edilmiştir. 22 suş ise Lactobacillus, Enterococcus, Lactococcus veya Vagococcus'tur. Bir izolat ise cins bazında tanımlanamamıştır. Yapılan çalışma sonucu; Carnobacterium'lar ile Lactobacillus'ların nümerik taksonomi ile ayrımının başarılı bir şekilde yapılabildiği, ancak Carnobacterium'ların tür bazında ayrımının yeterli açıklıkla yapılamadığı belirtilmiştir. Fenotipik özellikler esas alınarak yapılan nümerik taksonomisi sonucu oluşan 6 kümenin benzerlik düzeyi %86 bulunmuştur. UPGMA sistemi ile yapılan kümeleme işleminde 13 küme oluşturulmuştur. Bu kümelerden 7 tanesi 3 veya daha fazla izolatu içermiştir (González vd. 2000).

Nigatu (2000) yapmış olduğu çalışmada UPGMA kümeleme sistemine göre *L.brevis* DSM 20054'ün *L.plantarum* ATCC 14917 ve *L.plantarum* 488b ile %84 benzer olduğunu tespit etmiştir. *L.acidophilus* DSM 20079, *L.casei* subsp. *pseudoplantarum* ve diğer tip izolatu olan *L.casei* subsp.*pseudoplantarum* DSM 20008 ile %83 benzerlik göstermiştir.

Laktik asit bakterileri gıda endüstrisinde fermente gıdalar üretiminde en yaygın kullanılan mikroorganizma gruplarından birisidir. Çok sayıda türe sahip olan *Lactobacillaceae* familyasının üyeleri biyokimyasal testlerde izole edildikleri materyallere göre farklı özellikler gösterebilmektedir. Bu nedenle geleneksel olarak karbonhidrat fermantasyon testlerine göre yapılan tanımlamalarda önemli güçlüklerle

karşılaşılabilmektedir. Nitekim Çon (1995) tarafından yapılan çalışmada kullanılan izolatların 20 adedi (%20) fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre tür bazında tanımlanamamıştır. Bu nedenle izolatlar arasında tür ve tür altı seviyede ilişkiyi açıklamakta karbonhidrat test sonuçları yanında diğer özelliklerinin de dikkate alınması bir gereklilik gibi görülmektedir. Bu bağlamda elde edilen tüm ayırt edici özelliklere ait test sonuçlarının değerlendirmeye alındığı ve stabil taksonlar verdiği bildirilen (Şahin 1995) nümerik taksonominin, laktik asit bakterilerinin sınıflandırılmasında da kullanılmasının uygun olacağı düşünülmektedir. Bu konuda dünyada yapılmış birtakım çalışmalara rastlanmakla birlikte, halen yaygınlık kazanmamıştır. Ülkemizde ise laktik asit bakterileri nümerik taksonomisi ile ilgili bir çalışmaya, yapılan literatür taramasında rastlanmamıştır.

Nümerik taksonomi doğru ve güvenilir bir sınıflandırma için morfolojik, biyokimyasal, fizyolojik ve genetik olmak üzere birçok farklı verileri kullanmaktadır. Bu nedenle tür ve tür altı kategorileri arasındaki ilişkiler en güvenilir yoldan açıklanabilmektedir. Ülkemizde fermente ürünlerden izole edilen laktik asit bakterilerinin tür tanımlamalarının doğru olarak yapılması, bu ürünlerin üretiminde kullanılacak starter kültürün seçiminde de yönlendirici olacaktır. Doğru kültür kullanımı ile üretilebilecek istenilen özellikleri taşıyan kaliteli ve standart ürünler halk sağlığı ve beslenmesinde iyileşme sağlayacağı gibi ihraç imkanı da doğuracaktır. Bu durum üretici firmaların karını ve ülkemizin ihracat payını artıracak, ülke ekonomisine önemli katkılar sağlayacaktır.

Gerçekleştirilen çalışmada *Lactobacillaceae* familyasının üyelerinin geleneksel olarak uygulanan karbonhidrat fermantasyon testleri ile yapılan tanımlanmalarında karşılaşılan yetersizlik ve şüpheli durumların nümerik taksonomi ile aşılması amaçlanmıştır. Bakteriyal izolatların tanımlanmasında morfolojik, metabolik ve fizyolojik karakterler, standart tip suşlar ile birlikte belirlenip nümerik taksonomi esasları çerçevesinde değerlendirilerek hem homojen gruplar halinde sınıflandırılmaları, hem de tanımlanmaları hedeflenmiştir. İlâveten yapılan çeşitli testlerle izolatların endüstriyel özellikleri de belirlenerek starter ve probiyotik kültür açısından potansiyellerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Nümerik taksonomi çalışmasında bütün testlere tabi tutulacak suş setini; farklı gıdalardan izole edilen izolatlar ile uluslararası olarak kabul edilen tip suşlar (izolatlar) ve duplike izolatlar oluşturmuştur. Çalışmada peynir, sucuk, ekşi hamur ve turşudan izole edilmiş toplam 32 adet izolat ve uluslararası kültür koleksiyonlarından temin edilmiş toplam 10 adet tip izolatı kullanılmıştır. Testlerin güvenilirliğini kontrol etmek için, kullanılan izolat sayısının en az %10'u kadar rastgele seçilmesi gereken duplikat olarak 7 adet izolat (%16.7 duplikat) seçilmiş ve kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite spektrumunun belirlenmesinde de gıda maddelerinde önem taşıyan 4 farklı indikatör bakteri kullanılmıştır. Laktik bakterilerin çoğaltılması ve korunmasında M17 ve MRS broth ile MRS agar, indikatör izolatların çoğaltılması ve korunmasında da Nutrient broth ve Nutrient agar kullanılmıştır (Çon 1995).

Araştırmada izolatların proteolitik aktivitesinin belirlenmesinde %10'luk skim milk kullanılmıştır (Şimşek 2003). Kullanılan tüm laktik asit bakterileri MRS broth besiyerinde geliştirilmiş ve %15 gliserin içeren skim milk'te (Oxoid L31) -20°C de dondurularak (Sánchez vd 2000, Yüksekdağ vd 2004), MRS agarda +4°C'de batırma kültür olarak ve liyofilize edilerek muhafaza edilmiştir (Lewus vd 1991, Çon 1995, Tuomola ve Salminen 1998, Kask vd 2003, Yüksekdağ vd 2004). Liyofilizasyon için kültürler MRS brothda 24 saat çoğaltılmış ve kültürler 8000 rpm de 15 dk santrifüj edilmiş ve peptonlu su ile 3 kat derişik olarak resüspanse edilmiştir. Hücre süspansiyonundan 20g süttezu, 5g sukroz, 1g casitone ve 0.04g askorbik asit içeren ortama 0.5 ml ilave edilmiş, -70°C'de dondurulmuş ve takiben oda sıcaklığında 36 saat liyofilize edilmiştir.

2.2. Metot

2.2.1. Mikrobiyolojik analizler

2.2.1.1. Antimikrobiyal aktivite spektrumunun belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivitesi test edilecek bakteri izolatının bir gecelik kültüründen 10 µl alınarak bir gün önce hazırlanmış MRS-0.2 plaklarına birbirinden en az 30 mm aralıklı olacak şekilde aktarılmıştır. Plaklar 25-28°C'de 24 saat anaerobik olarak inkübe edilmiştir.

İndikatör mikroorganizmalar OD₆₀₀= 0.2-0.3 oluncaya kadar geliştirilerek %3 oranında MRS-0.2 yarı katı besiyerinin 7 ml'sine aşılanmıştır ve denenecek üretici izolatın daha önce geliştirildiği plaklar üzerine ikinci bir katman olarak dökülmüştür. Besiyeri katılaştırıldıktan sonra plaklar 30°C'de 24 saat aerobik koşullarda inkübe edilmiştir ve denenen izolatın kolonileri etrafındaki çoğalma olmayan berrak alanlar ölçülerek 0.5 mm'den daha büyük zona sahip olanlar pozitif olarak seçilmiştir (Schillinger ve Lücke 1989, Pepe vd 2004, Dal Bello vd 2007). Denemelerde *L.sake* Lb790, *L.monocytogenes* Li1, *A.hydrophila*, *E.faecium* indikatör mikroorganizma olarak kullanılmıştır.

2.2.1.2. Tanımlama testleri

2.2.1.2.1. Gram boyama

İzolatların 18-24 saatlik genç kültürleri Şimşek (2003) ve Kostinek vd (2007) metoduna göre test edilmiştir ve menekşe renkli koloniler Gram (+) olarak değerlendirilmiştir.

2.2.1.2.2. Katalaz testi

MRS agarda geliştirilen koloniler üzerine H₂O₂ damlatılmış ve binoküler altında gözlenen kolonilerin etrafında gaz habbeciklerinin görülmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Kim vd 2001, Carr vd 2002).

2.2.1.2.3. Glukozdan gaz üretimi

Durham tüpü içeren sitratsız MRS broth besiyeri izolatların 18 saatlik kültürleriyle aşılınmış ve 30°C de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresince her gün takip edilen tüplerden, Durham tüpü içerisinde gaz gözlenenler pozitif olarak işaretlenmiştir (Çon 1995, Kelly vd 1998, Hébert vd 2000, Papamanoli vd 2003, Randazzo vd 2004, Sánchez vd 2005, Şimşek vd 2006, Kostinek vd 2007)

2.2.1.2.4. Arginin hidrolizi testi

Bu test için, ornithin decarboxilaz/arginin dihidrolase temel besiyerinin (Merck) %0.5 L-arginine monohydrochloride ilave edilerek hazırlanan besiyeri kullanılmıştır (Çon 1995, Anonim 2005). Besiyeri 18 saatlik kültürlerle aşılınmış ve 30°C'de 7 gün inkübe edilmiştir. L-arginin monohydrochloride içeren tüplerde eflatundan sarıya dönen rengin tekrar eflatuna dönmesi ve aynı izolatın aşılandığı kontrol tüplerinde (L-arginin monohydrochloride içermeyen) ise oluşan sarı rengin değişmeden kalması sonucu pozitif olarak değerlendirilmiştir. Kontrol tüpleri ile birlikte L-arginin monohydrochloride içeren tüplerde rengin sarı olarak kalması ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Hébert vd 2000, Papamanoli vd 2003, Sánchez vd 2005, Şimşek vd 2006).

2.2.1.2.5. Karbonhidrat fermantasyon testleri

İzolatların çeşitli karbonhidrat kaynaklarını kullanım kabiliyetleri API 50CH test kiti (bioMeriux sa 69280 Marcy I'Etoile France) kullanılarak belirlenmiştir (Kelly vd 1998, Tuomola ve Salminen 1998, Hébert vd 2000, Albenzio vd 2001, Kask vd 2003, Badis vd 2004, Pepe vd 2004, Sánchez vd 2005, Bujalance vd 2006, Şimşek vd 2006, Kostinek vd 2007).

Denenecek izolatlar, biyokimyasal özelliklerin stabilitesi için, MRS buyyonda 30°C'de 24 saat 3 kez ardı ardına inkübe edilmiştir. Daha sonra sıvı kültürler 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant uzaklaştırılmıştır. Pellet 5 ml steril fizyolojik su içerisinde homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenizattan, 5 ml saf suya, 550 nm'de 0.50-0.75'lik optik dansite değerini elde etmek için ne kadar ilave edilmesi gerektiği belirlenmiş ve bu miktarın iki katı 10 ml CHL ortamına aşılınmıştır. Test kullanım kitapçığında belirtilen şekilde hazırlanan inkübasyon tepsisinin kapağı açılıp 50 kuyu içerisine taşmayacak şekilde, aşılınmış CHL medium Pasteur pipeti ile

ilave edilmiş ve kuyular mineral yağ ile doldurulmuştur. Böylece iyi bir anaerob ortam sağlanan striplerin bulunduğu tepsinin kapağı kapatılmış ve 30°C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 24. ve 48. saatlerinde asit üretimi olup olmadığı ve brom krezol purple içeren besiyerinde sarı renk oluşumu (esculin hariç diğer tüm karbonhidrat kaynaklarında), esculin içeren tüpte ise siyah renk oluşumu gözlenerek karar verilmiştir. Sonuçlar reaksiyonun intensitesine göre 0-5 arası puanlar verilerek test kitinin özel hazırlanmış kartlarına işlenmiştir. Negatif reaksiyon 0, pozitif reaksiyon 5 olarak alınmış, aradaki reaksiyonlara ise 1, 2, 3 ve 4 gibi puanlar verilmiş ve sonuçlar BioMeriux firmasının API 50CH’ye ait bilgisayar programı ile değerlendirilmiştir.

2.2.1.3. Farklı pH değerlerinde gelişme

3.0, 3.5 ve 9.6 pH’ya sahip 3.0 ml MRS broth besiyerine 18 saatlik kültürden öze ile aşılama yapılmış ve 30°C’de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Bulanıklık oluşan tüplerde gelişme pozitif olarak değerlendirilmiştir (Papamanoli vd 2003, G-allegria vd 2004).

2.2.1.4. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme

%3.0, 4.0, 5.0, 6.5, 8.0 ve 9.0 NaCl içeren 3.0 ml MRS broth besiyerine 18 saatlik kültürden öze ile aşılama yapılmış, 30°C’de 7 gün inkübe edilmiştir. Bulanıklık oluşan tüplerde gelişme pozitif olarak değerlendirilmiştir (Kelly vd 1998, Sánchez vd 2000, Kask vd 2003, Randazzo vd 2004).

2.2.1.5. Farklı sıcaklıklarda gelişme

MRS broth besiyeri hazırlanarak tüplere dağıtılmıştır ve 18 saatlik kültürden 2.5 ml’lik MRS broth besiyerine öze ile aşılama yapılmıştır. Test edilecek sıcaklıkta (10, 15 ve 45°C) 7 gün maksimum-minimum termometre varlığında inkübe edilmiş ve gelişme varlığı bulanıklık oluşumu ile değerlendirilmiştir. Gelişme bulanıklığının olduğu tüpler pozitif, olmadığı tüpler negatif kabul edilmiştir (Hébert vd 2000, Tassou vd 2002, Kask vd 2003, Papamanoli vd 2003, Şimşek vd 2006, Kostinek vd 2007)

2.2.1.6. Proteolitik aktivite

Proteolitik aktivite için 5 ml steril skim milk (%10’luk) besiyeri 18 saatlik kültürden %1 oranında aşılanmış ve 30°C’de 42 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon sonunda örneklere 1 ml destile su ve 10 ml 0.72 N Triklorasetik Asit (TCA) ilave edilerek karıştırılmış ve 10 dakika bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda örnekler Whatman 1 filtre kağıdından süzülmüştür. Filtratlardan 5 ml alınıp üzerine 10 ml Na_2CO_3 , $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ çözeltisinden konulup karıştırılmıştır. Ardından 3 ml fenol ayırıcı konularak mavi renk oluşana kadar sürekli karıştırılmıştır. Bu işlem sonunda örnekler 4500 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüj edilmiş ve santrifüj sonunda üstte kalan berrak mavi kısım alınarak spektrofotometrede 650 nm dalga boyunda OD ölçümleri yapılmıştır. Örneklerin proteolitik aktiviteleri standarda göre hesaplanmıştır. Proteolitik aktivitelerin tespiti için, oluşan aminoasitlere eşdeğer olarak tirozin aminoasiti esas alınmış ve hesaplama buna göre yapılmıştır (Aslım 1994, Yüksekdağ 2004, Şimşek vd 2006)

Proteolitik aktivite standart kurve eldesi: 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.12 mg/ml tirozin içerecek şekilde hazırlanmış 5 ml steril skim milk (%10'luk) besiyerine metotda belirtilen aynı işlemler yapılarak standart kurve çizilmiştir.

Proteolitik aktivitenin tespitinde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

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

Triklorasetik asit (TCA): 0.72 N TCA hazırlanmıştır.

$\text{Na}_2\text{CO}_3, \text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$: 75 gr Na_2CO_3 ve 10 gr $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ destile suda çözümlenerek 500 ml'ye destile suyla tamamlanmıştır.

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

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

ST1 (0.01 mg tirozin/ml) 5 ml skim-milk ortamına ana stoktan 125µl ilave edilmiştir.
 ST2 (0.02 mg tirozin/ml) 5 ml skim-milk ortamına ana stoktan 250 µl ilave edilmiştir.
 ST3 (0.04 mg tirozin/ml) 5 ml skim-milk ortamına ana stoktan 500 µl ilave edilmiştir.
 ST4 (0.06 mg tirozin/ml) 5 ml skim-milk ortamına ana stoktan 750 µl ilave edilmiştir.

ST5 (0.08 mg tirozin/ml) 5 ml skim-milk ortamına ana stoktan 1000 µl ilave edilmiştir.
 ST6 (0.10 mg tirozin/ml) 5 ml skim-milk ortamına ana stoktan 1250 µl ilave edilmiştir.
 ST7: (0.12 mg tirozin/ml) 5 ml skim-milk ortamına ana stoktan 1500 µl ilave edilmiştir.

2.2.1.7. Toplam asit üretme yeteneği

10 ml MRS broth besiyerlerine 18 saatlik kültürden %1 aşılama yapılmış ve 30°C'de 7 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyonun 1., 2., 3., ve 7. günlerinde pH ölçümü yapılmış ve 0.1 N NaOH ile toplam asit üretme yeteneği titrimetrik olarak ölçülmüştür. pH ölçümünde WTW Model pH metre kullanılmıştır. Böylece her izolatın pH değeri (Papamanoli vd 2003, Buriti vd 2005, Elez-Martínez vd 2005) ve % asit oluşturma yeteneği (laktik asit cinsinden) verilen formüle (Evren 1991) göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Asitlik} = \frac{V \cdot F \cdot E}{m} \cdot 100$$

V: Harcanan 0.1 N NaOH miktarı, ml.
 F: Titrasyonda kullanılan bazın normalitesi.
 E: 1ml 0.1 N NaOH'in eşdeğeri asit miktarı, g (0.009)
 m: Titre edilen örnek miktarı, ml ve g (10 ml).

2.2.1.8. β-Galaktosidaz testi

Laktozlu MRS brothda geliştirilen kültürden bir öze dolusu alınarak 0.25 ml fizyolojik suda süspanse edilmiştir. Süspansiyonun üzerine 0.25 ml Ortho Nitrofenil-D-Galaktopronosid (ONPG) peptonlu besiyeri ilave edilerek optimum sıcaklıkta (30°C'de) 3-4 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda tüplerde sarı rengin meydana gelmesi pozitif, renk değişikliğinin olmaması ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Hébert vd 2000, Anonim 2005).

ONPG peptonlu su hazırlamak için a çözeltisi ve b çözeltisi

a çözeltisi olarak: 100 ml destile su içinde 10 g tripton ve 5 gr NaCl eritilerek pH 7.5'a ayarlanmıştır. 121 °C'de 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir.

b çözeltisi olarak: a çözeltisinden 0.6 g alınarak 100 ml 0.01 M sodyum fosfat tamponunda (pH 7.5) çözülmüştür. 0.45 µm porlu filtreden geçirilerek sterilize edilmiştir. Daha sonra 30 ml a ve 10 ml b çözeltisinden alınarak karıştırılmış aseptik koşullar altında steril tüplere 2'şer ml dağıtılmıştır.

2.2.1.9. Hidrofobisite

MRS brothda 24 saat inkübe edilmiş kültür 7000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Çökelti üzerine 3 ml 50mM K₂HPO₄ (pH 6.5) tamponundan koyularak vortekslenmiş ve tekrar 7000 rpm de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Bu yıkama işlemi bir kez daha uygulanmış ve çökelti 2 ml K₂HPO₄ tamponu ile resüspanse edilmiştir.

Hücre süspansiyonu A₅₆₀ nm=1.0 olacak şekilde aynı tampon ile ayarlanmış ve absorbansı (A₅₆₀ nm) ölçülmüştür. Bu süspansiyondan 3 ml alınıp üzerine 0.6 ml n-hekzadekan eklenerek 120 sn vortekslenmiş ve takiben 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Meydana gelen 2 farklı fazdan üstteki sulu faz alınmış ve absorbansı (A₅₆₀ nm) ölçülmüştür. Sulu fazdaki absorbans değerindeki düşüş aşağıdaki formüle göre hesaplanarak % hidrofobisite olarak verilmiştir (Vindorela ve Reinheimer 2003).

$$\%H = [(A_0 - A) / A_0] \times 100$$

A₀: n-hekzadekan ile ekstraksiyondan önceki absorbans
A: n-hekzadekan ile ekstraksiyondan sonraki absorbans

2.2.1.10. Hidrojen peroksite duyarlılık

MRS brothda 24 saat inkübe edilmiş kültür 7000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Çökelti üzerine 3 ml 50mM K₂HPO₄ (pH 6.5) tamponundan koyularak vortekslenmiş ve tekrar 7000 rpm de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Bu yıkama işlemi bir kez daha uygulanmış ve çökelti 2 ml K₂HPO₄ tamponu ile resüspanse edilmiştir.

Elde edilen hücre süspansiyonu A₅₆₀ değeri =1.0 olacak şekilde K₂HPO₄ çözeltisi ile ayarlanmıştır. Elde edilen süspansiyondan 0.5'er ml alınarak 3 adet steril boş tüpe konulmuştur. Bu tüplerin her birisine sırasıyla 2000 (%0.2), 10000(%1) ve 20000(%2) ppm konsantrasyonlarındaki 4.5 ml H₂O₂ ilave edilmiş ve 1 dakika 37°C'de bekletilmiştir. Ardından bu tüplerden 0.1 ml alınarak 9.9 ml katalaz çözeltisine ilave edilmiştir. Hazırlanan bakteri süspansiyonundan H₂O₂ uygulanmadan önce ve uygulandıktan sonra yayma yöntemiyle ekim yapılarak mikroorganizma sayımı gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilerden aşağıdaki formül yardımıyla H₂O₂'e duyarlılık düzeyleri (% canlı kalan mikroorganizma) hesaplanmıştır (Shimamura vd 1992).

$$\% \text{ Canlı kalan mikroorganizma} = (X / X_0) \times 100$$

X₀: Kültürün başlangıç canlı mikroorganizma sayısı

X :H₂O₂ Uygulama sonrası canlı mikroorganizma sayısı

2.2.1.11. Gastrik suya dayanıklılık

Mide (gastrik) suyuna dayanıklılığı ölçmek için Gardiner vd (1999), Vindorela ve Reinheimer (2003) tarafından bildirilen metot kullanılmıştır. Mide içeriği benzeri ortamı hazırlamak için pepsin (%0.3 w/v) ve NaCl (%0.5 w/v) içeren gastrik bir solüsyon hazırlanarak HCl ile 2.0 pH ve 3.0 pH değerine ayarlanmıştır. Bir gecelik 10 ml kültür 5°C'de 6000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant kısmı dökülmüştür. Çökelti 50 mM K₂HPO₄ (pH 6.5) tamponuyla 2 kere yıkanmış ve aynı tamponun 3 ml'si ile resüspanse edilmiştir.

Elde edilen hücre süspansiyonundan 2 tüpe 1'er ml alınmış ve +5°C'de 12000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen çökeltilerden birisinin üzerine pH 2.0 olan mide suyu solüsyonundan, diğerinin üzerine pH 3.0 olan mide suyu solüsyonundan 10'ar ml eklenmiş ve 37°C'de 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyona koyulmadan önceki hücre sayısı, 3 saat inkübasyondan sonraki canlı hücre sayısı arasındaki fark plak sayım yöntemi ile belirlenerek mide suyuna dayanıklılık (% canlı kalan mikroorganizma) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Canlı kalan mikroorganizma} = (X / X_0) \times 100$$

X₀: Kültürün başlangıç canlı mikroorganizma sayısı

X : Gastrik su uygulama sonrası canlı mikroorganizma sayısı

2.2.1.12. Safra tuzuna dayanıklılık

Safra tuzuna dayanıklılık katı ve sıvı besiyerlerinde gerçekleştirilmiştir. Katı besiyerlerinde dayanıklılık için, MRS agar+%3 ox-bile, MRS agar+%5 ox-bile, MRS agar+%9 ox-bile içeren petrilere 18 saatlik kültürden öze ile nokta ekim yapılarak 30°C'de 7 gün inkübe edilmiştir. Koloni oluşturan izolatlar safra tuzuna dayanıklı olarak kabul edilmiştir (Cebeci ve Gürakan 2003, Papamanoli vd 2003). Sıvı besiyerinde test için ise, 18 saatlik kültürden 3 ml %9 ox-bile içeren MRS broth besiyerine öze ile ekim yapılmış ve 30°C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Besiyerinde gelişme bulanıklığı meydana getiren izolatlar dayanıklı olarak kabul edilmiştir.

2.2.1.13. Alkole dayanıklılık

Alkol testi için 18 saatlik kültürden, %10, %12, %15 oranlarında alkol içeren 2.5 ml'lik MRS broth besiyerine öze ile aşılama yapılmış ve 30°C'de 7 gün inkübasyona

birakılmıştır. İnkübasyon sonucu bulanıklık meydana gelen tüpler pozitif olarak değerlendirilmiştir (G-Allegria vd 2004).

2.2.1.14. Antibiyotiklere duyarlılık

Antibiyotik duyarlılık testi için, MRS broth besiyerinde 18 saat 30°C’de aktive edilmiş izolatlar, MRS agarlı petri kaplarına öze ile spotlanmıştır. Bir gece aerobik ortamda inkübe edilmiş ve gelişen kolonilerden öze ile alınarak peptonlu suda $\sim 10^8$ cfu/ml hücre içerecek şekilde süspansiyon hazırlanmıştır. Bu süspansiyondan 45°C’deki 5 ml’lik MRS soft agara %5 oranında aşılama yapılmıştır ve iyice karışması sağlandıktan sonra daha önceden 15 ml MRS agar dökülmüş petri kaplarına ikinci bir katman olarak dökülmüştür. 15 dakika beklenildikten sonra her bir petriye test edilen antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. 30°C’de 24 saat inkübasyondan sonra inhibisyon zonunun çapı ölçülerek izolatların antibiyotiklere duyarlılığı belirlenmiştir (Charteris vd 1998, Kelly vd 1998, Cebeci ve Gürakan 2003).

2.2.1.15. Plazmid DNA izolasyonu

İzolatların plazmid DNA profilleri Anderson ve McKay (1983) ve Hébert vd (2000) tarafından bildirilen metot modifiye edilerek belirlenmiştir. 18 saatlik kültürler MRS broth sıvı besiyerine %10 oranında aşılansmış ve 4 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra izolat örnekleri 6000 rpm’de 10 dakika santrifüjlenerek pelletler elde edilmiştir. Elde edilen pelletlerin üzerine 380 µl sakkaroz çözeltisi eklenerek pelletlerin iyi bir şekilde çözülmesi sağlanmıştır. 120 µl lizozim çözeltisi ilave edilerek 37°C’de su banyosunda 1 saat kadar tutulmuştur. 50 µl tris-EDTA 1 karışımından eklenerek karıştırılmış ve ardından 35 µl SDS çözeltisinden karıştırılarak 37°C’deki su banyosunda 15 dakika lizis olayının tamamlanması sağlanmıştır. Maksimum ayarda 30 sn vortekslendikten sonra 30 µl taze hazırlanmış 3 N NaOH çözeltisinden eklenerek ependorf tüpleri çalkalayıcı ile yatay zeminde 10 dk çevrilmiştir. 50 µl Tris-Cl ilave edilerek 3 dakika çalkalayıcı ile yatay zeminde çevrilmiştir. 72 µl NaCl (+4 °C) konularak elle iki kez ters yüz edilmiş ve ardısıra 700 µl %3 NaCl ile doyurulmuş fenol karışımından ilave edilerek 15000 rpm’de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Oluşan üst faz ara faza karıştırılmadan (~600 µl) yeni ependorf tüpüne aktarılmıştır. Örneklerin üzerine 700 µl kloroform-izoamilalkol(24/1) ilave edilerek 15000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiş ve üst faz karıştırılmadan yeni ependorfa alınmıştır. Ependorf tüplerine alınan miktar kadar (~600 µl) ethanol ilave edilerek -20 °C’de bir gece bekletilmiştir.

Bir gece bekletilmiş örnekler 15000 rpm'de 15 dakika santrifüjlenerek üst kısmı dökülmüş ve pelletler oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan pelletlerin üzerine 20 µl EDTA 2 tamponundan ilave edilerek iyice çözülmüştür. Üzerine 4 µl RNAaz çözeltilisinden konularak vortekste karıştırılmış ve su banyosunda 37°C'de 30 dakika bekletilmiştir. Takiben 4 µl brom krezol purple çözeltilisi ilave edilmiş ve %0.7'lik tris-asetat tamponu ile hazırlanmış agaroz jel kuyucuklarının herbirine 25 µl yüklenerek, tris-asetat tamponunda yürütülmüştür. Elde edilen bantlar ethidium bromide ile boyanarak jel görüntüleme sisteminde incelenmiştir.

Plazmid DNA izolasyonunda kullanılan besiyerleri ve çözeltiler

Sakkaroz Çözeltilisi (1)

Tris	0.6057 g	pH: 8.0
EDTA	0.0372 g	
Sakkaroz	6.70 g	
Destile Su	100 ml	

Lizozim Çözeltilisi (2)

Tris	0.03 g	pH: 8.0
Lizozim	0.20 g	
Destile su	10 ml	

Tris-EDTA 1 Çözeltilisi (3)

Tris	0.060 g
EDTA	0.931 g
Destile su	10 ml

SDS Çözeltilisi (4)

Tris	0.60 g	pH: 8.0
EDTA	0.74 g	
SDS	20.0 g	
Destile su	100 ml	

Oda sıcaklığında muhafaza.

Tris-Cl Çözeltilisi (5)

Tris-Cl	31.52 g	pH: 7.0
Destile su	100 ml	

Oda sıcaklığında muhafaza.

% 3 NaCl ile Doyurulmuş Fenol Çözeltilisi (6)

Fenol	100 g
NaCl	3.0 g
Hidroksiguinolin	0.1 g
Destile su	20 ml

100g fenol üzerine 3g NaCl ve 20ml steril saf su ilave edilmiş ve 45°C su banyosunda eritilmiştir. Çözeltiye koruma amaçlı olarak 0.1g hidroksiguinolin ilave edilmiştir. Takiben 2 faz oluşuncaya kadar steril saf su ilave edilmiştir. Çalışma süresince oda sıcaklığında tercihen karanlıkta bekletilmiştir.

Tris-EDTA 2 Çözeltisi (7)

Tris	0.121 g	pH: 8.0
EDTA	0.037 g	
Destile su	100 ml	

Oda sıcaklığında muhafaza.

RNAaz Çözeltisi (8)

0.05 M Sodyum asetat çözeltisi hazırlanmış ve pH'sı asetik asit kullanılarak 5.0 pH'ya ayarlanmıştır. Bu çözeltiden 5 ml alınıp, 5 mg RNAaz ilave edilmiştir. Kaynar su içinde 5 dakika bekletildikten sonra -20°C'de saklanmıştır.

Brom Krezol Purple (Marker Boya) Çözeltisi (9)

Brom krezol purple	0.25 g	pH: 8.0
Tris	0.60 g	
Gliserol (%50'lik)	100 ml	

Tris-Asetat Tamponu (10)

Tris	4.84 g	pH: 8.0
Na-Asetat	4.08 g	
EDTA	0.37 g	

2.2.1.16. Ağır metallere dayanıklılık

Test izolatlarının ağır metallere karşı dayanıklılıkları "Agar kuyu difüzyon" metodu kullanılarak MRS agar besiyerinde belirlenmiştir. Çalışmada FeSO₄.7H₂O (Merck), Fe₂(SO₄)₃.H₂O(Merck), MgSO₄.7H₂O (Merck), NaNO₂ (Merck), MnSO₄.2H₂O (Merck), CdN₂O₆.4H₂O (Fluka), CoN₂O₆.6H₂O (Fluka), CrN₃O₉.9H₂O (Aldrich), Pb(NO₃)₂ (Merck), CuSO₄.5H₂O (Merck), N₂NiO₆.6H₂O (Fluka), ZnSO₄.7H₂O (Carlo-Erba), Al(NO₃)₃.9H₂O (Merck) ve AgNO₃ (Fluka) metal tuzlarının 10, 25, 50, 150, 300, 500 mmol/L (ppm) konsantrasyonları kullanılmıştır (Hassen vd 1998a, Gülcan 2006).

MRS agar 45-50°C'ye soğutularak steril petri kaplarına 15'er ml dökülmüştür. Jelleşme tamamlandıktan sonra %0.7 test izolatu aşılansmış 10 ml MRS-soft agar üzerine dökülmüş ve iyice jelleşmesi beklenmiştir. Her bir petri plağında aseptik şartlar altında 3 mm çaplı 6 adet kuyucuk açılmış ve bu kuyucukların altı %1.5 agar içeren besiyerinden 10 µl ilave edilerek doldurulmuştur. Açılan kuyucuklara 10, 25, 50, 150,

300, 500 ppm konsantrasyonunda metal çözeltilerinden 30 µl enjekte edilmiştir. Petri kapları 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonunda gelişmenin olmadığı zon bölgesinin yarıçapı ölçülerek kaydedilmiş ve 0.5 mm'den büyük olanlar test edilen metale dayanıksız olarak kabul edilmiştir (Hassen vd 1998a, Gülcan 2006).

2.2.1.17. Nümerik taksonomi

Nümerik taksonominin istenilen güvenilirlikte olması için, nümerik taksonomi basamaklarında her aşamada aşağıda verilen kurallara uyulmuştur.

Suş seçimi: Sınıflandırılması yapılacak izolatlar nümerik taksonomi çalışmasında işlemsel taksonomik birimler olarak adlandırılmıştır (OTU: Operational Taxonomy Unit). Nümerik taksonomi çalışmasında bütün testlerin uygulaması için kullanılacak izolatlar (OTU'lar); sucuk, peynir, turşu ve ekşi hamur izolatları ile tip izolatları ve test hatasının belirlenmesi için rastgele seçilmiş duplikatlardan oluşmuştur.

Test seçimi: Test seçiminde, çevre faktörlerine karşı hassas olmayan, genetiksel olarak değişkenlik göstermeyen, tek genin veya operonun ekspresyonunu gösteren karakterlerin kullanılmasına dikkat edilmiştir (Doğramacı 2005). Buna göre nümerik taksonomi çalışmasında kullanılmak üzere organizmaların birçok yönünü gösteren ve her bir izolatın 176 birim karakterini açıklayan testler gerçekleştirilmiştir. Bu testler: karbonhidrat fermantasyon, ağır metallerle dayanıklılık, antibiyotiklere duyarlılık ve biyokimyasal testler olmak üzere 4 ana başlık altında toplanmıştır. Her bir test izolatı için test metodunun optimizasyonuna dikkat edilmiştir. Bu amaçla her izolat için inkübasyon metoduna, inkübasyon zamanına, inkübasyon sıcaklığının sabit olmasına ve inoküle edilen organizmaların gelişmesinin logaritmik fazında olmasına dikkat edilmiştir.

Verilerin kodlanması: Nümerik taksonomide analizlerin bilgisayarda yapılabilmesi için her bir izolat için uygulanan 176 birim karakter testinin sonucunda elde edilen veriler bilgisayar programına uygun olarak, pozitif sonuçlar için (+), negatif sonuçlar için (-) şeklinde kodlanmıştır. Çalışmada belirlenen ancak (+) (-) şeklinde ifade edilemeyen testler (H₂O₂'ye ve gastrik suya dayanıklılık, proteolitik aktivite, plazmid DNA izolasyonu, %asitlik ve pH gelişimi, *A.hydrophila*'ya karşı antimikrobiyal aktivite) nümerik taksonomide değerlendirmeye alınmamıştır.

Test hatasının hesaplaması: Test güvenilirliğini etkileyen test hatasının belirlenmesi için rastgele seçilen 7 duplike izolat bütün testlere tabi tutulmuş ve Sneath ve Johnson (1972) tarafından bildirildiği şekilde duplikatlar arasında her bir testin varyansı (S_i^2) ve her bir testin hata olasılığı (P_i) aşağıdaki formüller ile hesaplanmıştır.

$$S_i^2 = n/2t$$

n: Test içindeki farklılıklar ile OTU's sayısı.

t: Duplike izolatların toplam sayısı.

S_i^2 : Her bir test için hesaplanan test varyansı

$$P_i = 1/2[1 - \sqrt{1 - 4S_i^2}]$$

P_i : Hesaplanacak test karakteri için test hata olasılığı

Benzerliğin hesaplanması

S_{SM} , hem pozitif hem de negatif sonuçları eşit olarak değerlendirmeye almaktadır. Bu nedenle izolatlar (OTU) arasındaki benzerlik düzeyi S_{SM} 'ye göre belirlenirken, akrabalık ilişkilerini göstermek için kümeleme metodu olarak da UPGMA (Average-Linkage) metodları kullanılmıştır.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Nümerik Taksonomi

Nümerik taksonomi sonuçlarının yeterli güvenilirlikte olması için suş seçimi, test seçimi ve verilerin toplanması basamaklarında materyal ve metot kısmında verilen tüm kurallara titizlikle uyulmuştur. Test hatasının ve benzerliğin belirlenmesi için yapılan istatistiksel analizlerde Tablo 3.1’de verilen rastgele seçilmiş toplam 7 adet, izolat ve tip suşu kullanılmıştır.

Tablo 3.1 Test hatasını tespit etmek için duplikat olarak kullanılan izolatlar

İzolat Adı	İzolatların Laboratuvar Kodu	Duplike İzolat Kodu
<i>L.lactis</i> (DSM20481)	LL101, LL102	D0001
<i>L. plantarum</i> (DSM20174)	LP154, LP155	D0002
<i>P. pentosaceus</i> (DSM20336)	PP166, PP167	D0003
<i>L. paracasei</i> (DSM5622)	LR191, LR192	D0004
<i>L. salivarius</i> (DSM20555)	LS200, LS201	D0005
<i>L. plantarum</i> O22a	LO146, LO156	D0006
<i>L. plantarum</i> O44a	LO152, LO157	D0007

3.1.1. Verilerin toplanması

Nümerik taksonomik çalışmada 49 adet OTU’nun her birisi, Tablo 3.2’de 4 grup altında verilen (karbonhidrat fermantasyon, ağır metallere dayanıklılık, antibiyotiğe duyarlılık ve biyokimyasal testler) toplam 176 birim karakter açısından test edilmiştir. Kullanılan testlerin seçiminde seçim yapılırken, bu testlerin OTU’lar arasındaki farklılıkları en iyi şekilde göstermesi amaçlanmıştır. Bütün testler her bir OTU için en az 2 kez tekrarlanmıştır.

Tablo 3.2 Nümerik taksonomi çalışmasında kullanılan birim karakterler

A. KARBONHİDRAT FERMANTASYON			
Karakter	Miktar (mg/cup)	Karakter	Miktar (mg/cup)
Kontrol	-	Esculin(ferric citrate)	1.16
Glycerol	1.64	Salicin	1.04
Erythritol	1.44	D-Celiobiose	1.32
D- Arabinose	1.40	D-Maltose	1.40
L-Arabinose	1.40	D-Lactose	1.40
D-Ribose	1.40	D-Melibiose	1.32
D-Xylose	1.40	D-Saccharose	1.32
L-Xylose	1.40	D-Trehalose	1.32
D-Adonitol	1.36	Inulin	1.28
Methyl-βD-Xylopyranoside	1.28	D-Melezitose	1.32
D-Galactose	1.40	D-Raffinose	1.56
D-Glucose	1.56	Amidon(starch)	1.28
D-Fructose	1.40	Glycogen	1.28
D-Mannose	1.40	Xylitol	1.40
L-Sorbose	1.40	Gentiobiose	0.50
L-Rhamnose	1.36	D-Turanose	1.32
Dulcitol	1.36	D-Lyxose	1.40
Inositol	1.40	D-Tagatose	1.40
D-Mannitol	1.36	D-Fucose	1.28
D-Sorbitol	1.36	L-Fucose	1.28
Methyl-αD-Mannopyranoside	1.28	D-Arabitol	1.40
Methyl-αD-Glucopyranoside	1.28	L-Arabitol	1.40
N-Acetylglucosamine	1.28	Potassium Gluconate	1.84
Amygdalin	1.08	Potassium2- Ketogluconate	2.12
Arbutin	1.08	Potassium5- Ketogluconate	1.80
B. AĞIR METALLERE DAYANIKLILIK			
Karakter	Birim (ppm)	Karakter	Birim (ppm)
CrN₃O₉.9H₂O	500	AgNO₃	500
	300		300
	150		150
	50		50
	25		25
	10		10
N₂NiO₆.6H₂O	500	CuSO₄.5H₂O	500
	300		300
	150		150
	50		50
	25		25
	10		10
Al(NO₃)₃.9H₂O	500	MgSO₄. 7H₂O	500
	300		300
	150		150
	50		50
	25		25
	10		10
ZnSO₄.7H₂O	500	MnSO₄.2H₂O	500
	300		300
	150		150
	50		50
	25		25
	10		10

Devam

Tablo 3.2 Devam

Karakter	Birim (ppm)	Karakter	Birim (ppm)
CoN ₂ O ₆ .6H ₂ O	500	Fe ₂ (SO ₄) ₃ .H ₂ O	500
	300		300
	150		150
	50		50
	25		25
	10		10
CdN ₂ O ₆ .4H ₂ O	500	FeSO ₄ .7H ₂ O	500
	300		300
	150		150
	50		50
	25		25
	10		10
Pb(NO ₃) ₂	500	NaNO ₂	500
	300		300
	150		150
	50		50
	25		25
	10		10

C. ANTİBİYOTİĞE DUYARLILIK

Karakter	Birim	Karakter	Birim
Neomycin	30 µg	Tetracycline	30 µg
Polymixin B	300 U	Rifampicin	30 µg
Novobiocin	30 µg	Erythromycin	15 µg
Ampicillin	10 µg	Chloramphenicol	30 µg
Bacitracin	10 U	Novobiocin	5 µg
Kanamycin	30 µg	Rifamycin	30 µg
Streptomycin	10 µg	Vancomycin	30 µg
Penicillin G	10 U	Gentamicin	10 µg

D.BİYOKİMYASAL TESTLER

Karakter	Birim	Karakter	Birim
D.1. Glukozdan gaz üretimi		D.5. Alkole dayanıklılık	%10.0
D.2. Sıcaklıkta gelişme	10°C		%12.0
	15°C		%15.0
	45°C	D.6. Ox-bile	MRSagar+%3ox-bile
D.3. Tuza dayanıklılık	%3.0		MRS agar+%5 ox-bile
	%4.0		MRS agar+%9 ox-bile
	%5.0	D.7. β-Galaktosidaz	MRS broth+%9 ox-bile
	%6.5		
	%8.0	D.8. Arginin hidroliz	
	%9.0		
D.4. Farklı pH'da gelişme	3.0 pH	D.9. Antimikrobiyal aktivite	<i>L.sake</i> Lb790
	3.5 pH		<i>E. faecium</i>
	9.6 pH		<i>L.monocytogenes</i> Li1
		D.10. Morfoloji	

3.1.2. Verilerin kodlanması

Çalışmada kullanılan toplam 49 adet izolat için Tablo 3.2’de verilen 176 test karakteri uygulandıktan sonra elde edilen test sonuçları; pozitif sonuçlar için (+), negatif sonuçlar için (-) olarak kodlanmıştır.

3.1.3. İstatiksel analiz

Test verileri X-Taxon programını kullanmak suretiyle +/- olarak kaydedilmiştir. Duplike izolatların da dahil olduğu veri tabanındaki +/- sonuçlar, 1/0 formatına dönüştürüldükten sonra NTS_{ys-pc} istatistiksel paket programı Wishart’ın belirttiği şekilde kullanılarak analizler yapılmıştır. Test hatasının tespit edilmesi için de test varyansı (S_i^2) hesaplanmıştır (Sneath ve Johnson 1972).

32 izolat, 10 adet tip izolatu ve test hatasının belirlenmesi için rastgele seçilmiş 7 duplike izolat (duplikat) dahil olmak üzere toplam 49 izolatu veri analizleri için benzerlik hesaplanmasında hem pozitif hem de negatif verileri değerlendiren S_{SM} (Simple matching coefficients, Sokal ve Michener 1958) katsayısı kullanılırken, kümeleme için Avarage-Linkage (UPGMA: Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages; Sneath ve Sokal 1973) analizleri kullanılmıştır. Bilgisayarda istatistiksel analiz için kodlanan 176 birim karakterin test sonuçları Tablo Ek-1, Ek-2, Ek-3 ve Ek-4’de verilmiştir.

3.1.4. Son veri matrisi ve test hatasının hesaplanması

Veri matrisi 32 test izolatu, 10 tip izolatu ile 7 duplike izolat olmak üzere 49 izolat ve 176 birim karakterden oluşmuştur. Karbonhidrat fermantasyon test sonuçlarından kontrol, Glycerol, Erythritol, D-Arabinose, L-Xylose, Methyl-βD-Xylopyranoside, Dulcitol, Inositol, Amidon, Glycogene, Xylitol, D-Lyxose, D-Fucose, L-Fucose, L-Arabitol, Potassium2-Ketogluconate; ağır metallere dayanıklılık testlerinden $CrN_3O_9.9H_2O$, $N_2NiO_6.6H_2O$ (10 ppm), $Al(NO_3)_3.9H_2O$ (150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $ZnSO_4.7H_2O$ (10 ppm), $CoN_2O_6.6H_2O$ (50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $Pb(NO_3)_2$ (50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $CuSO_4.5H_2O$ (10 ppm), $MgSO_4.7H_2O$ (500 ppm, 300 ppm, 150 ppm 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $MnSO_4.2H_2O$ (50 ppm, 25 ppm

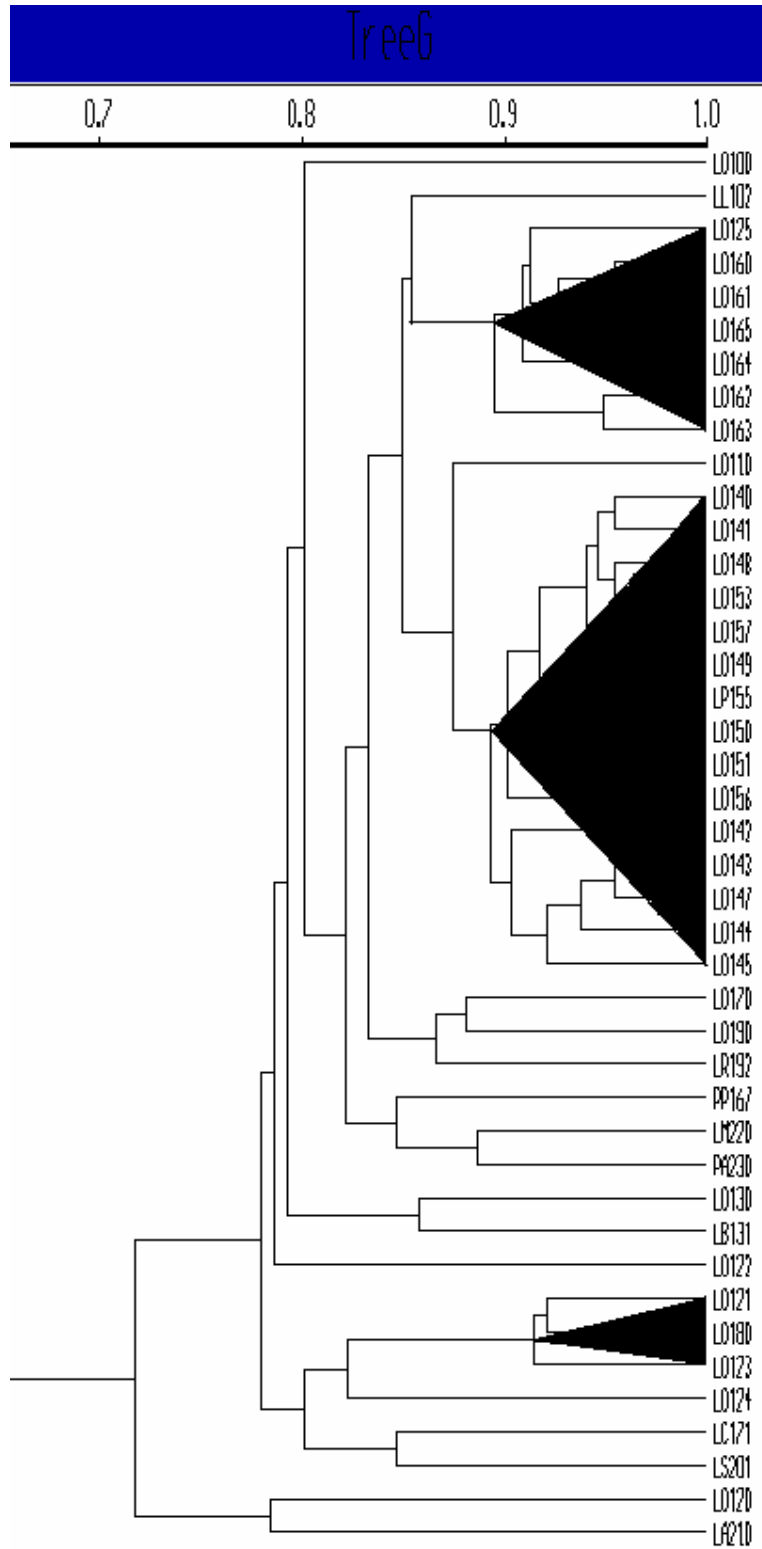
ve 10 ppm), $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), NaNO_2 (50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm) tüm izolatlar için negatif (-) sonuç vermiştir. Karbonhidrat fermantasyon test sonuçlarından D-Glucose, ağır metallere dayanıklılık testinde $\text{CrN}_3\text{O}_9 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm), AgNO_3 (500 ppm, 300 ppm), $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (500 ppm), antibiyotiğe duyarlılık testi için Rifamycin, tüm izolatlar için pozitif (+) sonuç vermiştir. İzolatların hepsi için pozitif (+) veya izolatların hepsi için negatif (-) sonuç veren bu testler son veri matriksinden çıkarılmıştır.

Duplike izolatlar arasındaki bireysel test varyansı (Si^2) ve her bir test için test hatası oranı (Pi) hesaplanmıştır (Sneath ve Johnson 1972). Son veri matriksi, tüm izolatlar için pozitif veya negatif sonuç veren testlerin çıkarılmasıyla oluşan 122 birim karakter ve duplike izolatların çıkarılmasıyla oluşan 42 izolattan meydana gelmiştir. 122 birim karaktere ait test sonuçları Ek-5, Ek-6, Ek-7, Ek-8'de verilmiştir. Son veri matriksi ile yapılan hesaplamada (%1.11) test hatası hesaplanmıştır.

3.1.5. S_{SM} -UPGMA analizine göre nümerik taksonomi

32 adet test izolatu ve 10 adet standart tip izolatu S_{SM} -UPGMA analizine göre %89.4 benzerlik seviyesinde tanımlanmış ve 3 adet çok üyeli, 17 adet de tek üyeli küme oluşmuştur. Bu kümelere ait dendogram Şekil 3.1'de verilmiştir.

Nümerik taksonomi sonucuna göre; test izolatlarının ve standart tip izolatlarının kümelere dağılımı ve kaynakları Tablo 3.3 ve 3.4'de, dağılım gösteren kümelerin izolat sayısı ve benzerlik seviyeleri Tablo 3.5'de, duplike izolatların karşılaştırılmasıyla hesaplanan test hatası değerleri de Tablo 3.6'da verilmiştir.



Şekil 3.1 S_{SM} -UPGMA analizine göre test izolatları ve tip izolatları arasındaki ilişkiyi gösteren dendrogram

Tablo 3.3 S_{SM}-UPGMA analizinde oluşan çok üyeli kümelere göre test izolatları ve tip izolatının dağılımı ve kaynakları

KÜME 1		
İzolat No	İzolat Adı	Kaynak
LO160	<i>P.pentosaceus</i> O24	Sucuk
LO161	<i>P.pentosaceus</i> O25	Sucuk
LO162	<i>P.pentosaceus</i> O27	Sucuk
LO163	<i>P.pentosaceus</i> O29	Sucuk
LO164	<i>P.pentosaceus</i> O31	Sucuk
LO165	<i>P.pentosaceus</i> O57	Sucuk
LO125	Tanımsız O28	Sucuk
KÜME 2		
İzolat No	İzolat Adı	Kaynak
LO140	<i>L.plantarum</i> O12	Karışık turşu
LO141	<i>L.plantarum</i> O13	Karışık turşu
LO142	<i>L.plantarum</i> O14	Ekşi hamur
LO143	<i>L.plantarum</i> O19	Hıyar turşusu
LO144	<i>L.plantarum</i> O20	Peynir
LO145	<i>L.plantarum</i> O21	Peynir
LO147	<i>L.plantarum</i> O23	Turşu
LO148	<i>L.plantarum</i> O26	Sucuk
LO149	<i>L.plantarum</i> O30	Sucuk
LO150	<i>L.plantarum</i> O33	Peynir
LO151	<i>L.plantarum</i> O41	Peynir
LO153	<i>L.plantarum</i> O58	Peynir
LP155 ^T	<i>L.plantarum</i> 1(DSM20174)	Tip izolatu
LO156	<i>L. plantarum</i> O22b	Peynir
LO157	<i>L. plantarum</i> O44b	Ekşi hamur
KÜME 3		
İzolat No	İzolat Adı	Kaynak
LO180	<i>L.helveticus</i> O16	Ekşi hamur
LO121	Tanımsız O10	Ekşi hamur
LO123	Tanımsız O17	Ekşi hamur

T: Tip örneği

Tablo 3.4 SSM-UPGMA analizinde oluşan tek üyeli kümelere göre test izolatlarının ve tip izolatlarının dağılımı ve kaynakları

İzolat No	İzolat Adı	Kaynak
KÜME 4 LO100	<i>L.lactis</i> ssp. <i>lactis</i> O3	Peynir
KÜME 5 LL102	<i>L.lactis</i> 7 (DSM20481)	Tip izolatu
KÜME 6 LO110	<i>L.pentosus</i> O8a	Ekşi hamur
KÜME 7 LO130	<i>L.brevis</i> O11	Ekşi hamur
KÜME 8 LB 131	<i>L.brevis</i> 2 (DSM20054)	Tip izolatu
KÜME 9 PP 167	<i>P.pentosaceus</i> 10 (DSM20336)	Tip izolatu
KÜME 10 LO 170	<i>L.curvatus</i> O32	Peynir
KÜME 11 LC171	<i>L.curvatus</i> 3 (DSM20019)	Tip izolatu
KÜME 12 LO 190	<i>L.paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> O54	Peynir
KÜME 13 LR 192	<i>L.paracasei</i> 5 (DSM5622)	Tip izolatu
KÜME 14 LS 201	<i>L.salivarius</i> 4 (DSM20555)	Tip izolatu
KÜME 15 LA 210	<i>L.acidophilus</i> 6 (DSM20079)	Tip izolatu
KÜME 16 LM 220	<i>L.mesenteroides</i> 9 (DSM20343)	Tip izolatu
KÜME 17 PA 230	<i>P.acidilactici</i> 11 (DSM20284)	Tip izolatu
KÜME 18 LD120	Tanımsız O1	Peynir
KÜME 19 LO122	Tanımsız O15	Ekşi hamur
KÜME 20 LO 124	Tanımsız O18	Ekşi hamur

Tablo 3.5 S_{SM} -UPGMA analizine göre dağılım gösteren kümelerin izolat sayısı ve benzerlik seviyeleri

Küme No	İzolat Sayısı	S_{SM}-UPGMA Düzeyi (%)
KÜME1	7	%89.4
KÜME2	15	%89.4
KÜME3	3	%90.7

Tablo 3.6 Duplike izolatların karşılaştırılması ile test hatasının hesaplanması

A. Karbonhidrat Fermantasyon			
Testler	Miktar (mg/cup)	Test Varyansı (S_i^2)	Duplikat İzolatlar Arasında Uyum (%)
Kontrol	-	0.000	100
Glycerol	1.64	0.000	100
Erythritol	1.44	0.000	100
D-Arabinose	1.40	0.000	100
L-Arabinose	1.40	0.000	100
D-Ribose	1.40	0.000	100
D-Xylose	1.40	0.000	100
L-Xylose	1.40	0.000	100
D-Adonitol	1.36	0.000	100
Methyl- β D-Xylopyranoside	1.28	0.000	100
D-Galactose	1.40	0.000	100
D-Glucose	1.56	0.000	100
D-Fructose	1.40	0.000	100
D-Mannose	1.40	0.000	100
L-Sorbose	1.40	0.000	100
L-Rhamnose	1.36	0.071	99.93
Dulcitol	1.36	0.000	100
Inositol	1.40	0.000	100
D-Mannitol	1.36	0.000	100
D-Sorbitol	1.36	0.071	99.93
Methyl- α -D-Mannopyranoside	1.28	0.000	100
Methyl- α -D-Glucopyranoside	1.28	0.000	100
N-Acetylglucosamine	1.28	0.000	100
Amygdalin	1.08	0.000	100
Arbutin	1.08	0.000	100
Esculin (ferric citrate)	1.16	0.000	100
Salicin	1.04	0.000	100
D-Celiobiose	1.32	0.000	100
D-Maltose	1.40	0.000	100
D-Lactose (bovine origin)	1.40	0.000	100
D-Melibiose	1.32	0.000	100
D-Saccharose (sucrose)	1.32	0.000	100
D-Trehalose	1.32	0.000	100
Inulin	1.28	0.000	100
D-Melezitose	1.32	0.000	100
D-Raffinose	1.56	0.000	100

Devam

Tablo 3.6 Devam

Testler	Miktar (mg/cup)	Test Varyansı (Si ²)	Duplikat İzolatlar Arasında Uyum (%)
Amidon(starch)	1.28	0.000	100
Glycogen	1.28	0.000	100
Xylitol	1.40	0.000	100
Gentiobiose	0.50	0.000	100
D-Turanose	1.32	0.000	100
D-Lyxose	1.40	0.000	100
D-Tagatose	1.40	0.000	100
D-Fucose	1.28	0.000	100
L-Fucose	1.28	0.000	100
D-Arabitol	1.40	0.000	100
L-Arabitol	1.40	0.000	100
Potassium Gluconate	1.84	0.000	100
Potassium2-Ketogluconate	2.12	0.000	100
Potassium5-Ketogluconate	1.80	0.000	100

B. Ağır Metallerle Dayanıklılık

Testler	Miktar (ppm)	Test Varyansı (Si ²)	Duplikat İzolatlar Arasında Uyum (%)
CrN₃O₉.9H₂O	500	0.000	100
	300	0.071	99.93
	150	0.000	100
	50	0.000	100
	25	0.000	100
	10	0.000	100
N₂NiO₆.6H₂O	500	0.071	99.93
	300	0.071	99.93
	150	0.071	99.93
	50	0.000	100
	25	0.000	100
	10	0.000	100
Al(NO₃)₃.9H₂O	500	0.071	99.93
	300	0.071	99.93
	150	0.000	100
	50	0.000	100
	25	0.000	100
	10	0.000	100
ZnSO₄.7H₂O	500	0.000	100
	300	0.071	99.93
	150	0.071	99.93
	50	0.000	100
	25	0.000	100
	10	0.000	100
CoN₂O₆.6H₂O	500	0.000	100
	300	0.071	99.93
	150	0.000	100
	50	0.000	100
	25	0.000	100
	10	0.000	100

Devam

Tablo 3.6 Devam

Testler	Miktar (ppm)	Test Varyansı (Si ²)	Duplikat İzolatlar Arasında Uyum (%)
CdN₂O₆.4H₂O	500	0.000	100
	300	0.000	100
	150	0.000	100
	50	0.000	100
	25	0.000	100
	10	0.000	100
Pb(NO₃)₂	500	0.000	100
	300	0.000	100
	150	0.000	100
	50	0.000	100
	25	0.000	100
	10	0.000	100
AgNO₃	500	0.000	100
	300	0.000	100
	150	0.000	100
	50	0.000	100
	25	0.000	100
	10	0.071	99.93
CuSO₄.5H₂O	500	0.000	100
	300	0.000	100
	150	0.071	99.93
	50	0.000	100
	25	0.000	100
	10	0.000	100
MgSO₄.7H₂O	500	0.000	100
	300	0.000	100
	150	0.000	100
	50	0.000	100
	25	0.000	100
	10	0.000	100
MnSO₄.2H₂O	500	0.071	99.93
	300	0.071	99.93
	150	0.071	99.93
	50	0.000	100
	25	0.000	100
	10	0.000	100
Fe₂(SO₄)₃.H₂O	500	0.000	100
	300	0.143	99.86
	150	0.000	100
	50	0.000	100
	25	0.000	100
	10	0.000	100

Devam

Tablo 3.6 Devam

Testler	Miktar (ppm)	Test Varyansı (Si ²)	Duplikat İzolatlar Arasında Uyum (%)
FeSO ₄ .7H ₂ O	500	0.000	100
	300	0.000	100
	150	0.000	100
	50	0.000	100
	25	0.000	100
	10	0.000	100
NaNO ₂	500	0.000	100
	300	0.000	100
	150	0.000	100
	50	0.000	100
	25	0.000	100
	10	0.000	100

C. Antibiyotiklere Duyarlılık

Testler	Miktar	Test Varyansı (Si ²)	Duplikat İzolatlar Arasında Uyum (%)
Neomycin	30 µg	0.000	100
Polymixin B	300 U	0.071	99.93
Novobiocin	30 µg	0.143	99.86
Ampicillin	10 µg	0.071	99.93
Bacitracin	10 U	0.000	100
Kanamycin	30 µg	0.000	100
Streptomycin	10 µg	0.000	100
Penicillin G	10 U	0.143	99.86
Tetracycline	30 µg	0.000	100
Rifampicin	30 µg	0.000	100
Erytromycin	15 µg	0.071	99.93
Chloramphenicol	30 µg	0.000	100
Novobiocin	5 µg	0.143	99.86
Rifamycin	30 µg	0.000	100
Vancomycin	30 µg	0.000	100
Gentamicin	10 µg	0.000	100

D. Biyokimyasal Testler

Testler	Birim	Test Varyansı (Si ²)	Duplikat İzolatlar Arasında Uyum (%)
D.1.Glukozdan gaz üretimi		0.000	100
D.2.Sıcaklıkta gelişme			
10°C		0.000	100
15°C		0.000	100
45°C		0.000	100
D.3.Tuz testleri			
%3.0	(g/v)	0.000	100
%4.0	(g/v)	0.000	100
%5.0	(g/v)	0.000	100
%6.5	(g/v)	0.000	100
%8.0	(g/v)	0.000	100
%9.0	(g/v)	0.000	100

Devam

Tablo 3.6 Devam

Testler	Birim	Test Varyansı (S ²)	Duplikat İzolatlar Arasında Uyum (%)
D.4 Farklı pH'da gelişme			
3.0 pH		0.000	100
3.5 pH		0.000	100
9.6 pH		0.000	100
D.5. Alkolde gelişme			
%10.0	(v/v)	0.000	100
%12.0	(v/v)	0.000	100
%15.0	(v/v)	0.000	100
D.6. Ox-bile			
MRS agar+%3 ox-bile	(g/v)	0.000	100
MRS agar+%5 ox-bile	(g/v)	0.000	100
MRS agar+%3 ox-bile	(g/v)	0.000	100
MRS broth+%9 ox-bile	(g/v)	0.000	100
D.7. B-Galaktosidaz		0.000	100
D.8. Arginin hidroliz		0.000	100
D.9. Antimikrobiyal aktivite			
<i>L.sake</i> Lb790		0.000	100
<i>E. faecium</i>		0.000	100
<i>L.monocytogenes</i> Li1		0.000	100
D.10. Morfoloji		0.000	100

Küme 1: 7 adet izolatu içeren (LO160, LO161, LO162, LO163, LO164, LO165, LO125) bu küme %89.4 seviyesinde benzerlik göstermektedir. Karbonhidrat fermentasyon testlerine göre Glycerol, Erythritol, D-Arabinose, L-Xylose, D-Adonitol, Methyl-βD-Xylopyranoside, L-Sorbose, L-Rhamnose, Dulcitol, Inositol, D-Mannitol, D-Sorbitol, Methyl-αD-Glucopyranoside, D-Maltose, D-Lactose, D-Melibiose, Inuline, D-Melezitose, D-Raffinose, Amidon, Glycogene, Xylitol, D-Turanose, D-Lyxose, D-Fucose, L-Fucose, D-Arabitol, L-Arabitol, Potassium Gluconate, Potassium 2-Ketogluconate, Potassium 5-Ketogluconate'ı kullanmadığı, L-Arabinose, D-Ribose, D-Xylose, D-Galactose, D-Glucose, D-Fructose, D-Mannose, N-Acetylglucosamine, Amygdaline, Arbutine, Esculine, Salicine, D-Celobiose, D-Saccharose, D-Trehalose, Gentiobiose, D-Tagatose'u kullandığı; ağır metallere CrN₃O₉.9H₂O (150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), N₂NiO₆.6H₂O (150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), Al(NO₃)₃.9H₂O (150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), ZnSO₄.7H₂O (50 ppm, 25 ppm

ve 10 ppm), $\text{CoN}_2\text{O}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm, 300 ppm, 150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (500 ppm, 300 ppm, 150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (10 ppm), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm, 300 ppm, 150 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 10 ppm), $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (50 ppm, 25 ppm, 10 ppm), $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (50 ppm, 25 ppm, 10 ppm), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (150 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 10 ppm), NaNO_2 (300 ppm, 150 ppm, 50 ppm, 25 ppm, 10 ppm) karşı dayanıklı olduğu, $\text{CrN}_3\text{O}_9 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm), $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm, 300 ppm), AgNO_3 (500 ppm, 300 ppm, 150 ppm, 50 ppm, 25 ppm), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm, 300 ppm, 150 ppm), $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (500 ppm)'e karşı ise dayanıksız olduğu belirlenmiştir. Antibiyotik duyarlılık testinde, Bacitracin, Vancomycin, Gentamicin'e karşı duyarlılık göstermezken, Novobiocin (30 μg), Tetracycline, Rifampicin, Erythromycin, Chloramphenicol, Novobiocin (5 μg), Rifamycin'e karşı duyarlılık göstermişlerdir. Biyokimyasal testlere bakıldığında da; glukozdan gaz üretimi ve arginin hidrolizinin negatif olduğu; 3.0 pH ve %15 alkolde gelişme olmadığı; 15°C sıcaklık, %3.0, %4.0, %5.0, %6.5 ve %8.0 NaCl, 3.5 ve 9.6 pH, %10 alkol, %3.0, %5.0 ve %9.0 ox-bile ilaveli MRS agarda ve %9 ox-bile ilaveli MRS brothda gelişme gösterdikleri, β -Galactosidase pozitif oldukları ve *E.faecium* ve *L.monocytogenes* Li1'karşı da antimikrobiyal aktivite gösterdikleri saptanmıştır.

Küme 2: %89.4 Benzerlikle tanımlanan bu küme 15 adet izolat (LO140, LO141, LO142, LO143, LO144, LO145, LO147, LO148, LO149, LO150, LO151 LO153, LP155, LO156, LO157) içermektedir. Bu izolatların karbonhidrat fermantasyonunda Glycerol, Erythritol, D-Arabinose, D-Xylose, L-Xylose, D-Adonitol, Methyl- β D-Xylopyranoside, L-Sorbose, Dulcitol, Inositol, Amidon, Glycogene, Xylitol, D-Lyxose, D-Tagatose, D-Fucose, L-Fucose, L-Arabitol , Potassium 2-Ketogluconate, Potassium 5-Ketogluconate'ı kullanmadığı, D-Ribose, D-Galactose, D-Glucose, D-Fructose, D-Mannose, D-Mannitol, N-Acetylglucosamine, Amygdaline, Arbutine, Esculine, Salicine, D-Celibiose, D-Maltose, Gentiobiose'yi kullandığı; ağır metallere dayanıklılık testlerinde; $\text{CrN}_3\text{O}_9 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $\text{N}_2\text{NiO}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $\text{CoN}_2\text{O}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (500 ppm, 300 ppm, 150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (25 ppm ve 10 ppm), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm, 300 ppm, 150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm, 300 ppm, 150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

(300 ppm, 150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), NaNO_2 (300 ppm, 150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm) metallerine dayanıklı oldukları, $\text{CrN}_3\text{O}_9 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm), $\text{CdN}_2\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm, 300 ppm, 150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), AgNO_3 (500 ppm, 300 ppm ve 150 ppm), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm ve 300 ppm), $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (500 ppm) metallerine dayanıklı olmadıkları tespit edilmiştir. Bu izolatların antibiyotiğe duyarlılıklarına bakıldığında Bacitracin ve Gentamicin'e duyarlılık göstermezken, Tetracycline, Rifampicin, Chloramphenicol ve Rifamycin'e duyarlılık gösterdiği saptanmıştır. Biyokimyasal testlere bakıldığında: Glukozdan gaz üretiminin ve argininli besiyerinde gelişmenin olmadığı tespit edilmiştir. 15°C sıcaklıkta, %3.0, %4.0, %5.0, %6.5 NaCl'de, 9.6 pH ve 3.5 pH'da, MRS agar+%3.0 ox-bile, MRS agar+%5.0 ox-bile, MRS agar+%9.0 ox-bile ve MRS broth+%9.0 ox-bile'da gelişme gösterdikleri *L.monocytogenes* Li1'e karşı antimikrobiyal aktivite gösterdikleri ve Gram boyama sonucu Gram (+) basil oldukları tespit edilmiştir.

Küme 3: Bu küme için benzerlik seviyesi %90.7 olarak belirlenmiştir. 3 adet izolat (LO180, LO121, LO123) içermektedir. Karbonhidrat fermantasyon testlerine göre Glycerol, Erythritol, D-Arabinose, L-Arabinose, D-Ribose, D-Xylose, L-Xylose, D-Adonitol, Methyl- β D-Xylopyranoside, L-Sorbose, L-Rhamnose, Dulcitol, Inositol, D-Mannitol, D-Sorbitol, Methyl- α D-Mannopyranoside, Methyl- α -D-Glucopyranoside, Amygdaline, Arbutine, Esculine, Salicine, D-Celiobiose, D-Melibiose, D-Saccharose, D-Trehalose, Inuline, D-Melezitose, D-Raffinose, Amidon, Glycogene, Xylitol, Gentiobiose, D-Turanose, D-Lyxose, D-Tagatose, D-Fucose, L-Fucose, D-Arabitol, L-Arabitol, Potassium Gluconate, Potassium 2-Ketogluconate, Potassium 5-Ketogluconate'ı kullanmadıkları, D-Galactose, D-Glucose, D-Fructose, D-Mannose, N-Acetylglucosamine, D-Maltose, D-Lactose'u kullandıkları saptanmıştır. Ağır metallere dayanıklılık testinde; $\text{CrN}_3\text{O}_9 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $\text{N}_2\text{NiO}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (10 ppm), $\text{CoN}_2\text{O}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (500 ppm, 300 ppm, 150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (10ppm), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm, 300 ppm, 150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm, 300 ppm, 150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (150 ppm, 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm), NaNO_2 (50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm) metallerine dayanıklılık gösterdikleri, $\text{CrN}_3\text{O}_9 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm ve 300 ppm), $\text{N}_2\text{NiO}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm ve 300 ppm), $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm, 300 ppm ve 150 ppm),

CoN₂O₆.6H₂O (500 ppm, 300 ppm ve 150 ppm), CdN₂O₆.4H₂O (500 ppm, 300 ppm, 150 ppm, 50 ppm ve 25 ppm), AgNO₃ (500 ppm, 300 ppm, 150 ppm, 50 ppm ve 25 ppm), CuSO₄.5H₂O (500 ppm, 300 ppm, 150 ppm ve 50 ppm), Fe₂(SO₄)₃.H₂O (500 ppm ve 300 ppm), FeSO₄.7H₂O (500 ppm), NaNO₂ (500 ppm, 300 ppm, 150 ppm) metallere dayanıklılık göstermedikleri belirlenmiştir. Antibiyotik duyarlılık testlerinde; Neomycin, Streptomycin, Vancomycin ve Gentamicin'e duyarlı; Polymixin B, Novobiocin(30µg), Tetracycline, Rifampicin, Erythromycin, Chloramphenicol, Novobiocin(5µg) ve Rifamycin'e duyarlı oldukları belirlenmiştir. Biyokimyasal testler değerlendirildiğinde de; glukoz'dan gaz üretiminin olmadığı, 45°C sıcaklık, 3.0 pH ve 3.5 pH'da gelişmenin olmadığı, 10°C, 15°C sıcaklık, %3.0, %4.0, %5.0, %6.5, %8.0, %9.0 NaCl'de, 9.6 pH'da, %10.0, %12.0 alkol, MRS agar+%3.0 ox-bile, MRS agar+%5.0 ox-bile, MRS agar+%9.0 ox-bile ve MRS broth+%9.0 ox-bile'da geliştikleri, β-Galaktosidaz aktivitesi gösterdikleri ve *E.faecium*'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterdikleri belirlenmiştir.

3.2. İzolatların Endüstriyel Özelliklerine Göre Değerlendirilmesi

3.2.1. Antimikrobiyal aktivite spektrumu

Gıda endüstrisinde farklı gıdaların üretimi, muhafaza süresi ve kalitesinin artırılması için starter kültür ve/veya probiyotik kültür olarak kullanılan laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal aktiviteye sahip olmaları büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle çalışmada tüm izolatların antimikrobiyal aktivite spektrumları belirlenmiş ve nümerik taksonomide belirlenen kümelerle göre tartışılmıştır.

Küme 1: Bu kümede yer alan *P.pentosaceus* O24, O25, O27, O29, O31, O57 ve Tanımsız O28 izolatlarının *A.hydrophila*, *L.sake* Lb790, *E.faecium*, *L.monocytogenes* Li1 indikatör mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri agar spot testi ile belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 3.7'de verilmiştir.

A.hydrophila'ya karşı antimikrobiyal aktivitesi test edilen 2 adet *P.pentosaceus* izolatından *P.pentosaceus* O57 yüksek, *P.pentosaceus* O31 orta düzeyde inhibitör etki göstermiştir. *L.sake* Lb790'a karşı ise küme üyesi Tanımsız O28 no'lu izolatın orta düzeyde inhibitör etki gösterdiği, *P.pentosaceus* olarak tanımlanan izolatların ise tamamının etkisiz olduğu belirlenmiştir. Çon ve Gökalp (2000) tarafından *P.pentosaceus*'un *L.sake* Lb790'a karşı 4 izolatından 1'inin etkisiz, 2'sinin zayıf etkili,

1'inin kuvvetli inhibitör etkili olduğu; Şimşek (2003) tarafından *Pediococcus* ssp. E5'in *L.sake* Lb 790'a karşı yüksek düzeyde inhibitör aktivite gösterdiği; Brink vd (2005) tarafından da *P.pentosaceus* 34 izolatının *L.sakei* LMG13558'e karşı zayıf etkili olduğu belirtilmiştir. Literatür verileri ile karşılaştırıldığında bu çalışmada *L.sake* Lb790'a karşı elde edilen antimikrobiyal aktivitenin Çon ve Gökalp (2000), Şimşek (2003) ve Brink vd (2005) tarafından bildirilenlere göre daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Tablo 3.7 Küme 1 izolatlarının antimikrobiyal aktivite değerleri

İzolat Kodu	İzolatlar	<i>A.hydrophila</i>	<i>L.sake</i> Lb790	<i>E. faecium</i>	<i>L.monocytogenes</i> Li1
LO160	<i>P.pentosaceus</i> O24	TE	-	++	+++
LO161	<i>P.pentosaceus</i> O25	TE	-	+++	+++
LO162	<i>P.pentosaceus</i> O27	TE	-	++	+++
LO163	<i>P.pentosaceus</i> O29	TE	-	++	++
LO164	<i>P.pentosaceus</i> O31	++	-	+++	+++
LO165	<i>P.pentosaceus</i> O57	+++	-	++	+++
LO125	Tanımsız O28	TE	++	++	+++

TE: Tespit edilemedi

-:<0.5mm (etkisiz); +:0.5-1.0mm (zayıf etkili); ++: 1.1-3.0mm (orta etkili); +++:>3.0mm (yüksek etkili)

E.faecium'a karşı *P.pentosaceus* O25 ile O31'in yüksek düzeyde, *P.pentosaceus* O24, O57, O27, O29 ve Tanımsız O28'in orta düzeyde inhibitör etkili olduğu; *L.monocytogenes* Li1'e karşı da *P.pentosaceus* O29'un orta düzeyde, diğer izolatların yüksek düzeyde inhibitör etki gösterdiği tespit edilmiştir. Çon ve Gökalp (2000) tarafından yapılan çalışmada da *L.monocytogenes* Li6'ya karşı 4 adet *P.pentosaceus* izolatından 2 adedinin etkisiz, 1 adedinin zayıf etkili, 1 adedinin yüksek inhibitör etkili olduğu saptanmıştır. Çalışmada *L.monocytogenes* Li1'e göre elde edilen inhibitör etki literatür verisine göre daha yüksektir.

Küme üyesi izolatların *E.faecium* ve *L.monocytogenes* Li1'e karşı gösterdiği yüksek antimikrobiyal aktivite starter kültür ve probiyotik özellikleri açısından büyük kazançtır.

Küme 2: Küme üyeleri olan *L. plantarum* O12, O13, O14, O19, O20, O21, O23, O26, O30, O33, O41, O58, 1, O22b ve O44b'nin indikatör izolatlarla karşı agar spot test sonuçları Tablo 3.8'de sunulmuştur.

Tablo 3.8 Küme 2 izolatlarının antimikrobiyal aktivite değerleri

İzolat Kodu	İzolatlar	<i>A.hydrophila</i>	<i>L.sake</i> Lb790	<i>E.faecium</i>	<i>L.monocytogenes</i> Li1
LO140	<i>L.plantarum</i> O12	+++	-	+++	+++
LO141	<i>L.plantarum</i> O13	+++	-	+++	+++
LO142	<i>L.plantarum</i> O14	+++	+	++	+++
LO143	<i>L.plantarum</i> O19	-	+	-	+++
LO144	<i>L.plantarum</i> O20	-	-	-	++
LO145	<i>L.plantarum</i> O21	-	+	-	++
LO147	<i>L.plantarum</i> O23	-	-	-	++
LO148	<i>L.plantarum</i> O26	TE	-	+++	+++
LO149	<i>L.plantarum</i> O30	++	-	++	+++
LO150	<i>L.plantarum</i> O33	++	-	+++	++
LO151	<i>L.plantarum</i> O41	+++	-	++	+++
LO153	<i>L.plantarum</i> O58	-	-	++	+++
LO155	<i>L.plantarum</i> 1	-	-	-	+++
LO156	<i>L.plantarum</i> O22b	-	+	-	+++
LO157	<i>L.plantarum</i> O44b	++	-	++	+++

TE: Tespit edilemedi

-: <0.5 mm (etkisiz); +: 0.5-1.0mm (zayıf etkili); ++: 1.1-3.0mm (orta etkili); +++: >3.0mm (yüksek etkili)

Küme 2 üyelerinden *L.plantarum* O12, O13, O14 *A.hydrophila*'ya karşı yüksek, *L.plantarum* O30, O33 ve O44b, orta düzeyde inhibitör etki göstermiştir. *L.plantarum* O19, O20, O21, O23, O58, 1 ve O22b ise inhibitör etkisizdir. *L.sake* Lb790'a karşı *L.plantarum* O14, O19, O21, O22b'nin zayıf etki gösterdiği, diğer küme üyelerinin etkisiz olduğu tespit edilmiştir. Brink vd (2006) yaptıkları çalışmada *L.plantarum* 423 izolatının *Lactobacillus sakei* LMG 13558'e karşı zayıf etki gösterdiğini; Çon ve Gökalp (2000) 19 adet *L.plantarum* izolatının *L.sake* Lb790'a karşı 10 adedinin inhibitör etkisiz, 4 adedinin orta, 3 adedinin zayıf, 2 adedinin de yüksek inhibitör etkili olduğunu belirtmişlerdir. Şimşek (2003) Uşak ve yöresi ekşi hamurlarından izole ettiği antimikrobiyal aktiviteye sahip 3 adet *L.plantarum* izolatının *L.sake* Lb790'a karşı 2 adedinin orta, 1 adedinin de yüksek inhibitör aktivite gösterdiğini tespit etmiştir. Todorov vd (1999) ise çalışmasında *L.plantarum* ST31'in *L.sake*'ye karşı inhibitör aktiviteye sahip olmadığını belirlemiştir. Literatür verileri ile çalışma sonuçları *L.sake* Lb790'a karşı inhibitör etki açısından oldukça benzerdir. Çalışmada bulunan değerler Brink vd (2006) ve Todorov vd (1999) ile uyumlu, Çon ve Gökalp (2000) ile Şimşek'e (2003) göre ise biraz düşüktür.

E.faecium'a karşı, *L.plantarum* O12, O13, O26 ve O33'ün yüksek, *L.plantarum* O14, O30, O41, O44b ve O58'in orta düzeyde inhibitör etkili; *L.plantarum* O19, O20 O21, O23, 1 ve O22b'nin etkisiz olduğu saptanmıştır. *L.monocytogenes* Li1'e karşı da *L.plantarum* O20, O21, O23 ve O33 orta düzeyde inhibitör etkili, kümenin diğer

üyelerinin yüksek düzeyde inhibitör etkili olduğu belirlenmiştir. Çon ve Gökalp (2000) çalışmalarında 19 adet *L.plantarum*'un *L.monocytogenes*'e karşı 3'ünün orta düzeyde, 15'inin de zayıf düzeyde inhibitör etkili, birisinin de etkisiz olduğunu belirtmişlerdir. Klingberg vd (2005) ise yaptıkları çalışmada *L.monocytogenes* Li1'e karşı *L.plantarum* izolatlarından birinin orta, diğerlerinin düşük inhibitör etkili olduğunu saptamış, Santos vd (2003) tarafından da *L.plantarum* izolatlarının *L.monocytogenes*'e karşı inhibitör etki gösterdiği belirtilmiştir. González vd (2007) üretim ve olgunlaşma sırasında Genestoso peynirlerinden izole ettikleri 1 adet *L.plantarum* izolatının *Listeria monocytogenes* CECT 4031'e karşı etkisiz olduğunu bildirmişlerdir. Papamanoli vd (2003) çalışmalarında Yunan kuru fermente sucuğundan izole ettikleri *L.plantarum*'ların %71'nin antilisterial aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Çalışmada *L.plantarum* izolatlarının hem *E.faecium*'a hem de *L.monocytogenes*'e karşı inhibitör etki sonuçları literatür verilerine göre daha yüksek bulunmuştur.

Küme üyesi izolatların *A.hydrophila*, *E.faecium* ve *L.monocytogenes* Li1'e karşı gösterdiği yüksek antimikrobiyal aktivite starter kültür ve probiyotik özellikler açısından değerlendirildiğinde büyük avantaj sağlamaktadır.

Küme 3 *L. helveticus* O16 ile Tanımsız O10 ve O17'den oluşan küme üyelerinin antimikrobiyal aktivite değerleri Tablo 3.9'de verilmiştir.

Tablo 3.9 Küme 3 izolatlarının antimikrobiyal aktivite değerleri

İzolat Kodu	İzolat No	<i>A.hydrophila</i>	<i>L.sake</i> Lb790	<i>E.faecium</i>	<i>L.monocytogenes</i> Li1
LO180	<i>L.helveticus</i> O16	-	-	+	-
LO121	Tanımsız O10	TE	-	++	+++
LO123	Tanımsız O17	+++	+	++	+++

TE:Tespit edilemedi

-:<0.5 mm (etkisiz); +:0.5-1.0mm(zayıf etkili); ++: 1.1-3.0mm (orta etkili); +++:>3.0mm (yüksek etkili)

Küme 3 üyelerinden *L. helveticus* O16, *A. hydrophila*, *L.sake* Lb790 ve *L.monocytogenes* Li1'e karşı inhibitör etkisiz, *E.faecium*'a karşı zayıf inhibitör etkilidir. Tanımsız O10 ve Tanımsız O17 ise *E.faecium*'a karşı orta, *L.monocytogenes* Li1'e karşı da yüksek inhibitör etkilidir. Tanımsız O10 *L.sake* Lb790'a karşı inhibitör etkisiz iken, Tanımsız O17 *A.hydrophila*'ya karşı yüksek inhibitör etkili, *L.sake* Lb790'a karşı zayıf etkilidir.

Tek üyeli kümeler: Nümerik taksonomi ile sınıflandırmada tek üyeli kümeler olarak sınıflandırılan izolatların antimikrobiyal aktivite sonuçları da Tablo 3.10'da verilmiştir.

L.lactis ssp. *lactis* O3, *A.hydrophila* ve *L.monocytogenes* Li1'e karşı yüksek, *E.faecium*'a karşı orta inhibitör etkili, *L.sake* Lb790'a karşı ise etkisizken; tip izolatı olan *L.lactis* 7, indikatörlerin tümüne karşı etkisizdir. González vd (2007) çalışmalarında *L.lactis* subsp. *lactis*'in 13 suşunun 1 adedi dışında *L.monocytogenes* CECT 4031'e karşı inhibitör etki göstermediğini belirtmişlerdir. Özkalp (2006) çalışmasında 50 adet *L.lactis* izolatıyla çalışmış ve 4 adedinin *L.sake* NCDO 2714'e karşı inhibitör etkili, diğerlerinin etkisiz olduğunu tespit etmiştir. Bu literatür verilerine göre *L.lactis* 7 izolatının sonuçlarının González vd (2007) ve Özkalp (2006) ile benzer; *L.lactis* ssp. *lactis* O3 izolatının ise Özkalp (2006) ile nispeten benzemekte iken González vd (2007) ile benzer olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 3.10 Tek üyeli kümelerin antimikrobiyal aktivitesi

İzolat Kodu	İzolat No	<i>A.hydrophila</i>	<i>L.sake</i> Lb790	<i>E.faecium</i>	<i>L.monocytogenes</i> Li1
LO100	<i>L.lactis</i> ssp. <i>lactis</i> O3	+++	-	++	+++
LO102	<i>L.lactis</i> 7	-	-	-	-
LO110	<i>L.pentosus</i> O8a	+++	-	+	++
LO130	<i>L.brevis</i> O11	TE	-	+	+
LB131	<i>L.brevis</i> 2	-	-	-	++
PP167	<i>P.pentosaceus</i> 10	-	-	-	-
LO170	<i>L.curvatus</i> O32	-	-	+++	+++
LC171	<i>L.curvatus</i> 3	-	-	-	-
LO190	<i>L.paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> O54	-	-	++	+++
LR192	<i>L.paracasei</i> 5	-	-	-	++
LS201	<i>L.salivarius</i> 4	-	-	-	-
LA210	<i>L.acidophilus</i> 6	-	-	-	-
LM220	<i>L.mesenteroides</i> 9	-	-	-	-
PA230	<i>P.acidilactici</i> 11	-	-	-	-
LO120	Tanımsız O1	+	-	-	+++
LO122	Tanımsız O15	+++	+	++	+++
LO124	Tanımsız O18	-	-	-	+++

TE: Tespit edilemedi

-:<0.5 mm etkisiz; +:0.5-1.0mm zayıf etkili; ++: 1.05-3.0 mm orta etkili; +++:>3.0mm yüksek etkili

L.pentosus O8a, *A.hydrophila*'ya karşı yüksek, *L.monocytogenes* Li1'e karşı orta, *E.faecium*'a karşı düşük inhibitör etkili, *L.sake* Lb790'a karşı ise etkisizdir. Çon ve Gökalp (2000) tarafından da *L.pentosus* izolatlarının *L.sake* Lb790'a karşı 2 izolattan 1 adedinin zayıf etkili, diğerinin etkisiz; *L.monocytogenes* Li6'ya karşı 2 izolattan 1 adedinin etkisiz diğerinin zayıf etkili olduğu belirtilmiştir. Literatür verileri çalışma sonuçları ile çelişmemektedir.

L.brevis O11, *L.sake* Lb790'a karşı etkisiz, *E.faecium* ve *L.monocytogenes* Li1'e karşı ise zayıf etkilidir. *L.brevis* 2 ise sadece *L.monocytogenes* Li1'e karşı orta düzeyde inhibitör etki göstermiştir. Oysa bu çalışma sonucunun aksine, Şimşek (2003) *L.brevis* ssp. *lindneri* 2103'ün *L.sake* Lb790'a karşı yüksek düzeyde inhibitör etki gösterdiğini belirtmiştir.

L.curvatus O32, *A.hydrophila* ve *L.sake* Lb790'a karşı etkisiz, *E.faecium* ve *L.monocytogenes* Li1'e karşı yüksek etkili iken, *L.curvatus* 3 hiçbir indikatöre karşı inhibitör etki göstermemiştir. Papamanoli vd (2003) yapmış oldukları çalışmada Yunan kuru fermente sucuğundan izole ettiği 24 adet *L.curvatus* izolatının bir kısmının *L.monocytogenes*'e karşı antilisterial aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu oran %58'dir. Brink vd (2006) *L.curvatus* DF38'in *L.sakei* LMG13558'e karşı zayıf etki gösterdiğini belirtmiştir. Çon ve Gökalp (2000) çalışmalarında *L.curvatus*'un 4 adet izolatından *L.sake* Lb790'a karşı 2 adedinin etkisiz, 1 adedinin orta düzeyde etkili, 1 adedinin zayıf etkili inhibisyon gösterdiğini saptamıştır. *L.monocytogenes* Li6'ya karşı *L.curvatus*'un 4 izolatından 2 adedi etkisiz, 2 adedi zayıf etkili inhibitör etki göstermiştir. Çalışma sonuçları Papamanoli vd (2003), Çon ve Gökalp (2000) ile benzer, Brink vd (2006) ile benzeşmemektedir.

L.paracasei ssp. *paracasei* O54, *A.hydrophila* ve *L.sake* Lb790'a karşı etkisiz, *E.faecium*'a orta etkili ve *L.monocytogenes* Li1'e karşı yüksek etkili; *L.paracasei* 5, *A.hydrophila*, *L.sake* Lb790 ve *E.faecium*'a karşı etkisiz, *L.monocytogenes* Li1'e karşı orta düzeyde inhibitör etkili aktivite göstermiştir. Bu çalışmanın aksine, González vd (2007) *L.paracasei*'nin 2 izolatının *L.monocytogenes* CECT 4031'e karşı inhibitör etki göstermediğini belirtmiştir. Brink vd (2006) tarafından ise *L.casei* LHS suşlarının *L.sakei* LMG 13558'e karşı zayıf inhibitör etkili olduğu ifade edilmiştir.

P.pentosaceus 10, *L.mesenteroides* 9, *P.acidilactici* 11, *L.salivarius* 4 ve *L.acidophilus* 6 tüm indikatörlere karşı inhibitör etkisizdir. González vd (2007) *Leu.mesenteroides*'in 2 izolatının *L.monocytogenes* CECT 4031'e karşı inhibitör etki göstermediğini, Brink vd (2006) *L. salivarius* 241 izolatının *L.sakei* LMG 13558'e karşı etkisiz olduğunu belirtmişlerdir. Şimşek vd (2006) tarafından da 4 adet *L.acidophilus* izolatının *L.sake* Lb790'a karşı orta düzeyde inhibitör etkili, *L.monocytogenes* Li6'ya karşı bu izolatlardan 1 adedinin orta düzeyde 1 adedinin yüksek düzeyde etkili olduğu, diğer iki izolatın etkisiz olduğu tespit edilmiştir. *L.mesenteroides* 9 ve *L.salivarius* 4

sonuçları literatür verileri ile uyum gösterirken, *L.acidophilus* sonuçları uyumsuz bulunmaktadır.

Tanımsız O1 *A.hydrophila*'ya karşı düşük inhibitör etkili; *L.sake* Lb790, *E.faecium*'a karşı etkisiz, *L.monocytogenes* Li1'e karşı yüksek inhibitör etkili; Tanımsız O15, *L.sake* Lb790'a karşı zayıf, *E.faecium*'a karşı orta, *A.hydrophila* ve *L.monocytogenes* Li1'e karşı yüksek etkili; Tanımsız O18 de *A.hydrophila*, *L.sake* Lb790 ve *E.faecium*'a karşı etkisiz, *L.monocytogenes* Li'e karşı yüksek etkilidir. Şimşek vd (2006) *Lactobacillus*'larla yaptığı çalışmada 7 izolattan 3 adedinin *L.sake* Lb790'a karşı zayıf etkili 3 adedinin orta düzeyde etkili, 1 adedinin yüksek inhibitör etkili olduğunu bildirmişlerdir. Öte yandan *L.monocytogenes* Li6'ya karşı bu izolatlardan 4 adedinin etkisiz, 2 adedinin zayıf etkili, 1 adedinin orta düzeyde etkili olduğu belirtilmiştir.

Küme üyelerinden *L.lactis* ssp. *lactis* O3, *L.curvatus* O32 ve Tanımsız O15 özellikle *E.faecium* ve *L.monocytogenes* Li1'e karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktivite nedeni ile starter kültür ve probiyotik özellik açısından öne çıkmaktadırlar.

3.2.2. Farklı sıcaklıklarda gelişme

Gıda endüstrisinde farklı gıdaların üretimi ve depolanması açısından mikroorganizmaların gelişme sıcaklıkları büyük önem taşımaktadır. Starter kültür olarak kullanılan laktik asit bakterileri özellikle gıdaların üretim şartlarının belirlenmesinde büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle izolatların farklı sıcaklıklarda gelişme testleri gerçekleştirilmiş ve kümelere göre tartışılmıştır.

Küme 1: Küme üyelerinden olan 7 adet izolatın 10°C, 15°C ve 45°C'de gelişme yetenekleri Tablo 3.11'da verilmiştir.

Tablo 3.11 Küme 1 izolatlarının farklı sıcaklık değerlerinde gelişimi

İzolat Kodu	İzolat No	Sıcaklık Değeri		
		10°C	15°C	45°C
LO160	<i>P.pentosaceus</i> O24	-	+	+
LO161	<i>P.pentosaceus</i> O25	-	+	+
LO162	<i>P.pentosaceus</i> O27	-	+	+
LO163	<i>P.pentosaceus</i> O29	-	+	+
LO164	<i>P.pentosaceus</i> O31	-	+	+
LO165	<i>P.pentosaceus</i> O57	+	+	+
LO125	Tanımsız O28	+	+	-

+: Gelişme var; - Gelişme yok

10°C sıcaklıkta sadece *P.pentosaceus* O57 gelişme gösterirken, 15°C ve 45°C sıcaklıklarda ise tüm *P.pentosaceus* üyeleri gelişmiştir. Tanımsız O28 izolatu da 10°C ve 15°C'de gelişmiş, 45°C'de ise gelişme göstermemiştir. Tamang vd (2005) tarafından da bu çalışma sonuçlarına benzer şekilde, test edilen 7 adet *P.pentosaceus* izolatu'nun 45°C'de 5 adedinin geliştiği, 2 adedinin gelişmediği belirtilmiştir. Şimşek (2003) *Pediococcus sp.* E5'in 45°C'de gelişmesinin negatif, 15°C'de gelişmesinin pozitif olduğunu ifade etmiştir. 15°C'de gelişme literatür verileriyle tam bir uyum içerisinde iken, 45°C'de gelişme verileri arasında farklılıklar ortaya çıkmıştır. Asidik fermente gıdalarda starter kültür olarak kullanım açısından izolatların tamamının 15°C'de gelişebilmeleri yeterli kabul edilebilir.

Küme 2: Kümede yer alan 15 adet izolatu'nun 10°C, 15°C ve 45°C'deki gelişme yetenekleri Tablo 3.12'de gösterilmiştir.

Tablo 3.12 Küme 2 izolatlarının farklı sıcaklık değerlerinde gelişimi

İzolat Kodu	İzolat No	Sıcaklık Değeri		
		10°C	15°C	45°C
LO140	<i>L.plantarum</i> O12	-	+	-
LO141	<i>L.plantarum</i> O13	-	+	-
LO142	<i>L.plantarum</i> O14	-	+	-
LO143	<i>L.plantarum</i> O19	+	+	-
LO144	<i>L.plantarum</i> O20	+	+	-
LO145	<i>L.plantarum</i> O21	+	+	-
LO147	<i>L.plantarum</i> O23	+	+	-
LO148	<i>L.plantarum</i> O26	+	+	-
LO149	<i>L.plantarum</i> O30	+	+	-
LO150	<i>L.plantarum</i> O33	+	+	-
LO151	<i>L.plantarum</i> O41	+	+	-
LO153	<i>L.plantarum</i> O58	+	+	+
LO155	<i>L.plantarum</i> 1	+	+	-
LO156	<i>L.plantarum</i> O22b	+	+	-
LO157	<i>L.plantarum</i> O44b	+	+	-

+: Gelişme var; - Gelişme yok

Küme 2 üyelerinden 10°C'de *L.plantarum* O12, O13 ve O14 gelişme göstermezken, 15°C'de tüm üyeler gelişme göstermiştir. 45°C'de ise *L.plantarum* O58 haricinde hiçbir üye gelişme göstermemiştir. Carry vd (2002) *L.plantarum* suşlarının 15°C'de gelişebildiğini, 45°C'de gelişemediğini, Sánchez vd (2000) ise hem 15°C hem de 45°C'de geliştiklerini, Şimşek (2003) çalışmasında 3 adet *L.plantarum* izolatu'nun 15°C'de tamamının, 45°C'de 1 adedinin geliştiğini belirtmişlerdir. Papamanoli vd (2003) tarafından da 7 adet *L.plantarum*'un 15°C ve 45°C'de %100'ünün gelişebildiği

saptanmıştır. Tamang vd (2005) Himalayalarda üretilen fermente sebzelerden izole ettikleri 13 adet *L.plantarum* izolatından 2 adedinin 45°C’de gelişme gösterdiğini, García Fontán vd (2007) ise yaptıkları çalışmada İspanya geleneksel domuz sucuğu olan Botilla’dan izole ettikleri 18 adet *L.plantarum* izolatının 15°C’de tamamının, 45°C’de sadece 1 adedinin geliştiğini tespit etmişlerdir. Literatür verileri ile çalışma sonuçları karşılaştırıldığında 15°C’de gelişme açısından tam bir uyum olduğu görülmektedir. 45°C’de gelişme açısından ise sonuçlar Sánchez vd (2000) ve Papamanoli vd (2003) ile önemli derecede farklıyken, diğer çalışma sonuçları ile benzerdir.

Küme üyelerinin 10°C’de büyük kısmının ve 15°C’de de tamamının gelişebilmesi asidik fermente gıda üretiminde starter kültür olarak kullanım açısından olumlu ve yeterlidir.

Küme 3: Küme üyelerinden *L.helveticus* O16, Tanımsız O10 ve O17, 10°C ve 15°C’de gelişme gösterirken, 45°C’de gelişme göstermemiştir (Tablo 3.13). Küme üyelerinin 10°C ve 15°C’de tamamının gelişebilmesi starter kültür olarak kullanım açısından olumlu ve yeterlidir.

Tablo 3.13 Küme 3 izolatlarının farklı sıcaklık değerlerinde gelişimi

İzolat Kodu	İzolat No	Sıcaklık Değeri		
		10°C	15°C	45°C
LO180	<i>L.helveticus</i> O16	+	+	-
LO121	Tanımsız O10	+	+	-
LO123	Tanımsız O17	+	+	-

+: Gelişme var; - Gelişme yok

Tek üyeli kümeler: Tek üyeli kümelerin farklı sıcaklıklarda gelişim sonuçları Tablo 3.14’de verilmiştir.

Tablo 3.14’de gösterildiği gibi 10°C sıcaklıkta *L.lactis* ssp *lactis* O3, *L.lactis* 7, *L.salivarius* 4, *L.acidophilus* 6, Tanımsız O1 gelişme göstermezken; 15°C sıcaklıkta *L.salivarius* 4, *L.acidophilus* 6, Tanımsız O1 gelişme göstermemiş, diğer üyeler gelişmiştir. 45°C’de ise *L.lactis* ssp. *lactis* O3, *P.pentosaceus* 10, *L.salivarius* 4 ve *P.acidilactici* 11 izolatları gelişme göstermiş, diğerleri gelişme göstermemiştir.

Tablo 3.14 Tek üyeli kümelerin farklı sıcaklık değerlerinde gelişimi

İzolot Kodu	İzolot No	Sıcaklık Değeri		
		10°C	15°C	45°C
LO100	<i>L.lactis ssp. lactis</i> O3	-	+	+
LO102	<i>L.lactis</i> 7	-	+	-
LO110	<i>L. pentosus</i> O8a	+	+	-
LO130	<i>L.brevis</i> O11	+	+	-
LB131	<i>L.brevis</i> 2	+	+	-
PP167	<i>P.pentosaceus</i> 10	+	+	+
LO170	<i>L.curvatus</i> O32	+	+	-
LC171	<i>L.curvatus</i> 3	+	+	-
LO190	<i>L.paracasei ssp.paracasei</i> O54	+	+	-
LR192	<i>L.paracasei</i> 5	+	+	-
LS201	<i>L.salivarius</i> 4	-	-	+
LA210	<i>L.acidophilus</i> 6	-	-	-
LM220	<i>L.mesenteroides</i> 9	+	+	-
PA230	<i>P.acidilactici</i> 11	+	+	+
LO120	Tanımsız O1	-	-	-
LO122	Tanımsız O15	+	+	-
LO124	Tanımsız O18	+	+	-

+: Gelişme var; - Gelişme yok

Ayad vd (1999) tarafından 4 adet *L.lactis* ticari starter izolatu ile keçi sütü (3 adet), koyun sütü (1 adet), inek sütü (2 adet), fermente çiğ süt (6 adet), çimen (1 adet), silaj (4 adet), süt makinesi (1 adet) ve topraktan (1 adet) izole edilmiş *L.lactis* izolatlarının 40°C'de gelişme gösterdiği bildirilmiştir. Özkalp (2006) 50 adet *L.lactis* izolatuyla yapmış olduğu çalışmada 30°C de izolatların tamamının gelişme gösterdiğini, 40°C de 3 izolatu, 45°C'de ise hiçbirisinin gelişme göstermediğini belirtmiştir. Çalışma sonucu 45°C'de gelişme açısından karşılaştırıldığında Özkalp (2006) ile kısmen benzerlik göstermektedir.

Tamang vd (2005) çalışmalarında 1 adet *P.acidilactici*'nin 45°C de geliştiğini, 13 adet *L.brevis* izolatının 45°C'de gelişmediğini tespit etmiştir. *P.acidilactici* ve *L.brevis* için bulunan sonuçlar literatür verileri ile uyumludur.

Papamanoli vd (2003) yapmış oldukları çalışmada Yunan kuru fermente sucuğundan izole ettikleri 24 adet *L.curvatus*'un 4°C de %0, 15°C'de %100, 45°C'de %21 geliştiğini tespit etmiştir. Kask vd (2003) Estonya yarı sert peynirlerinden izole ettikleri 2 adet *L.curvatus*'un 30 dk. için 60°C sıcaklığa toleranslı olduğunu bildirmiştir, *L.curvatus* için yaptıkları çalışmada 30°C de iyi gelişme tespit etmişlerdir. García Fontán vd (2007) tarafından yapılan çalışmada da 23 adet *L.curvatus*'un 15°C'de

tamamının (%100) ve 45°C'de 3 adedinin (%13) geliştiği saptanmıştır. Sonuçlar 15°C'de gelişme açısından Papamanoli vd (2003) ve García Fontán vd (2007) literatür verileri ile tam uyumludur. 45°C'de gelişme açısından ise Papamanoli vd (2003) ve García Fontán vd (2007) çalışmalarında 45 °C'de gelişenlerin de olması nedeni ile farklılık göstermektedir.

L.paracasei 5 ve *L.paracasei* ssp. *paracasei* O54, 10°C ve 15°C de gelişmiş, 45°C'de gelişmemiştir. Kask vd (2003) izole ettiği 6 adet *L.paracasei* izolatının 30°C'de iyi geliştiğini bildirmiştir. Tamang vd (2005) tarafından yapılan çalışmada 1 adet *P.acidilactici*'nin 45°C'de geliştiği belirtilmiştir. Tamang vd (2005) tarafından bildirilen literatür verisi çalışma sonuçlarından farklılık göstermektedir.

Şimşek (2003) ekşi hamur örneklerinden izole ettiği 4 adet *L.acidophilus* izolatının 45°C'de tamamının, 15°C'de ise sadece 1 izolatın gelişebildiğini belirtmiştir. Bu literatür verisi çalışma sonucu ile farklılık göstermektedir.

Hébert vd (2000) çalışmasında Arjantin ve İtalya peynirlerinden izole ettiği Lactobacilli'lerin 37°C ve 45°C'de geliştiğini, 15°C'de gelişemediğini tespit etmiştir. Şimşek (2003) *Lactobacillus* sp. izolatları ile yaptığı çalışmada 7 adet izolatın 15°C'de tamamının gelişme gösterdiğini, 45°C'de ise 2 adedinin gelişme gösterdiğini bildirmiştir.

L.salivarius 4, *L.acidophilus* 6 ve Tanımsız O1 dışındaki küme üyeleri 15°C'de gelişebilmeleri nedeni ile starter kültür olarak kullanım açısından yeterli bulunmaktadır.

3.2.3. Farklı pH değerlerinde gelişme

İnsanların tüketimine sunulan gıdaların pH değerleri birbirinden büyük farklılıklar göstermekle birlikte büyük çoğunluğu asidik pH değerlerine sahiptir. Ortamın pH değeri mikroorganizma gelişmesi üzerine önemli derecede etkilidir ve asitlik arttıkça zararlı etkisi de artmaktadır. Bu nedenle tüketime hazır gıdaların pH değerleri depolanmaları açısından büyük önem taşımaktadır. Bu durum aynı zamanda starter kültür ve/veya probiyotik kültür olarak kullanılacak mikroorganizmaların aside dayanıklılıklarını önemli kılmaktadır. Bu nedenle izolatların farklı pH değerlerinde gelişme durumları test edilmiş ve kümelere göre tartışılmıştır.

Küme 1: Küme üyelerinden olan 7 adet izolatın farklı pH değerlerinde gelişme yetenekleri (Tablo 3.15) verilmiştir. MRS broth besiyerinde 30°C’de 7 gün inkübasyon sonunda *P.pentosaceus* izolatlarının tamamının 3.5 pH ve 9.6 pH’da gelişme gösterdikleri, 3.0 pH’da gelişme göstermedikleri tespit edilmiştir. Küme üyelerinin 3.5 pH değerinde gelişebilmeleri asidik fermente gıda üretiminde starter kültür olarak kullanım açısından yeterli kabul edilebilir.

Tablo 3.15 Küme 1 izolatlarının farklı pH değerlerinde gelişimi

İzolat Kodu	İzolat No	pH Değeri		
		3.0	3.5	9.6
LO160	<i>P.pentosaceus</i> O24	-	+	+
LO161	<i>P.pentosaceus</i> O25	-	+	+
LO162	<i>P.pentosaceus</i> O27	-	+	+
LO163	<i>P.pentosaceus</i> O29	-	+	+
LO164	<i>P.pentosaceus</i> O31	-	+	+
LO165	<i>P.pentosaceus</i> O57	-	+	+
LO125	Tanımsız O28	-	+	+

+: Gelişme var; - Gelişme yok

Küme 2: Küme üyelerinden 30°C’de 7 gün inkübasyon sonucunda 3.0 pH’da sadece *L.plantarum* O44b’nin; 3.5 pH ve 9.6 pH’da ise tüm izolatların gelişme gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 3.16). G-Allegria vd (2004) çalışmasında izole etmiş olduğu *L.plantarum*’ların 3.2 pH, 3.3 pH ve 3.6 pH’da gelişme gösterdiğini; McDonald vd (1990) *L.plantarum*’un 4.5-7.0 pH arasında geliştiğini bildirmiştir. Papamanoli vd (2003) çalışmalarında kuru fermente sucuktan izole ettikleri 7 adet *L.plantarum* izolatının 4.0 pH ve 5.0 pH’da geliştiğini, 3.0 pH’da gelişemediğini tespit etmiştir. Çalışma sonuçlarının literatür verileriyle çelişmediği görülmektedir.

Küme 2 üyelerinin 3.5 pH değerinde gelişebilmeleri asidik fermente gıda üretiminde starter kültür olarak kullanım açısından yeterli kabul edilebilir.

Küme 3: Küme üyelerinden *L.helveticus* O16 ile Tanımsız O10 ve Tanımsız O17 3.0 pH ve 3.5 pH’da gelişmemiş, 9.6 pH’da gelişmiştir (Tablo 3.17). Küme üyelerinin 3.5 pH değerinde de gelişmemeleri asidik fermente gıda üretiminde starter kültür olarak kullanım açısından onları dezavantajlı hale getirmektedir.

Tablo 3.16 Küme 2 izolatlarının farklı pH değerlerinde gelişimi

İzolat Kodu	İzolatlar	pH Değeri		
		3.0	3.5	9.6
LO140	<i>L.plantarum</i> O12	-	+	+
LO141	<i>L.plantarum</i> O13	-	+	+
LO142	<i>L.plantarum</i> O14	-	+	+
LO143	<i>L.plantarum</i> O19	-	+	+
LO144	<i>L.plantarum</i> O20	-	+	+
LO145	<i>L.plantarum</i> O21	-	+	+
LO147	<i>L.plantarum</i> O23	-	+	+
LO148	<i>L.plantarum</i> O26	-	+	+
LO149	<i>L.plantarum</i> O30	-	+	+
LO150	<i>L.plantarum</i> O33	-	+	+
LO151	<i>L.plantarum</i> O41	-	+	+
LO153	<i>L.plantarum</i> O58	-	+	+
LO155	<i>L.plantarum</i> 1	-	+	+
LO156	<i>L.plantarum</i> O22b	-	+	+
LO157	<i>L.plantarum</i> O44b	+	+	+

+: Gelişme var; - Gelişme yok

Tablo 3.17 Küme 3 izolatlarının farklı pH değerlerinde gelişimi

İzolat kodu	İzolatlar	pH Değeri		
		3.0	3.5	9.6
LO180	<i>L.helveticus</i> O16	-	-	+
LO121	Tanımsız O10	-	-	+
LO123	Tanımsız O17	-	-	+

+: Gelişme var; - Gelişme yok

Tek üyeli kümeler: Tek üyeli kümelerin farklı sıcaklıklarda gelişim sonuçlarının verildiği Tablo 3.18'ye göre 3.0 pH'da *L.lactis* 7, *L.brevis* 2, *L.curvatus* 3, *L.paracasei* 5, *L.salivarius* 4 gelişmiş, diğer üyeler gelişmemiş, 3.5 pH'da *L.lactis* ssp. *lactis* O3, Tanımsız O1, Tanımsız O18 gelişmemiş, diğer üyeler gelişmiştir. 9.6 pH'da ise *L.acidophilus* 6 ve Tanımsız O1 gelişmezken, diğer tüm üyeler gelişmiştir.

Özkalp (2006) çalışmasında 50 adet *L.lactis* izolatının tamamının 9.6 pH'da negatif olduğunu belirtmiştir. Sánchez vd (2000) tarafından izole edilen *L. pentosus* suşlarının da 3.0 pH'da gelişme göstermediği 3.5 pH ve 9.6 pH'da geliştiği bildirilmiştir. Çalışma sonuçları bu literatür verilerinden Sánchez vd (2000) çalışması ile oldukça iyi bir uyum göstermektedir.

Tablo 3.18. Tek üyeli kümelerin farklı pH değerlerinde gelişimi

İzolat Kodu	İzolatlar	pHdeğeri		
		3.0	3.5	9.6
LO100	<i>L.lactis ssp. lactis</i> O3	-	-	+
LO102	<i>L.lactis</i> 7	+	+	+
LO110	<i>L. pentosus</i> O8a	-	+	+
LO130	<i>L.brevis</i> O11	-	+	+
LB131	<i>L.brevis</i> 2	+	+	+
PP167	<i>P.pentosaceus</i> 10	-	+	+
LO170	<i>L.curvatus</i> O32	-	+	+
LC171	<i>L.curvatus</i> 3	+	+	+
LO190	<i>L.paracasei ssp. paracasei</i> O54	-	+	+
LR192	<i>L.paracasei</i> 5	+	+	+
LS201	<i>L.salivarius</i> 4	+	+	+
LA210	<i>L.acidophilus</i> 6	-	+	-
LM220	<i>L.mesenteroides</i> 9	-	+	+
PA230	<i>P.acidilactici</i> 11	-	+	+
LO120	Tanımsız O1	-	-	-
LO122	Tanımsız O15	-	+	+
LO124	Tanımsız O18	-	-	+

+: Gelişme var; - Gelişme yok

Papamanoli vd (2003) tarafından yapılan çalışmada kuru fermente sucuktan izole edilen 24 adet *L.curvatus*'un 3.0 pH'da gelişme göstermediği, 4.0 pH'da %42, 5.0 pH'da %58 gelişme gösterdiği bildirilmiştir. Benzer pH derecelerinde gelişme testi yapılmamış olması nedeni ile literatür verileri ile tam bir karşılaştırma yapılamamakla birlikte, sonuçların birbirini doğrular olduğu ifade edilebilir.

3.2.4. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme

Asidik fermente gıdaların büyük kısmının üretiminde %1-10 NaCl arasında değişen konsantrasyonlarda tuz kullanılmaktadır. Tuz mikroorganizma gelişimi üzerine farklı mekanizmalarla durdurucu etki yapmaktadır. Ancak farklı mikroorganizmaların tuza dayanıklılık dereceleri de birbirinden farklılık göstermektedir. Bu nedenle starter kültür ve/veya probiyotik kültür olarak kullanılacak mikroorganizmaların tuza dayanıklı olanlardan seçilmesi gerekmektedir. Bu durum göz önüne alınarak çalışmada izolatların farklı NaCl oranlarına dayanıklılıkları test edilmiş ve kümelere göre tartışılmıştır.

Küme 1: Küme üyesi izolatlar önceden hazırlanan %3.0, 4.0, 5.0, 6.5, 8.0, 9.0 oranlarında NaCl ilave edilmiş MRS broth besiyerlerine öze ile aşılanmış ve 30°C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda tüm izolatların %3.0, 4.0, 5.0, 6.5, 8.0 ve 9.0 NaCl içeren MRS brothda gelişme gösterdikleri tespit edilmiştir (Tablo

3.19). Tuza dayanıklılık açısından küme üyesi tüm izolatlar starter kültür olarak kullanım için yeterli dayanıklılıktadır.

Tablo 3.19 Küme 1 izolatlarının farklı % NaCl değerlerinde gelişimi

İzolat Kodu	İzolatlar	NaCl Oranı (%)					
		3.0	4.0	5.0	6.5	8.0	9.0
LO160	<i>P.pentosaceus</i> O24	+	+	+	+	+	+
LO161	<i>P.pentosaceus</i> O25	+	+	+	+	+	+
LO162	<i>P.pentosaceus</i> O27	+	+	+	+	+	+
LO163	<i>P.pentosaceus</i> O29	+	+	+	+	+	+
LO164	<i>P.pentosaceus</i> O31	+	+	+	+	+	+
LO165	<i>P.pentosaceus</i> O57	+	+	+	+	+	+
LO125	Tanımsız O28	+	+	+	+	+	-

+: Gelişme var; - Gelişme yok

Küme 2: Küme üyesi olan *L.plantarum* izolatlarından *L.plantarum* O20 haricindeki izolatlar %3.0, 4.0, 5.0, 6.5, 8.0, 9.0 NaCl içerikli MRS brothlarda gelişme göstermiştir. *L.plantarum* O20 ise %8.0 ve %9.0 NaCl içerikli brothda gelişmemiştir (Tablo 3.20). *L.plantarum* O20 hariç küme üyesi diğer izolatlar starter kültür olarak kullanım açısından yeterli tuz oranında gelişebilmektedir.

Tablo 3.20 Küme 2 izolatlarının farklı % NaCl değerlerinde gelişimi

İzolat Kodu	İzolatlar	NaCl Oranı (%)					
		3.0	4.0	5.0	6.5	8.0	9.0
LO140	<i>L.plantarum</i> O12	+	+	+	+	+	+
LO141	<i>L.plantarum</i> O13	+	+	+	+	+	+
LO142	<i>L.plantarum</i> O14	+	+	+	+	+	+
LO143	<i>L.plantarum</i> O19	+	+	+	+	+	+
LO144	<i>L.plantarum</i> O20	+	+	+	+	-	-
LO145	<i>L.plantarum</i> O21	+	+	+	+	+	+
LO147	<i>L.plantarum</i> O23	+	+	+	+	+	+
LO148	<i>L.plantarum</i> O26	+	+	+	+	+	+
LO149	<i>L.plantarum</i> O30	+	+	+	+	+	+
LO150	<i>L.plantarum</i> O33	+	+	+	+	+	+
LO151	<i>L.plantarum</i> O41	+	+	+	+	+	+
LO153	<i>L.plantarum</i> O58	+	+	+	+	+	+
LO155	<i>L.plantarum</i> 1	+	+	+	+	+	+
LO156	<i>L.plantarum</i> O22b	+	+	+	+	+	+
LO157	<i>L.plantarum</i> O44b	+	+	+	+	+	+

+: Gelişme var; - Gelişme yok

Sánchez vd (2000) tarafından yapılan çalışmada izole edilen *L.plantarum* suşlarının % 4.0, 6.5 ve 8.0 NaCl konsantrasyonlarında tamamının geliştiği, Badis vd (2004)

tarafından keçi sütünden izole edilen *L.plantarum* izolatlarının %2.0, 3.0, 4.0'lük NaCl konsantrasyonunda %90'ından fazlasının pozitif gelişme gösterdiği, %6.5 konsantrasyonlarında gelişme göstermediği tespit edilmiştir. Papamanoli vd (2003) tarafından yapılan çalışma sonucunda kuru fermente sucuktan izole edilen 7 adet *L.plantarum*'un %6.5, 8.0 ve 10 NaCl konsantrasyonunda %100 geliştikleri bildirilmiştir. Karasu (2006) yapmış olduğu çalışmada turşu ve zeytinden izole ettiği laktik asit bakterilerinin %6-8 NaCl oranında 16 izolattan 3'ü hariç diğerlerinin rahatlıkla gelişebileceğini bildirmiştir. Çalışma sonuçları, Sánchez vd (2000) ve Papamanoli vd (2003) ile tam uyumlu, Karasu (2006) ile benzerdir. Badis vd (2004) tarafından verilenlerden ise yüksek konsantrasyonlarda gelişme açısından farklılık göstermektedir.

Küme 3: Küme üyelerinin tamamı %3.0, 4.0, 5.0, 6.5, 8.0, 9.0 NaCl içerikli MRS brothda gelişmektedir (Tablo 3.21). Bu sonuçlar starter kültür olarak kullanımı açısından olumlu ve yeterlidir.

Tablo 3.21 Küme 3 izolatlarının farklı %NaCl değerlerinde gelişimi

İzolat kodu	İzolatlar	NaCl Oranı (%)					
		3.0	4.0	5.0	6.5	8.0	9.0
LO180	<i>L.helveticus</i> O16	+	+	+	+	+	+
LO121	Tanımsız O10	+	+	+	+	+	+
LO123	Tanımsız O17	+	+	+	+	+	+

+: Gelişme var

Tek üyeli kümeler: Tablo 3.22'de görüldüğü gibi %3.0, 4.0, 5.0 NaCl'de Tanımsız O1 dışında tüm üyeler gelişmiştir. %6.5 NaCl'de *L.salivarius* 4, *L.acidophilus* 6, Tanımsız O1 dışında tamamı gelişmiştir. %6.5 NaCl'de gelişemeyenlere, %8.0 NaCl'de *L.lactis* ssp. *lactis* O3 ve Tanımsız O15 eklenmiştir. %9.0 NaCl'de ise *L.lactis* ssp. *lactis* O3, *P.pentosaceus* 10, *L.curvatus* 3, *L.salivarius* 4, *L.acidophilus* 6, Tanımsız O1, Tanımsız O15, Tanımsız O18 gelişmemiştir.

Ayad vd (1999) çalışmalarında 23 adet *L.lactis* izolatının tamamının %4.0 NaCl'de geliştiğini tespit etmişlerdir. Özkalp (2006) çalışmasında 50 adet *L.lactis* izolatından %4.0 NaCl içerikli besiyerinde 4 adedinin, %6.5 NaCl içerikli besiyerinde ise tamamının gelişmediğini belirtmiştir. Çalışma sonucunda tuza dayanıklılık oranı Ayad vd (1999) ve Özkalp (2006) tarafından verilenlerden daha yüksek bulunmuştur. Bu starter özelliği açısından olumlu bir durumdur.

Tablo 3.22 Tek üyeli kümelerin farklı %NaCl değerlerinde gelişimi

İzolot kodu	İzolatlar	% NaCl					
		3.0	4.0	5.0	6.5	8.0	9.0
LO100	<i>L.lactis</i> ssp. <i>lactis</i> O3	+	+	+	+	-	-
LO102	<i>L.lactis</i> 7	+	+	+	+	+	+
LO110	<i>L.pentosus</i> O8a	+	+	+	+	+	+
LO130	<i>L.brevis</i> O11	+	+	+	+	+	+
LB131	<i>L.brevis</i> 2	+	+	+	+	+	+
PP167	<i>P.pentosaceus</i> 10	+	+	+	+	+	-
LO170	<i>L.curvatus</i> O32	+	+	+	+	+	+
LC171	<i>L.curvatus</i> 3	+	+	+	+	+	-
LO190	<i>L.paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> O54	+	+	+	+	+	+
LR192	<i>L.paracasei</i> 5	+	+	+	+	+	+
LS 201	<i>L.salivarius</i> 4	+	+	+	-	-	-
LA210	<i>L.acidophilus</i> 6	+	+	+	-	-	-
LM220	<i>L.mesenteroides</i> 9	+	+	+	+	+	+
PA230	<i>P.acidilactici</i> 11	+	+	+	+	+	+
LO120	Tanımsız O1	-	-	-	-	-	-
LO122	Tanımsız O15	+	+	+	+	-	-
LO124	Tanımsız O18	+	+	+	+	+	-

+: Gelişme var; - Gelişme yok

Sánchez vd (2000) izole ettiği *L.pentosus* suşlarının % 4.0, 6.5 ve 8.0 NaCl konsantrasyonlarında tümünün geliştiğini göstermiştir. Bu literatür verisi çalışma sonucu ile uyumludur.

Papamanoli vd (2003) tarafından yapılan çalışmada kuru fermente sucuktan izole edilen 24 adet *L.curvatus*'un %6.5 NaCl'de %100, %8.0 NaCl'de %71, %10.0 NaCl'de %17 oranında gelişme gösterdiği bildirilmiştir. Kask vd (2003) Estonya yarı sert peynirlerinden izole ettikleri 2 adet *L. curvatus*'un yüksek tuz konsantrasyonlarına toleranslı ve safra tuzlarına duyarlı olduklarını belirtmiş ve %6.5 NaCl içeren ortamda spesifik gelişme oranının %55-59 arasında olduğunu, çoğu toleranslı türünün %9 NaCl'de varlık gösterebildiğini bildirmiştir. Çalışma sonuçları literatür verileriyle oldukça benzerdir.

Çalışmada *L.paracasei* ssp. *paracasei* O54'ün tüm NaCl konsantrasyonlarında gelişme gösterdiği tespit edilmiştir. Kask vd (2003) izole edilen 6 adet *L.paracasei* izolatının %6.5 tuzlu ortamda %18-42 arasında gelişebildiğini açıklamıştır. Çalışma sonuçları literatür verileriyle benzeşmektedir.

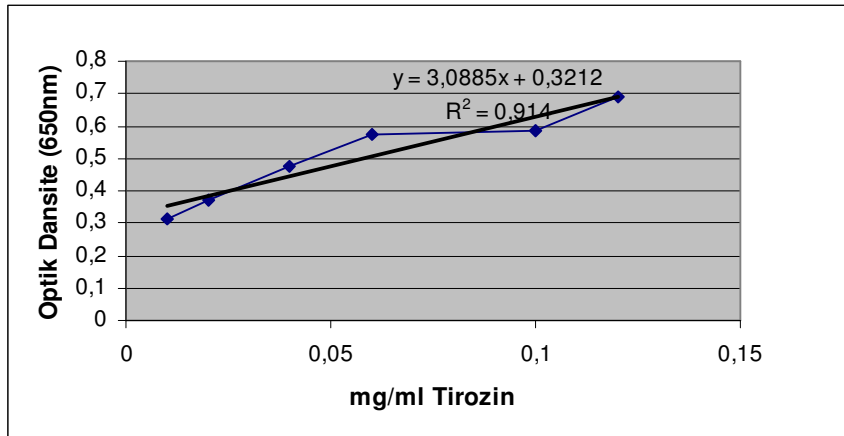
García Fontán vd (2007) tarafından *L.mesenteroides* subsp. *mesenteroides*'in 4 izolatının %6.5 NaCl konsantrasyonunda tamamının gelişme gösterdiği bildirilmiştir.

Kelly vd (1998) minimal düzeydeki sebze ve meyvelerden izole edilen laktokokların genel özellikleri üzerine araştırma yapmışlar ve bütün suşların %4.0 NaCl'de geliştiklerini ama %6.5 NaCl'de gelişemediklerini belirtmişlerdir. Çalışma sonuçları literatür verileriyle karşılaştırıldığında García Fontán vd (2007) ile tamamen benzerdir. Kelly vd (1998) tarafından laktokoklar için yapılmış olan çalışma sonuçları ise farklılık göstermektedir.

Tanımsız O1 izolatının denenen tüm NaCl konsantrasyonlarında negatif gelişme göstermesi beklenilmeyen bir durumdur. Bu sonucun bu izolatın normal besiyerinde de çok yavaş gelişmesinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. *L.salivarius* 4, *L.acidophilus* 6 ve Tanımsız O1 dışında tüm grup üyeleri NaCl'e dayanıklılık açısından starter kültür için yeterli değerlere sahip bulunmaktadır.

3.2.5. Proteolitik aktivite

Kılıç tarafından bildirildiğine göre proteolitik aktivite, mikroorganizmaların gelişmesi için gerekli aminoasitlerin protein ve peptidlerin parçalanması ile elde edilmesinde anahtar rol oynamaktadır. Ayrıca bu özellik sütçülük starter kültür özelliği içerisinde de önemli bir faktördür (Karasu 2006). Özellikle 50 µg/ml tirozin üzerinde proteolitik aktivite içeren suşlar, oluşturdukları yüksek miktardaki protein kalıntıları ve aminoasitler nedeniyle acı bir tadın gelişmesine yol açtığından, fermente süt endüstrisinde tercih edilmemektedir (Özkalp 2006). Laktik asit bakterileri proteolitik aktivite açısından zayıftırlar (Kılıç 2001). İzolatların proteolitik aktivite sonuçları Şekil 3.2'de verilen standart kurveye göre hesaplanmış ve Tablo 3.23, 3.24 ve 3.25 ve 3.26'da sunulmuştur.



Şekil 3.2 Tirozin standart kurvesi

Küme 1: Proteolitik aktivite değerleri incelendiğinde en düşük değeri *P.pentosaceus* O29 (0.0018 mg/ml), en yüksek değeri Tanımsız O28 (0.0524 mg/ml), almıştır (Tablo 3.23).

Tablo 3.23. Küme 1 izolatlarının proteolitik aktivite değerleri

İzolat Kodu	İzolatlar	Proteolitik Aktivite (mg/ml tirozin)
LO160	<i>P.pentosaceus</i> O24	0.0321
LO161	<i>P.pentosaceus</i> O25	0.0489
LO162	<i>P.pentosaceus</i> O27	0.0319
LO163	<i>P.pentosaceus</i> O29	0.0018
LO164	<i>P.pentosaceus</i> O31	0.0227
LO165	<i>P.pentosaceus</i> O57	0.0289
LO125	Tanımsız O28	0.0524

Küme üyelerinin proteolitik aktivite değerleri Özkalp (2006) tarafından belirtilen ve starter kültürde bulunması istenilen değerle uyum içerisinde olması nedeni ile izolatlar starter kültür özelliği açısından uygundur. Şimşek vd (2006) tarafından *Pediococcus* sp. E5’de belirlenen proteolitik aktiviteden (0.110 mg/ml) ise oldukça düşüktür.

Küme 2: Proteolitik aktivite değerlerine bakıldığında en yüksek *L.plantarum* O12 (0.0649 mg/ml), en düşük *L.plantarum* O19 (0.0032 mg/ml) olarak saptanmıştır (Tablo 3.24). Yüksekdağ vd (2004) kefirde izole edilen laktik asit bakterilerinin proteolitik aktivite sınır değerlerini 0.00-0.09 mg/ml tirozin olarak belirtmiş, Badis vd (2004) tarafından yapılan çalışmada da *L.plantarum* için 2.56 mg/l tirozin değeri bulunmuştur. Yaman vd (1998) tarafından 0.14-0.34 mg/ml, Şimşek vd (2006) tarafından da *L.plantarum* 431’in 0.03 mg/ml, *L.plantarum* C5’in 0.03 mg/ml tirozin değerine sahip oldukları tespit edilmiştir. Karasu (2006) turşu ve zeytinden izole ettiği *L.plantarum*’ların 0.056-0.083 mg/ml arasında proteolitik aktivite gösterdiğini saptamıştır. Sánchez vd (2005) keçi peynirinden izole ettikleri 8 adet *L.plantarum* izolatının proteolitik aktivite değerlerinin *L.curvatus*, *L.paracasei* subsp. *paracasei*, *L.mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *L.brevis*’e göre düşük olduğunu belirtmiştir. Pepe vd (2004) doğal olarak fermente edilmiş ekşi hamurdan izole ettikleri *L.plantarum*’un 2 adet izolatının katı besiyerinde belirlediği proteolitik aktivite zonunun 0.48 ve 0.21 mm olduğunu diğer izolatların ise zon vermediğini belirtmişlerdir. Gancel vd (1997) çalışmalarında tuzlanmış ve dumanlanmış vakum-paketli ringa balığı (*Clupea harengus*) fletolarından izole ettiği 77 adet *Lactobacillus* izolatından 72 adedinin ve *L.plantarum* ATCC 393, *L.casei* ATCC 393, *L.acidophilus*

ATCC 4356 tip suşlarının proteolitik aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Sonuçlar Yüksekdağ vd (2004), Şimşek vd (2006) ile uyumlu, Badis vd (2004) tarafından verilen değerden yüksek, Yaman vd (1998) tarafından verilen değer aralığından küçüktür. Çalışmada bulunan en yüksek değer Karasu (2006) tarafından verilen değer aralığındayken; çalışmada bulunan en küçük değer ise belirtilen sınır değerden daha küçüktür.

Tablo 3.24 Küme 2 izolatlarının proteolitik aktivite değerleri

İzolat Kodu	İzolat Adı	Proteolitik Aktivite (mg/ml tirozin)
LO140	<i>L.plantarum</i> O12	0.0649
LO141	<i>L.plantarum</i> O13	0.0585
LO142	<i>L.plantarum</i> O14	0.0386
LO143	<i>L.plantarum</i> O19	0.0032
LO144	<i>L.plantarum</i> O20	0.0127
LO145	<i>L.plantarum</i> O21	0.0219
LO147	<i>L.plantarum</i> O23	0.0220
LO148	<i>L.plantarum</i> O26	0.0609
LO149	<i>L.plantarum</i> O30	0.0068
LO150	<i>L.plantarum</i> O33	0.0611
LO151	<i>L.plantarum</i> O41	0.0064
LO153	<i>L.plantarum</i> O58	0.0128
LO155	<i>L.plantarum</i> 1	0.0335
LO156	<i>L.plantarum</i> O22b	0.0420
LO157	<i>L.plantarum</i> O44b	0.0383

Özkalp (2006) tarafından belirtilen ve starter kültürde bulunması istenilen proteolitik aktivite değerleri dikkate alınarak değerlendirme yapıldığında; küme üyesi 4 adet izolatin yüksek proteolitik aktivite değerine sahip olduğu görülmektedir.

Küme 3: Küme üyelerinden *L. helveticus* O16'nın proteolitik aktivitesi 0.0432 mg/ml tirozin ve Tanımsız O10'un protelitik aktivite değeri 0.0377 mg/ml, Tanımsız O17 için ise 0.0181 mg/ml bulunmuştur (Tablo 3.25).

Tablo 3.25 Küme 3 izolatlarının proteolitik aktivite değerleri

İzolat Kodu	İzolatlar	Proteolitik Aktivite (mg/ml tirozin)
LO180	<i>L.helveticus</i> O16	0.0432
LO121	Tanımsız O10	0.0377
LO123	Tanımsız O17	0.0181

Hébert vd (2000) tarafından doğal fermente olan Arjantin endüstriyel sert peynirlerinden ve İtalyan Grana peynirlerinden izole edilen 6 adet *L. helveticus* suşunun proteolitik aktivitesi incelenmiş ve değerlerin 18-299 µg/ml glisin arasında değiştiği bildirilmiştir. Reinheimer vd (1996) çalışmasında *L. helveticus*'un 3 izolatından 1 adedinin düşük proteolitik aktivitesi olduğunu belirtmiştir. Çalışma sonuçlarını farklı yöntemler kullanılmış olması nedeniyle literatür verileriyle karşılaştırmak mümkün değildir. Ancak starter kültürde aranan değerler açısından uygun olduğu söylenebilir.

Tek üyeli kümeler: Küme üyelerinin proteolitik aktiviteleri 0.0007-0.0796 mg/ml tirozin arasında bulunmuştur (Tablo 3.26). Şimşek (2003) *L. lactis* subsp. *lactis*'in proteolitik aktivitesinin bulunmadığını, Özkalp (2006) 51 adet *L. lactis*'in proteolitik aktivitesinin <10-43.70 µg/ml tirozin olduğunu belirtmiştir. Ayad vd (1999) tarafından yapılan çalışmada ticari starter kültür olan 4 adet *L. lactis* izolatı ile farklı kaynaklardan izole edilen 13 *L. lactis* izolatından 9 tanesinin proteolitik aktiviteye sahip olduğu, 8 adet izolatın da proteolitik aktivite göstermediği belirtilmiştir. Çalışma sonuçlarından *L. lactis* ssp. *lactis* O3 ve *L. lactis* 7 için bulunan sonuçlar Şimşek (2003) tarafından bildirilenle farklılık gösterirken, Özkalp (2006) tarafından bildirilenle uyum göstermektedir.

Tablo 3.26 Tek üyeli kümelerin proteolitik aktivite değerleri

İzolat Kodu	İzolatlar	Proteolitik Aktivite (mg/ml tirozin)
LO100	<i>L. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> O3	0.0159
LO102	<i>L. lactis</i> 7	0.0279
LO110	<i>L. pentosus</i> O8a	0.0092
LO130	<i>L. brevis</i> O11	0.0762
LB131	<i>L. brevis</i> 2	0.0449
PP167	<i>P. pentosaceus</i> 10	0.0134
LO170	<i>L. curvatus</i> O32	0.0426
LC171	<i>L. curvatus</i> 3	0.0068
LO190	<i>L. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> O54	0.0485
LR192	<i>L. paracasei</i> 5	0.0410
LS201	<i>L. salivarius</i> 4	0.0495
LA210	<i>L. acidophilus</i> 6	0.0347
LM220	<i>L. mesenteroides</i> 9	0.0626
PA230	<i>P. acidilactici</i> 11	0.0796
LO120	Tanımsız O1	0.0563
LO122	Tanımsız O15	0.0007
LO124	Tanımsız O18	0.0174

Çalışmada *L.brevis* izolatları için elde edilen proteolitik aktivite değerleri, Şimşek (2003) tarafından *L.brevis* ssp. *lindneri* 2103 için bildirilen 0.060 mg/ml tirozin değeri ile uyum göstermektedir. Sánchez vd (2005) izole ettiği 2 adet *L.brevis*'in *L.plantarum* ve *L.mesenteroides*'e göre proteolitik aktivitesinin daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada da benzer şekilde *L.brevis* izolatlarının proteolitik aktivite değerleri *L.plantarum* izolatlarından daha yüksek bulunmuştur.

Sánchez vd (2005) *L.paracasei* subsp. *paracasei* izolatlarının proteolitik aktivitesinin *L.plantarum*, *L.mesenteroides* ve genellikle *L.brevis*'e göre yüksek olduğunu tespit etmiştir. Bu veriler çalışma sonuçları ile tam bir uyum göstermemektedir.

Şimşek vd (2006) 4 adet *L.acidophilus* izolatını incelemiş ve proteolitik aktivite değerinin *L.acidophilus* 274 ve 134 için 0.030 mg/ml, *L.acidophilus* 15 için 0.00 mg/ml, *L.acidophilus* 473 için de 0.040 mg/ml tirozin olduğunu tespit etmiştir. Bu literatür verileri *L.acidophilus* 15 hariç çalışma ile tam bir uyum içerisindedir.

Şimşek vd (2006) *Lactobacillus* sp. B2, B3, 261, K4, 3124, 482 ve 483'ün proteolitik aktivite değerlerinin sırasıyla 0.125, 0.100, 0.000, 0.040, 0.030, 0.055, 0.050 mg/ml arasında değiştiğini belirtmiştir. *Lactobacillus* sp. 261, K4, 3124, 482 ve 483 çalışmada tanımsız olarak bildirilen küme üyeleri ile uyum gösterirken, *Lactobacillus* sp. B2 ve B3'ün değeri çok yüksektir.

3.2.6. Toplam asit üretme yeteneği

Gıda endüstrisinde asidik fermente gıdaların üretimi, muhafaza süresi ve kalitesini belirleyen en önemli özellikleri pH değeri ve % asit oranıdır. Ortamın pH değeri düştükçe ve % asitlik değeri arttıkça genel olarak muhafaza süresi ve kalitesi o kadar artmaktadır. Bu nedenle starter kültür ve/veya probiyotik kültür olarak kullanılacak mikroorganizmaların aside dayanıklı olmaları yanında hızlı ve yüksek oranda asit üretmeleri de aranılan önemli kriterlerdendir. Bundan hareketle çalışmada tüm izolatların pH değeri ve % asit oranları belirlenmiş ve nümerik taksonomide belirlenen kümelere göre tartışılmıştır.

Küme 1: Küme üyelerinin Tablo 3.27'de verilen toplam asit üretim miktarları 7. günde en düşük *P.pentosaceus* O57 (%1.58), en yüksek Tanımsız O28 (%2.07)'dir. Tüm izolatların ortalaması ise %1.73 olarak bulunmuştur. 7. günde en düşük ve en

yüksek pH değerleri ise Tanımsız O28 (3.75 pH) ve *P.pentosaceus* O57 (4.01pH) izolatlarında saptanmıştır. Küme üyelerinin ortalaması ise 3.94 pH'dır.

Çalışmada en düşük pH değerine ve en yüksek asitlik değerine 7. gün sonunda ulaşılmıştır. İnkübasyonun 3. gününde toplam asitlikte meydana gelen küçük düşüşlerin ölen hücrelerin otolizi sonucu ortama verilen maddeler ve bazı metabolitlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tablo 3.27 Küme 1 izolatlarının pH değerleri ve toplam asit üretim miktarları

İzolat Kodu	İzolatlar	1.gün		2.gün		3.gün		7.gün	
		pH	% Asit	pH	% Asit	pH	% Asit	pH	% Asit
LO160	<i>P.pentosaceus</i> O24	4.36	0.98	4.16	1.30	3.98	1.36	3.93	1.71
LO161	<i>P.pentosaceus</i> O25	4.37	1.09	4.27	1.23	4.07	1.27	3.99	1.60
LO162	<i>P.pentosaceus</i> O27	4.32	1.12	4.22	1.25	4.02	1.23	3.95	1.69
LO163	<i>P.pentosaceus</i> O29	4.41	1.06	4.24	1.28	4.04	1.24	3.95	1.80
LO164	<i>P.pentosaceus</i> O31	4.35	1.14	3.91	1.27	4.03	1.17	3.98	1.67
LO165	<i>P.pentosaceus</i> O57	4.41	1.09	3.92	1.27	4.11	1.31	4.01	1.58
LO125	Tanımsız O28	3.85	1.79	3.74	2.08	3.64	1.98	3.75	2.07
Ortalama		4.30	1.18	4.07	1.38	3.98	1.37	3.94	1.73

Tolonen vd (2004) tarafından *P.pentosaceus*'larla çalışılmış ve pH değeri 2. gün 4.27 pH, 7. gün 4.13 pH, % asitliği 2. gün %0.44, 7. gün %0.6 olarak bulunmuştur. Çalışma sonuçları ile karşılaştırıldığında Tolonen vd (2004) tarafından Pediokoklar için belirtilen % asitlik değerleri çok düşük kalmaktadır. Yine çalışmada belirlenen pH değerleri de Tolonen vd (2004) tarafından bildirilenden biraz daha düşüktür. Küme üyelerinin ulaştıkları son pH değerleri ile % asit üretim miktarları ve hızları starter kültür olarak kullanımı açısından yeterli görülmektedir.

Küme 2: Küme üyesi *L.plantarum* izolatlarının toplam asit üretim miktarları ve pH değerleri Tablo 3.28'de verilmiştir.

Bu sonuçlara göre toplam asit üretim miktarı 7. günde en düşük *L.plantarum* O22b (%1.79) en yüksek *L.plantarum* 030 (%2.12) izolatında belirlenmiştir. Aynı gün için pH değerleri incelendiğinde, en düşük pH değeri beklenildiği gibi en fazla asit üreten *L.plantarum* O30 (3.70 pH) izolatının; en yüksek pH değeri ise (3.88 pH) *L.plantarum* O44b izolatınınındır. Bunu 3.86 pH ile en az asit üreten *L.plantarum* O22b izlemiştir. 7. günde ortalama asit üretim miktarı ve pH değeri sırasıyla %1.95 ve 3.80 pH'dır. Bu verilere göre *L.plantarum*'ları içeren Küme 2 üyelerinin Küme 1 üyelerinden daha yüksek oranda asit ürettikleri söylenebilmektedir.

Tablo 3.28 Küme 2 izolatlarının pH değerleri ve toplam asit üretim miktarları

İzolat Kodu	İzolatlar	1.Gün		2.Gün		3.Gün		7.gün	
		pH	%asit	pH	%asit	pH	%asit	pH	%asit
LO140	<i>L.plantarum</i> O12	3.92	1.71	3.56	1.43	3.72	1.75	3.78	1.96
LO141	<i>L.plantarum</i> O13	3.45	1.72	3.52	1.89	3.66	1.82	3.81	1.95
LO142	<i>L.plantarum</i> O14	3.55	1.57	3.53	1.96	3.67	1.98	3.80	1.98
LO143	<i>L.plantarum</i> O19	4.00	1.24	3.86	1.74	3.72	1.73	3.82	1.83
LO144	<i>L.plantarum</i> O20	3.94	1.57	3.85	1.82	3.74	1.72	3.86	1.84
LO145	<i>L.plantarum</i> O21	3.80	1.50	3.78	1.79	3.71	1.75	3.82	1.86
LO147	<i>L.plantarum</i> O23	4.02	1.39	3.83	1.80	3.71	1.73	3.81	1.89
LO148	<i>L.plantarum</i> O26	3.88	1.69	3.75	1.82	3.67	1.74	3.77	1.97
LO149	<i>L.plantarum</i> O30	3.87	1.80	3.74	2.06	3.64	1.96	3.70	2.12
LO150	<i>L.plantarum</i> O33	3.85	1.81	3.50	1.93	3.63	1.86	3.78	2.03
LO151	<i>L.plantarum</i> O41	3.81	1.90	3.45	2.04	3.60	1.92	3.75	2.11
LO153	<i>L.plantarum</i> O58	3.89	1.80	3.53	2.02	3.64	1.97	3.79	2.04
LO155	<i>L.plantarum</i> 1	3.71	1.42	3.76	1.83	3.73	1.67	3.76	1.96
LO156	<i>L.plantarum</i> O22b	3.72	2.04	3.72	1.72	3.81	1.71	3.86	1.79
LO157	<i>L.plantarum</i> O44b	3.76	1.74	3.64	1.44	3.76	1.90	3.88	1.95
Ortalama		3.81	1.66	3.67	1.82	3.69	1.81	3.80	1.95

Şimşek vd (2006) tarafından ekşi hamurdan izole edilen 3 *L.plantarum* izolatının 1. gün sonunda %0.80, 1.00 ve 1.27; 7. gün sonunda %1.58, 1.77 ve 1.82 oranında asit ürettiği belirtilmiştir. Yaman vd (1998) tarafından sucuktan izole edilen 3 adet *L.plantarum* izolatının da 1.günde %0.65, 1.02 ve 1.27; 7. gün sonunda %0.81, 1.44 ve 1.48 asit ürettiği tespit edilmiştir. Tolonen vd (2004) tarafından yapılan çalışmada lahana salamurasında *L.plantarum*'un pH değerinin 1.gün 5.32 pH, 2.gün 4.33 pH'ya düştüğü, % asitliğin de 1.gün %0.5, 2. gün %0.8 olduğu bildirilmiştir. Yoon vd (2006) *L.plantarum*'un lahana suyu laktik fermantasyonundaki pH değerleri ve % asitliğin başlangıçta 5.8 pH ve %0.12 asitlik iken, 1.gün 4.8 pH ve %0.23 asitlik, 2.gün 3.6 pH ve %0.76 asitlik, 4. gün de 3.6 pH ve %0.97 asitlik olduğunu belirtmişlerdir. Sánchez vd (2005) İspanya keçi peynirinden izole edilen *L.plantarum*'un asit üretim kabiliyetinin 24 saat inkübasyon sonunda pH değerinin 0.18-0.87 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Çalışma sonuçları literatür verileriyle karşılaştırıldığında hem 1. gün ulaşılan hem de 7. gün ulaşılan pH değerleri Yaman vd (1998), Tolonen vd (2004) ve Şimşek vd (2006) ile karşılaştırıldığında daha düşük, % asitlik değerleri ise daha yüksektir. Yoon vd (2006) tarafından bulunan % asitlik değerlerinden de yüksek olmakla birlikte pH değerleri arasında tam bir uyum vardır. Çalışmada, pH değerinin giderek düşmesi ve % asitlik değerinin artması tüm literatür verileri ile benzer ve beklenildiği gibidir.

Küme üyelerinin 1. ve 7. gün ulaştıkları pH değeri ile % asit üretim miktarı ve hızı starter kültür açısından yeterlidir.

Küme 3: Küme üyelerinden 1.gün asitliği en yüksek olan %1.08 ile Tanımsız O10, pH değeri de en düşük olan 3.94 pH ile *L.helveticus* O16'dır. 7. gün değerleri incelendiğinde en yüksek asitlik değeri %2.00 ile ve en düşük pH değeri 3.70 pH ile Tanımsız O10 izolatınınadır. 7. gün ortalama pH 3.84, asitlik ise %1.62'dir (Tablo 3.29).

Küme üyelerinin pH değeri ile % asit üretim miktarı açısından yapılan tek yönlü değerlendirmede ulaştıkları son pH ve % asit değerleri ile asit üretim hızlarının starter kültür açısından yeterli olduğu söylenebilmektedir.

Tablo 3.29 Küme 3 izolatlarının pH değerleri ve toplam asit üretim miktarları

İzolat Kodu	İzolatlar	1.gün		2.gün		3.gün		7.gün	
		pH	% asit	pH	% asit	pH	% asit	pH	% asit
LO180	<i>L.helveticus</i> O16	3.94	1.01	3.45	1.46	3.60	1.30	3.74	1.44
LO121	Tanımsız O10	4.16	1.08	4.20	1.15	4.00	1.32	3.70	2.00
LO123	Tanımsız O17	4.33	0.97	4.16	1.35	4.12	1.30	4.07	1.41
Ortalama		4.14	1.02	3.94	1.32	3.91	1.31	3.84	1.62

Tek üyeli kümeler: Küme tek üyeli kümelerin pH değerleri ve asit üretim miktarları Tablo 3.30'da verilmiştir.

Tablo 3.30 Tek üyeli kümelerin pH değerleri ve toplam asit üretim miktarları

İzolat Kodu	İzolatlar	1.Gün		2.Gün		3.Gün		7.Gün	
		pH	% Asit	pH	% Asit	pH	% Asit	pH	% Asit
LO100	<i>L.lactis ssp.lactis</i> O3	4.49	0.83	4.39	0.95	4.23	0.97	3.30	1.21
LO102	<i>L.lactis</i> 7	4.39	1.01	4.10	1.19	4.10	1.19	4.17	1.37
LO110	<i>L.pentosus</i> O8a	3.60	1.85	3.85	1.85	3.70	1.81	3.87	1.93
LO130	<i>L.brevis</i> O11	4.94	0.65	4.45	0.96	4.25	1.04	4.41	1.07
LB131	<i>L.brevis</i> 2	4.65	1.30	4.21	1.24	4.34	1.02	4.27	1.40
PP167	<i>P.pentosaceus</i> 10	3.82	1.65	3.76	1.65	3.61	1.89	3.71	2.47
LO170	<i>L.curvatus</i> O32	3.87	1.80	3.38	2.09	3.70	1.98	3.69	2.12
LC171	<i>L.curvatus</i> 3	3.91	1.93	3.91	1.52	3.97	1.37	3.95	1.73
LO190	<i>L.paracasei ssp.paracasei</i> O54	3.94	1.69	3.45	2.07	3.60	2.07	3.74	2.11
LR192	<i>L.paracasei</i> 5	3.81	1.30	3.67	2.03	3.63	1.67	3.68	2.05
LS201	<i>L.salivarius</i> 4	3.91	1.33	3.72	1.95	3.70	1.66	3.73	2.13
LA210	<i>L.acidophilus</i> 6	5.53	0.55	5.24	0.61	4.55	0.97	3.70	1.56
LM220	<i>L.mesenteroides</i> 9	4.06	1.19	4.04	1.36	3.95	0.97	4.07	1.25
PA230	<i>P.acidilactici</i> 11	4.00	1.45	3.68	1.68	3.68	1.66	3.65	1.74
LO120	Tanımsız O1	4.66	0.95	3.68	1.82	-	-	3.70	2.19
LO122	Tanımsız O15	3.94	1.17	3.89	1.41	4.20	1.29	4.17	1.28
LO124	Tanımsız O18	4.54	0.94	4.14	1.02	4.33	1.05	4.05	1.50
Ortalama		4.24	1.27	3.97	1.49	3.97	1.41	3.87	1.71

:- Gelişme yok

L.lactis ssp. *lactis* O3'ün pH ve % asitliği 1.gün 4.49 pH ve %0.83 asitlik iken, 7. gün 3.30 pH ve %1.21 asitliğe ulaşmıştır. *L.lactis* 7'de ise pH ve % asitlik değerleri 1. gün 4.39 pH ve %1.01 asitlikten, 7.günde 4.17 pH ve %1.37 asitlik değerine ulaşmıştır. Tolonen vd (2004) tarafından yapılan çalışmada *L.lactis* N8 suşunun pH ve % asitlik değerinin 1.gün 5.4 pH ve %0.1 asitlik, 7.gün ise 4.93 pH ve %0.4 asitlik olduğu belirtilmiştir. Yine *L.lactis* C67 suşunun da pH ve % asitliğinin 1. gün 5.08 pH ve %0.1 asitlik, 7.gün 4.43 pH ve %0.5 asitlik olduğu tespit edilmiştir. Sánchez vd (2005) tarafından İspanya keçi peynirinden izole edilen *L.lactis* subsp. *lactis*'in 24 saat inkübasyondan sonra pH değişiminin 1.40 olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma ile karşılaştırıldığında Tolonen vd (2004) tarafından bulunan % asitlik değerleri çalışmada bulunan değerlerden daha düşük, pH değerleri ise daha yüksektir.

L. pentosus O8a izolatında pH değeri 1.gün 3.60 pH, 7.gün 3.87 pH olarak, % asitlik değeri 1.gün %1.85, 7.gün %1.93 olarak saptanmıştır. Sánchez vd (2005) yaptıkları çalışmada *L.pentosus* izolatının 24 saat sonunda pH değerini 0.37 pH düşürdüğünü belirtmişlerdir.

L.brevis O11, 1.gün pH 4.94, 7.gün 4.41 pH; % asitlik 1.gün %0.65, 7.gün %1.07, *L.brevis* 2, 1.gün 4.65 pH, 7.gün 4.27 pH; % asitlik 1.gün %1.30, 7.gün %1.40'dür. Sánchez vd (2005) tarafından izole edilen 2 adet *L.brevis*'in 24 saatlik inkübasyon sonunda ortam pH değerini birinci izolatın 0.61 diğer izolatın 0.59 pH değiştirdiği tespit edilmiştir. Mumcu (1997) izole ettiği 2 adet *L. brevis* izolatının 1.gün %0.220 ve %1.040 toplam asit ürettiğini bildirmiştir. Şimşek (2003) *L.brevis* ssp. *lindneri* 2103'ün %0.210 laktik asit ürettiğini belirtmiştir. Damiani vd (1996) tarafından *L.brevis* ssp. *lindneri* izolatlarının % laktik asit üretiminin %0.288-0.379 arasında olduğu ifade edilmiştir. Çalışma sonuçları incelendiğinde 1. gün % asitlik değerlerinin Mumcu (1997), Şimşek (2003) ve Damiani vd (1996) literatür verilerinden yüksek olduğu görülmektedir.

Çalışmada *L.curvatus* O32, 1.gün 3.87 pH ve %1.80 asitlik, 7.gün 3.69 pH ve %2.12 asitlik değerine ulaşmıştır. *L.curvatus* 3 ise, 1.gün 3.91 pH ve %1.93 asitlik, 7.gün 3.95 pH ve %1.73 asitlik değerine ulaşmıştır. Sánchez vd (2005) tarafından *L.curvatus*'un 8 izolatu ile çalışılmış ve, 24 saat inkübasyon sonunda ortamda 0.16-2.15 pH arasında değişim meydana geldiği bildirilmiştir.

L.paracasei ssp. *paracasei* O54, 1. gün 3.94 pH ve %1.69 asitlik, 7. gün 3.74 pH ve %2.11 asitlik; *L.paracasei* 5, 1. gün 3.81 pH ve %1.30 asitlik, 7. gün 3.68 pH ve %2.05 asitlik değerine ulaşmıştır. Yoon vd (2006) tarafından yapılan çalışmada *L.casei*'nin işleviyle gerçekleşen lahana suyunun laktik fermantasyonunda pH'nın başlangıçta 5.0 pH iken, 1.gün 3.7 pH, 2.gün 3.4 pH, 4. gün 3.4 pH'ya düştüğü ve başlangıçta %0.11 olan laktik asitin de 1. gün %0.38, 2.gün %0.6, 4. gün %0.74 değerine düştüğü tespit edilmiştir. Sánchez vd (2005) tarafından *L.paracasei* subsp. *paracasei* izolatlarının 24 saat sonunda pH değerinde 0.12-2.15 pH arasında değişim meydana geldiği saptanmıştır. Çalışmada bulunan pH değerleri Yoon vd (2006) tarafından bulunan pH değeri ile benzer, % asitlik değeri ise belirtilen değerlerden daha yüksektir.

P.pentosaceus 10, 1. gün 3.82 pH ve %1.65 asitlik, 7. gün 3.71 pH ve %2.47 asitlik; *L.salivarius* 4, 1. gün 3.91 pH ve %1.33 asitlik, 7. gün 3.73 pH ve %2.13 asitlik meydana getirmiştir.

L.acidophilus 6, 1.gün 5.53 pH ve %0.55 asitlik, 7. gün 3.70 pH ve %1.56 asitlik değerine ulaşmıştır. Şimşek (2003) tarafından *L.acidophilus* 274, 134, 15 ve 473 izolatlarının sırasıyla 7.gün %1.70, % 1.83, % 1.76 ve %1.72 laktik asit ürettiği, 7 günlük fermantasyon sonunda *L.acidophilus* 274'ün en düşük (%1.70 asit), *L.acidophilus* 134'ün ise en yüksek (%1.83 asit) asit üretmiş olduğu ve ayrıca en düşük pH'nın *L.acidophilus* 473 (3.69 pH), en yüksek pH'nın da *L.acidophilus* 274 (3.76 pH) izolatı tarafından oluşturulduğu tespit edilmiştir. Kılıç, *L.acidophilus*'ların asitli ortama dayanıklı olduklarını ve %0.3 ile %1.0'a kadar asit üretebileceklerini belirtmiştir (Şimşek 2003). Çalışma sonucu elde edilen % asitlik değeri 7.gün Şimşek (2003) tarafından belirtilenlerden daha düşük, pH değeri ise oldukça benzerdir.

L.mesenteroides 9, 1. gün 4.06 pH ve %1.19 asitlik, 7. gün 4.07 pH ve %1.25 asitlik değerine ulaşmıştır. Tolonen vd (2004) yaptıkları çalışmada *L.mesenteroides*'in pH değerlerini 1.gün 4.01 pH, 2. gün 3.85 pH, 3.gün 3.81 pH ve % asitlik değerlerini 1. gün %0.7, 2. gün %1.0, 3. gün %1.1 bulmuşlardır. Sánchez vd (2005) çalışmalarında izole edilen *L.mesenteroides* subsp. *mesenteroides*'in 24 saat sonunda ortamın pH değerini 0.27 pH değiştirdiğini tespit etmişlerdir Çalışmada *L.mesenteroides* için bulunan sonuçlar Tolonen vd (2004) ile karşılaştırıldığında çalışmada bulunan değerler hem pH, hem de % asitlik açısından daha yüksektir.

P.acidilactici 11, 1. gün 4.00 pH ve %1.45 asitlik, 7. gün 3.65 pH ve %1.74 asitlik değerine; Tanımsız O1, 1.gün 4.66 pH ve %0.95 asitlik, 7.gün 3.70 pH ve %2.19 asitlik değerine; Tanımsız O15, 1. gün 3.94 pH ve %1.17 asitlik, 7. gün 4.17 pH ve %1.28 asitlik değerine; Tanımsız O18, 1 .gün 4.54 pH ve % 0.94 asitlik, 7.gün 4.05 pH ve % 1.50 asitlik değerine ulaşmıştır. Şimşek (2003) yaptığı çalışmada *Pediococcus* sp. E5 için laktik asit üretiminin %0.290 olduğunu, *Lactobacillus* sp. B2, B3, 261, K4, 3124, 482 ve 483 izolatlarının da laktik asit üretiminin %0.450-0.630 arasında olduğunu belirtmiştir.

3.2.7. β -Galaktosidaz testi

β -Galaktosidaz intrasellüler bir enzimdir ve bakteri hücrelerinin ince bağırsaktan geçerken hücrenin otolize uğrayarak hücre duvarının parçalanması sonucu açığa çıkmaktadır (Cebeci ve Gürakan 2003). Laktozun sindiriminde görev alması nedeni ile özellikle laktoz intoleranslılar için olmak üzere metabolik önem taşımakta ve probiyotik bakterilerin seçiminde bir kriter olarak ele alınmaktadır. Bu araştırmada da sucuk, peynir, turşu, ekşi hamurdan elde edilen izolatların probiyotik değerinin ortaya koyulması için gerçekleştirilen β -Galaktosidaz aktivitesi testi gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar nümerik taksonomide elde edilen kümelere göre tartışılmıştır.

Küme 1: Küme üyesi izolatlarının tamamı β -Galaktosidaz aktivitesine sahip bulunmaktadır (Tablo 3.31). Bu durum küme üyelerinin probiyotik değerini artırmaktadır.

Tablo 3.31 Küme 1 izolatlarının β -Galaktosidaz aktivitesi sonuçları

İzolat Kodu	İzolatlar	β -Galaktosidaz
LO160	<i>P.pentosaceus</i> O24	+
LO161	<i>P.pentosaceus</i> O25	+
LO162	<i>P.pentosaceus</i> O27	+
LO163	<i>P.pentosaceus</i> O29	+
LO164	<i>P.pentosaceus</i> O31	+
LO165	<i>P.pentosaceus</i> O57	+
LO125	TanımsızO28	+

+: Gelişme var

Küme 2: Küme 2 üyelerinin β -Galaktosidaz aktivite test sonuçları Tablo 3.32’de verilmiştir. Küme üyelerinden *L.plantarum* O19, O20 ve O21, β -Galaktosidaz aktivitesi

göstermezken, diğer izolatların β -Galaktosidaz aktivitesi gösterdiği (%80 pozitif) belirlenmiştir.

Tablo 3.32 Küme 2 izolatlarının β -Galaktosidaz aktivitesi sonuçları

İzolat Kodu	İzolatlar	β -Galaktosidaz
LO140	<i>L.plantarum</i> O12	+
LO141	<i>L.plantarum</i> O13	+
LO142	<i>L.plantarum</i> O14	+
LO143	<i>L.plantarum</i> O19	-
LO144	<i>L.plantarum</i> O20	-
LO145	<i>L.plantarum</i> O21	-
LO147	<i>L.plantarum</i> O23	+
LO148	<i>L.plantarum</i> O26	+
LO149	<i>L.plantarum</i> O30	+
LO150	<i>L.plantarum</i> O33	+
LO151	<i>L.plantarum</i> O41	+
LO153	<i>L.plantarum</i> O58	+
LO155	<i>L.plantarum</i> 1	+
LO156	<i>L.plantarum</i> O22b	+
LO157	<i>L.plantarum</i> O44b	+

+:Gelişme var; -:Gelişme yok

Randazzo vd (2004) ve Papamanoli vd (2003) *L.plantarum* izolatlarının β -Galaktosidaz aktivitesini pozitif (+) olarak tespit etmişlerdir. Karasu (2006) ise çalışmasında β -Galaktosidaz aktivitesini 16 izolatın 10 adedinde (%62.5) pozitif olarak tespit etmiştir. Çalışmada elde edilen pozitif izolat oranı Karasu (2006) sonucundan daha yüksek, Randazzo vd (2004) ve Papamanoli vd (2003) çalışmalarıyla da benzer özellik göstermektedir

Küme 3: Küme 3 üyelerinin tamamı β -Galaktosidaz aktivitesi göstermiştir (Tablo3.33).

Tablo 3.33 Küme3 izolatlarının β -Galaktosidaz aktivitesi sonuçları

İzolat Kodu	İzolatlar	β -Galaktosidaz
LO180	<i>L.helveticus</i> O16	+
LO121	Tanımsız O10	+
LO123	Tanımsız O17	+

+:Gelişme var

Hébert vd (2000) tarafından doğal fermente olan Arjantin endüstriyel sert peynirlerinden ve İtalyan Grana peynirlerinden izole edilen 6 adet *L. helveticus* suşunun

β -Galaktosidaz aktivitesi incelenmiş ve değerlerin 5.7-7.1 $\mu\text{mol}/\text{min}\cdot\text{mg}$ arasında değiştiği bildirilmiştir. Bu literatür verisi tamamının pozitif olması nedeni ile çalışma sonucu ile uyum göstermektedir.

Tek üyeli kümeler: Çalışmada *L.lactis ssp.lactis* O3, *L.lactis* 7, *L.pentosus* O8a, *L.curvatus* O32, *L.paracasei ssp.paracasei* O54, *L.salivarius* 4, Tanımsız O1'in β -Galaktosidaz aktivitesi pozitif, diğer izolatların β -Galaktosidaz aktivitesi ise negatif olarak saptanmıştır (Tablo 3.34).

Tablo 3.34 Tek üyeli kümelerin β -Galaktosidaz aktivitesi sonuçları

İzolat Kodu	İzolatlar	β -Galaktosidaz
LO100	<i>L.lactis ssp.lactis</i> O3	+
LO102	<i>L.lactis</i> 7	+
LO110	<i>L.pentosus</i> O8a	+
LO130	<i>L.brevis</i> O11	-
LB131	<i>L.brevis</i> 2	-
PP167	<i>P.pentosaceus</i> 10	-
LO170	<i>L.curvatus</i> O32	+
LC171	<i>L.curvatus</i> 3	-
LO190	<i>L.paracasei ssp.paracasei</i> O54	+
LR192	<i>L.paracasei</i> 5	-
LS201	<i>L.salivarius</i> 4	+
LA210	<i>L.acidophilus</i> 6	-
LM220	<i>L.mesenteroides</i> 9	-
PA230	<i>P.acidilactici</i> 11	-
LO120	Tanımsız O1	+
LO122	Tanımsız O15	-
LO124	Tanımsız O18	-

+:Gelişme var; -:Gelişme yok

Papamanoli vd (2003) izole ettikleri 24 adet *L.curvatus* izolatlarının %80'inin β -Galaktosidaz aktivitesinin olduğunu belirtmişlerdir. Bu durumda *L.curvatus* O32 ile literatür verisi uyumlu, *L.curvatus* 3 ise uyum göstermemektedir.

3.2.8. Hidrofobisite

Mikroorganizmaların intestinal epitel hücelere tutunabilmesi diğer mikroorganizmalarla yarışmada avantaj sağlayabilmesi dolayısıyla bakterinin insan gastrointestinal sisteminde varlığını devam ettirebilmesi açısından çok önemlidir. Mikroorganizmaların intestinal epitel hücelere yapışmasını açıklayan birkaç mekanizma vardır. Mikroorganizmaların en dıştaki yüzeyinin hidrofobik doğası o bakterinin konakçıya tutunması ile ilgilidir. Mikroorganizmaların epitel hücelere

adezyonunu değerlendirmede bir araç olan n-hekzadekana mikrobiyal adezyon geçerli bir kalitatif fenomonolojik yaklaşımdır (Vindorela ve Reinheimer 2003). Bu nedenle probiyotik özelliklerin belirlenmesi için en önde gelen testlerden biri olan hidrofobisite testi izolatlarla uygulanmış ve elde edilen sonuçlar taksonomik olarak elde edilmiş kümelerle göre tartışılmıştır.

Küme 1: Küme 1 izolatlarının % hidrofobisite değerleri Tablo 3.35’de verilmiştir. Hidrofobisite değerleri %0.00 ile %13.93 arasında değişmektedir. En yüksek hidrofobisite değeri *P.pentosaceus* O57’nindir (%13.93). Bu izolatları sırasıyla *P.pentosaceus* O31 (%4.62) ile Tanımsız O28 (%3.53) takip etmektedir.

Tablo 3.35 Küme 1 izolatlarının % hidrofobisite değerleri

İzolat Kodu	İzolatlar	%Hidrofobisite
LO160	<i>P.pentosaceus</i> O24	2.64
LO161	<i>P.pentosaceus</i> O25	0.31
LO162	<i>P.pentosaceus</i> O27	0.00
LO163	<i>P.pentosaceus</i> O29	0.34
LO164	<i>P.pentosaceus</i> O31	4.62
LO165	<i>P.pentosaceus</i> O57	13.93
LO125	Tanımsız O28	3.53

Küme üyeleri içerisinde hidrofobisite değerine göre probiyotik olarak en avantajlı izolat *P.pentosaceus* O57’dir.

Küme 2: Küme 2 İzolatlarının Tablo 3.36’da verilen % hidrofobisite değerleri incelendiğinde *L.plantarum* O21 ve O22b izolatının diğerlerinden çok yüksek hidrofobisite değerine (sırasıyla %50.82 ve %45.56) sahip olduğu görülmektedir. Bu değerlere göre probiyotik olarak bu iki izolatın üzerinde önemle durulması gerekmektedir.

Savage tarafından yapılan çalışmada, insan, dana, sıçan ve domuz sindirim sisteminden elde edilen laktik asit bakterilerinin hidrofobisite değerleri ortalama olarak; insan kaynaklı *L. acidophilus* izolatı için %35, dana kaynaklı *L.reuteri* için %44 fare kaynaklı *L. fermentum* için %57.6, sıçan kaynaklı *L. murinis* için %81 ve domuz kaynaklı *L. acidophilus* ve *L. fermentum* için ise %17 olarak saptanmıştır (Karasu 2006). Ouwehand vd (1999) tarafından da ince bağırsaktan izole edilen *Lactobacillus* izolatlarının yüksek hidrofobisite değerlerine sahip olduğu bildirilmiştir. Çalışmada

bulunan hidrofobisite değerleri (%0.67-50.82) Savage tarafından *L.murinis* için verilen değer dışındaki verilerle uyumludur.

Tablo 3.36 Küme 2 izolatlarının % hidrofobisite değerleri

İzolat Kodu	İzolatlar	%Hidrofobisite
LO140	<i>L.plantarum</i> O12	3.08
LO141	<i>L.plantarum</i> O13	5.28
LO142	<i>L.plantarum</i> O14	7.17
LO143	<i>L.plantarum</i> O19	1.34
LO144	<i>L.plantarum</i> O20	5.55
LO145	<i>L.plantarum</i> O21	50.82
LO147	<i>L.plantarum</i> O23	16.29
LO148	<i>L.plantarum</i> O26	16.68
LO149	<i>L.plantarum</i> O30	0.67
LO150	<i>L.plantarum</i> O33	0.90
LO151	<i>L.plantarum</i> O41	2.68
LO153	<i>L.plantarum</i> O58	2.72
LO155	<i>L.plantarum</i> 1	0.75
LO156	<i>L.plantarum</i> O22b	45.56
LO157	<i>L.plantarum</i> O44b	4.60

Küme 3: Küme üyesi izolatların % hidrofobisite değerleri Tablo 3.37’de gösterilmiştir. Küme üyelerinden Tanımsız O17 %6.16 değeriyle en yüksek hidrofobisite değerindeyken, bu izolatu %4.31 değeriyle *L.helveticus* O16 izlemektedir. Tanımsız O10’un ise % hidrofobisite değeri 3.83’tür. Bu rakamlar üyelerin intestinal epitel hücrelere tutunabileceğini göstermektedir.

Tablo 3.37 Küme 3 izolatlarının % hidrofobisite değerleri

İzolat Kodu	İzolatlar	%Hidrofobisite
LO180	<i>L.helveticus</i> O16	4.31
LO121	TanımsızO10	3.83
LO123	TanımsızO17	6.16

Tek üyeli kümeler: Tek üyeli kümelerin % hidrofobisite değerleri Tablo 3.38’de verildiği gibi %0.16-23.99 arasında değişmektedir. Vindorela ve Reinheimer (2003) tarafından yapılan çalışmada izole edilen probiyotik izolatların hidrofobisite değerleri %38.1 ve %68.7 arasında tespit edilmiştir. Çalışmada sonuçlar bu literatür verisiyle karşılaştırıldığında bulunan değerler probiyotik özellik gösteren izolatlara göre dūřüktür.

Tablo 3.38 Tek üyeli kümelerin % hidrofobisite değerleri

İzolat Kodu	İzolatlar	%Hidrofobisite
LO100	<i>L.lactis ssp. lactis</i> O3	19.95
LO102	<i>L.lactis</i> 7	1.71
LO110	<i>L.pentosus</i> O8a	1.98
LO130	<i>L.brevis</i> O11	11.07
LB131	<i>L.brevis</i> 2	8.89
PP167	<i>P.pentosaceus</i> 10	5.51
LO170	<i>L.curvatus</i> O32	1.90
LC171	<i>L.curvatus</i> 3	15.23
LO190	<i>L.paracasei ssp.paracasei</i> O54	8.83
LR192	<i>L.paracasei</i> 5	2.50
LS201	<i>L.salivarius</i> 4	23.99
LA210	<i>L.acidophilus</i> 6	16.68
LM220	<i>L.mesenteroides</i> 9	9.12
PA230	<i>P.acidilactici</i> 11	11.07
LO120	Tanımsız O1	9.09
LO122	Tanımsız O15	0.16
LO124	Tanımsız O18	4.09

3.2.9. Hidrojen peroksite duyarlılık

Hidrojen peroksit bakteriosidal bir bileşik olması nedeni ile bu bileşiğe dayanıklılık probiyotik mikroorganizmalar için üzerinde önemle durulan bir özelliktir. Bu nedenle, izolatların H₂O₂'ye dayanıklılıkları 2000, 10000, 20000 ppm oranlarındaki H₂O₂ içeren ortamlarda belirlenmiştir ve oluşturulan taksonomik kümelere göre tartışılmıştır.

Küme 1: Küme 1 izolatlarının H₂O₂ konsantrasyonlarında % gelişme değerleri Tablo 3.39'da verilmiştir.

Tablo 3.39 Küme 1 izolatlarının H₂O₂ konsantrasyonlarında % gelişme değerleri

İzolat Kodu	İzolatlar	H ₂ O ₂ Konsantrasyonunda Gelişme Değeri		
		2000ppm	10000ppm	20000ppm
LO160	<i>P.pentosaceus</i> O24	%56*	%50	%46
LO161	<i>P.pentosaceus</i> O25	%72	%67	%39
LO162	<i>P.pentosaceus</i> O27	%95	%82	%78
LO163	<i>P.pentosaceus</i> O29	%16	%11	%9
LO164	<i>P.pentosaceus</i> O31	%5	%4	%4
LO165	<i>P.pentosaceus</i> O57	%19	%12	%9
LO125	Tanımsız O28	TE	TE	%0.04
Ortalama		%43.83	%37.66	%26.43

TE: Tespit edilemedi ; *: Gelişme oranı

Araştırmada denenen tüm H₂O₂ konsantrasyonlarında *P.pentosaceus* izolatları arasında *P.pentosaceus* O27 en yüksek (%95), *P.pentosaceus* O31 ise en düşük (%5) gelişmeyi göstermiştir. *P.pentosaceus* O24, O25 ve O27 denenen tüm H₂O₂ konsantrasyonlarında diğer küme üyelerinden belirgin derecede yüksek dayanıklılık göstermiştir. Elde edilen bu değerler Tanımsız O28 dışında kalan tüm izolatların H₂O₂'ye dayanıklılık açısından yeterli düzeyde olduğunu göstermektedir.

Küme 2: Küme 2 üyeleri için 2000 ppm, 10000 ppm, 20000 ppm konsantrasyonlarındaki duyarlılık değerleri Tablo 3.40'da verilmiştir.

Tablo 3.40 Küme 2 izolatlarının H₂O₂ konsantrasyonlarında % gelişme değerleri

İzolat Kodu	İzolatlar	H ₂ O ₂ Konsantrasyonunda Gelişme Değeri		
		2000ppm	10000ppm	20000ppm
LO140	<i>L.plantarum</i> O12	%25*	%18	%3
LO141	<i>L.plantarum</i> O13	%43	%15	%0
LO142	<i>L.plantarum</i> O14	%72	%3	%0
LO143	<i>L.plantarum</i> O19	%55	%30	%18
LO144	<i>L.plantarum</i> O20	%51	%45	%32
LO145	<i>L.plantarum</i> O21	%79	%61	%61
LO147	<i>L.plantarum</i> O23	%21	%12	%4
LO148	<i>L.plantarum</i> O26	%54	%35	%4
LO149	<i>L.plantarum</i> O30	%67	%61	%50
LO150	<i>L.plantarum</i> O33	%54	%32	%1
LO151	<i>L.plantarum</i> O41	%36	%22	%3
LO153	<i>L.plantarum</i> O58	%38	%6	%1
LO155	<i>L.plantarum</i> 1	%85	%78	%70
LO156	<i>L.plantarum</i> O22b	%81	%67	%58
LO157	<i>L.plantarum</i> O44b	%45	%43	%38
Ortalama		%53.73	%35.20	%22.87

*: Gelişme oranı

Araştırmada 2000 ppm yani en düşük H₂O₂ konsantrasyonunda %85 ile *L.plantarum* 1 tip izolatı ve %81 değeri ile *L.plantarum* O22b en yüksek, %21 değeri ile de *L.plantarum* O23 en düşük gelişmeyi göstermiştir. Bütün konsantrasyonlar dikkate alındığında %70 ile *L.plantarum* 1 en yüksek dayanıklılığı göstermiştir, bu izolatı sırasıyla %61, %58, %50 değerleriyle *L.plantarum* O21, *L.plantarum* O22b ve *L.plantarum* O30 izlemiştir.

Shimamura vd. proteolitik özellikleriyle bilinen *Bifidobacterium* cinsinin üyelerinden *B.longum*'un 10000 ppm'de yaklaşık %1 canlı kalma oranıyla bu bileşiğe karşı hassas, *B.infactis*'in ise aynı konsantrasyonda yaklaşık %99 canlı kalma oranıyla

en dayanıklı suş olduğunu tespit etmişlerdir (Karasu 2006). Bu çalışma sonuçlarına göre *L.plantarum* izolatlarının tamamı *B.longum*'a göre 10000 ppm H₂O₂'ye daha dayanıklıdır.

Küme 3: Küme 3 izolatlarının H₂O₂ konsantrasyonlarında gelişme değerleri Tablo 3.41'da verilmiştir.

Tablo 3.41 Küme 3 izolatlarının H₂O₂ konsantrasyonlarında %gelişme değerleri

İzolat Kodu	İzolatlar	H ₂ O ₂ Konsantrasyonunda Gelişme Değeri		
		2000ppm	10000ppm	20000ppm
LO180	<i>L.helveticus</i> O16	%66*	%63	%37
LO121	Tanımsız O10	TE	%9	%6
LO123	Tanımsız O17	%13	%5	%4
Ortalama		%39.50	%25.66	%15.66

TE: Tespit edilemedi ; *: Gelişme oranı

Küme 3 izolatlarından 2000 ppm'de *L.helveticus* O16, %66 ile en yüksek değeri alırken, Tanımsız O10'da 2000 ppm konsantrasyon için değer tespit edilmemiştir. 10000 ve 20000 ppm konsantrasyonlarda *L. helveticus* O16 en yüksek değeri (sırasıyla %63 ve %37) alırken, bu izolatu Tanımsız O10 (sırasıyla %9 ve %6) izlemiştir. Tanımsız O17 her iki konsantrasyonda da en dayanıksız izolat olmuştur.

Tablo 3.42 Tek üyeli kümelerin H₂O₂ konsantrasyonlarında % gelişme değerleri

İzolat Kodu	İzolatlar	H ₂ O ₂ Konsantrasyonunda Gelişme Değeri		
		2000 ppm	10000ppm	20000ppm
LO100	<i>L.lactis ssp.lactis</i> O3	%0*	%0	%0
LO102	<i>L.lactis</i> 7	%98	%76	%52
LO110	<i>L. pentosus</i> O8a	%0	%0	%0
LO130	<i>L.brevis</i> O11	%0	%0	%0
LB131	<i>L.brevis</i> 2	%41	%34	%0
PP167	<i>P.pentosaceus</i> 10	%43	%38	%34
LO170	<i>L.curvatus</i> O32	%54	%32	%28
LC171	<i>L.curvatus</i> 3	%1	%0	%0
LO190	<i>L.paracasei ssp.paracasei</i> O54	%26	%10	%4
LR192	<i>L.paracasei</i> 5	%59	%45	%29
LS201	<i>L.salivarius</i> 4	%97	%78	%65
LA210	<i>L.acidophilus</i> 6	%9	%5	%4
LM220	<i>L.mesenteroides</i> 9	%2	%1	%1
PA230	<i>P.acidilactici</i> 11	%14	%5	%5
LO120	Tanımsız O1	%90	%33	%2
LO122	Tanımsız O15	%50	%41	%35
LO124	Tanımsız O18	%77	%62	%50
Ortalama		%38.88	%27.06	%18.18

*: Gelişme oranı

Tek üyeli kümeler: Tek üyeli kümenin üyeleri arasında H₂O₂'ye dayanıklılık açısından çok büyük farklılıklar bulunmaktadır (Tablo 3.42). H₂O₂'ye dayanıklılık testi sonucu 2000 ppm'de %0-98 arasında (ort. %38.88), 10000 ppm'de %0-78 arasında (ort. 27.06) ve 20000 ppm'de %0-65 arasında (ort. %18.18) gelişme saptanmıştır.

L.lactis 7 ve *L.salivarius* 4 tüm H₂O₂ konsantrasyonlarında en yüksek iki gelişme değerine sahip izolattır. Çalışmada *L.lactis*, *L.brevis* ve *L.curvatus* izolatları arasında ortaya çıkan büyük gelişme farklılığı için anlamlı bir açıklama getirilememektedir.

3.2.10. Safra tuzuna dayanıklılık

İnsan safra içeriğinin fizyolojik konsantrasyonu %0.3-0.5 arasında değişim göstermektedir. Bundan dolayı safra tuzlarının probiyotik bakterilere etkilerinin incelenip, değerlendirilmesi önemli bir seçim kriteridir (Vinderola ve Reinheimer 2003). Probiyotik suşların seçiminde %0.3 safra tuzuna dayanıklılık ayırt edici bir özellik olarak vurgulanmaktadır (Klingberg vd 2005). Bundan hareketle izolatların katı ve sıvı besiyeri ortamlarında safra tuzuna dayanıklılığı test edilmiş ve kümelere göre tartışılmıştır.

Küme 1: Küme 1 izolatlarının ox-bile içeren MRS agar ve MRS brothda gelişme sonuçları Tablo 3.43'deki gibidir.

Tablo 3.43 Küme 1 izolatlarının farklı ox-bile içeriğinde gelişme sonuçları

İzolat Kodu	İzolatlar	% ox-bile (katı)			% ox-bile (sıvı)
		3.0	5.0	9.0	9.0
LO160	<i>P.pentosaceus</i> O24	+	+	+	+
LO161	<i>P.pentosaceus</i> O25	+	+	+	+
LO162	<i>P.pentosaceus</i> O27	+	+	+	+
LO163	<i>P.pentosaceus</i> O29	+	+	+	+
LO164	<i>P.pentosaceus</i> O31	+	+	+	+
LO165	<i>P.pentosaceus</i> O57	+	+	+	+
LO125	Tanımsız O28	+	+	+	+

+: Gelişme var

%3.0, 5.0 ve 9.0 ox-bile içerikli MRS agarda ve %9.0 ox-bile içerikli MRS brothda Küme 1'in tüm üyelerinin geliştikleri tespit edilmiştir. Bu sonuçlar izolatların probiyotik olarak kullanılabilmesi açısından çok olumlu veriler olarak kabul edilmektedir.

Küme 2: Küme 2 izolatlarının ox-bile içeren MRS agar ve MRS brothda gelişme sonuçları Tablo 3.44’de verilmiştir. %3.0, 5.0 ve 9.0 ox-bile içerikli MRS agarda ve %9.0 ox-bile içerikli MRS brothda küme üyelerinin tamamının geliştikleri tespit edilmiştir.

Tablo 3.44 Küme 2 izolatlarının farklı ox-bile içeriğinde gelişme sonuçları

İzolat Kodu	İzolatlar	% ox-bile (katı)			% ox-bile (sıvı)
		3.0	5.0	9.0	9.0
LO140	<i>L.plantarum</i> O12	+	+	+	+
LO141	<i>L.plantarum</i> O13	+	+	+	+
LO142	<i>L.plantarum</i> O14	+	+	+	+
LO143	<i>L.plantarum</i> O19	+	+	+	+
LO144	<i>L.plantarum</i> O20	+	+	+	+
LO145	<i>L.plantarum</i> O21	+	+	+	+
LO147	<i>L.plantarum</i> O23	+	+	+	+
LO148	<i>L.plantarum</i> O26	+	+	+	+
LO149	<i>L.plantarum</i> O30	+	+	+	+
LO150	<i>L.plantarum</i> O33	+	+	+	+
LO151	<i>L.plantarum</i> O41	+	+	+	+
LO153	<i>L.plantarum</i> O58	+	+	+	+
LO155	<i>L.plantarum</i> 1	+	+	+	+
LO156	<i>L.plantarum</i> O22b	+	+	+	+
LO157	<i>L.plantarum</i> O44b	+	+	+	+

+: Gelişme var

Santos vd (2003) *L.plantarum* suşlarının %0.3 safra tuzunda (ox-bile) canlılıklarını sürdürdüğü fakat çoğalamadığını, Papamanoli vd (2003) ise 7 adet *L.plantarum* izolatının tümünün %0.1, 0.3, 0.8, 1.0 ve 2.0 ox-bile içerikli besiyerinde geliştiğini belirtmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar Santos vd (2003) ve Papamanoli vd (2003) tarafından bildirilenlerden çok yüksektir. Bu durum izolatlarla probiyotik olarak kullanılma açısından büyük avantaj sağlamaktadır.

Tablo 3.45 Küme 3 izolatlarının farklı ox-bile içeriğinde gelişme sonuçları

İzolat Kodu	İzolatlar	% ox-bile (katı)			% ox-bile (sıvı)
		3.0	5.0	9.0	9.0
LO180	<i>L.helveticus</i> O16	+	+	+	+
LO121	Tanımsız O10	+	+	+	+
LO123	Tanımsız O17	+	+	+	+

+: Gelişme var

Küme 3: Küme 3 üyesi izolatların farklı oranda ox-bile içeren MRS agar ve MRS brothda gelişme sonuçları Tablo 3.45’de sunulmuştur. Buradan görüldüğü gibi tüm

küme üyeleri %3.0, 5.0, 9.0 ox-bile katkılı MRS agar ve %9 ox-bile katkılı MRS broth besiyerinde gelişmektedir.

Tek üyeli kümeler: Tek üyeli kümelerin farklı ox-bile konsantrasyonlarında gelişme sonuçları Tablo 3.46’da verilmiştir.

Tablo 3.46 Tek üyeli kümelerin farklı ox-bile içeriğinde gelişme sonuçları

İzolat Kodu	İzolatlar	% ox-bile(katı)			% ox-bile (sıvı)
		3.0	5.0	9.0	9.0
LO100	<i>L.lactis ssp.lactis</i> O3	+	+	+	+
LO102	<i>L.lactis</i> 7	+	-	-	+
LO110	<i>L.pentosus</i> O8a	+	+	+	+
LO130	<i>L.brevis</i> O11	+	+	+	+
LB131	<i>L.brevis</i> 2	+	+	+	+
PP167	<i>P.pentosaceus</i> 10	+	+	+	+
LO170	<i>L.curvatus</i> O32	+	-	-	+
LC171	<i>L.curvatus</i> 3	-	-	-	+
LO190	<i>L.paracasei ssp. paracasei</i> O54	+	-	-	+
LR192	<i>L.paracasei</i> 5	-	-	-	-
LS201	<i>L.salivarius</i> 4	-	-	-	-
LA210	<i>L.acidophilus</i> 6	-	-	-	-
LM220	<i>Leu.mesenteroides</i> 9	+	+	+	+
PA230	<i>P.acidilactici</i> 11	+	+	+	+
LO120	Tanımsız O1	-	-	-	-
LO122	Tanımsız O15	-	-	-	-
LO124	Tanımsız O18	+	+	+	+

+: Gelişme var; -: Gelişme yok

L.curvatus izolatlarından 1 adedi %3.0 ox-bile’da gelişmiş, 1 adedi gelişmemiştir. Papamanoli vd (2003) yapmış oldukları çalışmada izole ettikleri 24 adet *L.curvatus* izolatının %0.3 ox-bile’a dirençli olduklarını, ayrıca %0.1 ox-bile’da %100, %0.3’de %58, %0.8’de %21, %1 ve %2 ox-bile’da %0 gelişme tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Çalışma sonucuna göre *L.curvatus* 3 bu literatür verisi ile benzerlik göstermektedir.

L.acidophilus 6 tip izolatu %3.0 ve %5.0 safra tuzunda gelişmemiştir. Jin vd (1998) ve Klingberg vd (2005) probiyotik suşların %0.3 safra tuzuna dayamlı olduklarını belirtmiş, Park vd (2006) de sindirim sisteminden izole edilmiş *L.acidophilus*’un %3.0 safra tuzunda gelişebildiğini, %5.0 konsantrasyonda mikroorganizma sayısında düşüş olduğunu tespit etmişlerdir. Elde edilen sonuç literatür verilerinden daha düşüktür. Bu durum izolatu sindirim sistemi kökenli olmamasından kaynaklanmış olabilir.

3.2.11. Gastrik suya dayanıklılık

Mide içinde birçok mikroorganizmanın ölümüne sebep olan mide (gastrik) suyu yaklaşık 2.0 pH'da 2.5 litre olarak her gün salgılanmaktadır. Bu sebeple insanlarda meydana gelen gastrik taşımaya dayanıklılık probiyotik mikroorganizmaların seçiminde önemli bir kriter olmaktadır. Probiyotik bakterilerin mideden canlılıklarını koruyarak geçebilmeleri suşların çeşidine ve elde ediliş yoluna bağlı bulunmaktadır (Vinderola ve Reinheimer 2003). Bu bilgiler ışığında izolatların mide suyuna dayanıklılıkları 2.0 pH ve 3.0 pH değerlerinde belirlenmeye çalışılmıştır.

Küme 1: Küme 1 izolatlarının gastrik suya dayanıklılık sonuçları Tablo 3.47'de verilmiştir. Araştırmada 2.0 pH'ya ayarlanmış gastrik solüsyonda 3 saat inkübasyondan sonra Küme 1'in izolatlarından tamamında gelişme gözlenirken; bu gelişme değerleri 3.0 pH'ya ayarlanmış gastrik solüsyonda 3 saat inkübasyondan sonra oluşan gelişme değerlerinden daha az olmuştur.

Tablo 3.47 Küme 1 izolatlarının gastrik suya dayanıklılık sonuçları

İzolat Kodu	İzolatlar	Gastrik Su (2 pH)		Gastrik Su (3 pH)	
		% Gelişme	Logaritmik Düşüş	% Gelişme	Logaritmik Düşüş
LO160	<i>P.pentosaceus</i> O24	1.47x10 ⁻⁴	5.8325	-	-
LO161	<i>P.pentosaceus</i> O25	0.0200	3.7970	0.0400	3.4150
LO162	<i>P.pentosaceus</i> O27	<2.4x10 ⁻⁸	>9.6230	<2.4x10 ⁻⁷	>10.6230
LO163	<i>P.pentosaceus</i> O29	1.1x10 ⁻⁴	5.9540	0.0200	3.6530
LO164	<i>P.pentosaceus</i> O31	<2.8x10 ⁻⁸	>9.4770	<3.3x10 ⁻⁷	>10.5560
LO165	<i>P.pentosaceus</i> O57	0.0001	5.9440	0.1100	2.9440
LO125	Tanımsız O28	<3.8x10 ⁻⁹	>10.4100	0.0300	3.5120

-: Tespit edilemedi

Küme 2: 2.0 pH'ya sahip gastrik solüsyonda 3 saat inkübasyondan sonra gelişme gösteren izolatların gelişme değerleri 3.0 pH'ya sahip gastrik solüsyondaki gelişme değerlerinden oldukça düşüktür.(Tablo 3.48). İzolatların % gelişme değerleri 2.0 pH için <1.3x10⁻⁸ ile 9.23 arasında değişim gösterirken; 3.0 pH için 0.0300-50.4300 aralığında değişim göstermektedir.

Tablo 3.48 Küme 2 izolatlarının gastrik suya dayanıklılık sonuçları

İzolat Kodu	İzolatlar	Gastrik Su (2 pH)		Gastrik Su (3 pH)	
		% Gelişme	Logaritmik Düşüş	% Gelişme	Logaritmik Düşüş
LO140	<i>L.plantarum</i> O12	0.0001	5.6020	15.9300	0.8040
LO141	<i>L.plantarum</i> O13	0.0030	4.4210	1.0900	1.9560
LO142	<i>L.plantarum</i> O14	0.0027	4.3670	20.8700	0.6580
LO143	<i>L.plantarum</i> O19	0.0001	5.9031	1.0500	1.9741
LO144	<i>L.plantarum</i> O20	<1.3x10 ⁻⁸	>9.9000	0.6100	2.2180
LO145	<i>L.plantarum</i> O21	1.3x10 ⁻⁴	5.9030	4.1100	1.3890
LO147	<i>L.plantarum</i> O23	0.0008	5.0960	0.0800	3.0960
LO148	<i>L.plantarum</i> O26	0.0003	5.6020	0.0300	3.5440
LO149	<i>L.plantarum</i> O30	0.0001	6.1460	0.5200	2.2770
LO150	<i>L.plantarum</i> O33	0.0004	5.4400	0.5200	2.2440
LO151	<i>L.plantarum</i> O41	0.0002	5.7270	8.7700	1.1630
LO153	<i>L.plantarum</i> O58	0.9865	2.0058	0.5800	2.2398
LO155	<i>L.plantarum</i> 1	<6.8x10 ⁻⁶	>7.1703	0.7400	2.3052
LO156	<i>L.plantarum</i> O22b	0.0029	4.5400	16.6300	0.7971
LO157	<i>L.plantarum</i> O44b	9.2300	1.0733	50.4300	0.3323

Vindorela ve Reinheimer (2003) tarafından en iyi değere sahip izolatları olan *L.acidophilus*'da 3.0 pH'da düşüşün 0.9-3.3 log cfu/g olduğu saptanmıştır, 2.0 pH için ise bu değer 3.4-5.0 log cfu/g olduğu bildirilmiştir ve izolatların çoğunda (*L.casei*, *L.rhamnosus*, *L.lactis*, *L.delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) düşüş >6 olarak bulunmuştur. Çalışma sonuçlarında 2.0 pH için 4 adet izolat bu tanıma uyum gösterirken, 3.0 pH da 10 adet izolat uyum göstermiştir. Ayrıca çalışmada 2.0 pH'da 3 adet izolatin >6 değerini göstermesi Vindorela ve Reinheimer (2003) çalışmasında çeşitli laktik asit bakterileri için 2.0 pH'da düşüşün >6 olduğu sonucunu doğrulamaktadır.

Küme 3: Küme 3'deki izolatların gastrik suya dayanıklılık sonuçları Tablo 3.49'da verilmiştir.

Tablo 3.49 Küme 3 izolatlarının gastrik suya dayanıklılık sonuçları

İzolat Kodu	İzolatlar	Gastrik Su (2 pH)		Gastrik Su (3 pH)	
		% Gelişme	Logaritmik Düşüş	% Gelişme	Logaritmik Düşüş
LO180	<i>L.helveticus</i> O16	<3.3x10 ⁻⁸	>9.59	0.0300	3.477
LO121	Tanımsız O10	0.0033	5.48	0.1900	2.714
LO123	Tanımsız O17	0.0010	5.00	25.000	0.602

Küme 3 üyelerinden Tanımsız O10, 2.0 pH'da en yüksek gelişmeyi gösterirken; 3.0 pH'da en yüksek gelişmeyi Tanımsız O17 göstermiştir. Logaritmik düşüşlerin beklenildiği gibi 2.0 pH'da 3.0 pH'dan daha fazla olduğu görülmektedir.

Tek üyeli kümeler: Tek üyeli kümelerin gastrik suya dayanıklılık değerleri Tablo 3.50'de verildiği gibi çok değişken olmuştur. 2.0 pH'da izolatların % gelişme değerleri $<1.1 \times 10^{-6}$ ile 1.52 arasındayken, 3.0 pH'da 0.0900-94.4400 arasında bulunmuştur.

Tablo 3.50 Tek üyeli kümelerin gastrik suya dayanıklılık sonuçları

İzolot Kodu	İzolatlar	Gastrik Su (2 pH)		Gastrik Su (3 pH)	
		% Gelişme	Logaritmik Düşüş	% Gelişme	Logaritmik düşüş
LO100	<i>L.lactis ssp.lactis</i> O3	0.0001	5.6990	12.7900	0.8930
LO102	<i>L.lactis</i> 7	$<5.0 \times 10^{-5}$	>6.3118	6.5900	1.0818
LO110	<i>L. pentosus</i> O8a	0.0100	3.9770	67.4300	0.1730
LO130	<i>L.brevis</i> O11	6.1×10^{-4}	5.2170	1.0700	1.9700
LB131	<i>L.brevis</i> 2	$<3.0 \times 10^{-5}$	>6.5289	22.8800	0.6410
PP167	<i>P.pentosaceus</i> 10	1.52	1.5219	26.4700	0.6218
LO170	<i>L.curvatus</i> O32	2.4×10^{-4}	5.6219	0.9600	2.0131
LC171	<i>L.curvatus</i> 3	$<2.5 \times 10^{-2}$	>3.6020	5.8300	1.2350
LO190	<i>L.paracasei ssp.paracasei</i> O54	3.0×10^{-4}	5.5320	35.5600	0.4530
LR192	<i>L.paracasei</i> 5	$<8.6 \times 10^{-6}$	>7.0644	0.0900	2.9889
LS201	<i>L.salivarius</i> 4	$<1.1 \times 10^{-6}$	>6.3680	74.4400	0.1466
LA210	<i>L.acidophilus</i> 6	$<2.4 \times 10^{-4}$	>5.6291	9.4000	1.0270
LM22	<i>L.mesenteroides</i> 9	$<4.2 \times 10^{-6}$	4.3732	0.1100	2.9599
PA230	<i>P.acidilactici</i> 11	0.0200	3.6444	2.4000	1.6198
LO120	Tanımsız O1	0.0200	4.7320	94.4400	0.0245
LO122	Tanımsız O15	0.0030	3.9770	20.8700	2.9770
LO124	Tanımsız O18	0.0200	3.7140	-	-

:- Tespit edilemedi

Vindorela ve Reinheimer (2003) en yüksek canlı kalma oranlarının 3.0 pH'da *L.acidophilus*'ta olduğunu (0.9-3.3 log cfu/g) ve 2.0 pH'da izolatların çoğunda (*L.casei*, *L.rhamnosus*, *L.lactis*, *L.delbrueckii subsp. bulgaricus*) düşüşün >6 olduğunu tespit etmişlerdir. Klingberg vd (2005) tarafından 2.5 pH'da *L.plantarum* ve *L.pentosus*'un 1-4 saat arası canlı kalabildiği belirtilmiştir. 2.0 pH açısından 4 izolat, 3.0 pH açısından 8 izolat Vindorela ve Reinheimer (2003) çalışması ile uyum göstermektedir.

3.2.12. Alkole dayanıklılık

İzolatların %10, %12 ve %15 oranında etil alkol içeren 2.5 ml'lik MRS broth besiyerinde 30°C'de 7 gün inkübasyon sonucu gelişme durumu belirlenmiş ve nümerik taksonomi ile belirlenmiş kümelere göre sonuçlar tartışılmıştır.

Küme 1: Küme 1 izolatlarının Tablo 3.51'de verilen alkole dayanıklılık sonuçlarına göre tüm *P.pentosaceus* üyeleri %10 ve 12 alkol içeriğinde gelişmiş, %15 alkolde ise

hiçbirisi gelişmemiştir. Ancak %10 alkole dayanıklılık probiyotik özellik açısından son derece yeterli bir karakterdir.

Tablo 3.51 Küme 1 izolatlarının alkole dayanıklılık sonuçları

İzolat Kodu	İzolatlar	Alkol İçeriği		
		%10	%12	%15
LO160	<i>P.pentosaceus</i> O24	+	+	-
LO161	<i>P.pentosaceus</i> O25	+	+	-
LO162	<i>P.pentosaceus</i> O27	+	+	-
LO163	<i>P.pentosaceus</i> O29	+	+	-
LO164	<i>P.pentosaceus</i> O31	+	+	-
LO165	<i>P.pentosaceus</i> O57	+	+	-
LO125	Tanımsız O28	+	-	-

+: Gelişme var; -: Gelişme yok

Küme 2: Küme 2 izolatlarının alkole dayanıklılık sonuçları Tablo 3.52’de verilmiştir. Buna göre *L.plantarum* O12 isimli üye denenen hiçbir konsantrasyonda gelişme göstermezken, diğer üyeleri %10 ve %12 alkole gelişme göstermiştir. %15 alkole ise sadece *L.plantarum* O23 gelişme göstermiştir.

Tablo 3.52 Küme 2 izolatlarının alkole dayanıklılık sonuçları

İzolat Kodu	İzolatlar	Alkol İçeriği		
		%10	%12	%15
LO140	<i>L.plantarum</i> O12	-	-	-
LO141	<i>L.plantarum</i> O13	+	+	-
LO142	<i>L.plantarum</i> O14	+	+	-
LO143	<i>L.plantarum</i> O19	+	+	-
LO144	<i>L.plantarum</i> O20	+	+	-
LO145	<i>L.plantarum</i> O21	+	+	-
LO147	<i>L.plantarum</i> O23	+	+	+
LO148	<i>L.plantarum</i> O26	+	+	-
LO149	<i>L.plantarum</i> O30	+	+	-
LO150	<i>L.plantarum</i> O33	+	+	-
LO151	<i>L.plantarum</i> O41	+	+	-
LO153	<i>L.plantarum</i> O58	+	+	-
LO155	<i>L.plantarum</i> 1	+	+	-
LO156	<i>L.plantarum</i> O22b	+	+	-
LO157	<i>L.plantarum</i> O44b	+	+	-

+: Gelişme var; -: Gelişme yok

G-Allegria vd (2004) bu çalışma sonuçlarına benzer şekilde *L.plantarum* izolatlarının %7, 12 ve 13 alkole gelişme gösterdiğini tespit etmiştir. *L.plantarum* O12 dışında tüm küme üyelerinde görülen %12 alkole dayanıklılık özelliği, probiyotik özellik açısından son derece yeterli bir orandır.

Küme 3: Küme üyesi izolatlarının alkole dayanıklılık sonuçları Tablo 3.53’de verilmiştir. İzolatların tamamı %10 ve %12 alkolde gelişme gösterirken, %15 alkolde gelişme gösterememiştir. Ancak, %12 alkolde dayanıklılık probiyotik özellik açısından yeterli bir orandır.

Tablo 3.53 Küme 3 izolatlarının alkole dayanıklılık sonuçları

İzolat Kodu	İzolatlar	Alkol içeriği		
		%10	%12	%15
LO180	<i>L.helveticus</i> O16	+	+	-
LO121	Tanımsız O10	+	+	-
LO123	Tanımsız O17	+	+	-

+: Gelişme var; -: Gelişme yok

Tek üyeli kümeler: Küme tek üyeli kümelerin % alkol konsantrasyonlarında gelişme değerleri de Tablo 3.54’de verilmiştir. Tek üyeli kümelerden *L.lactis ssp. lactis* O3, *L.lactis* 7, *L.pentosus* O8a, *L.brevis* O11, *L.brevis* 2, *P.pentosaceus* 10, *L.curvatus* O32, *L.curvatus* 3 *L.paracasei ssp. paracasei* O54, *L.paracasei* 5, *L.salivarius* 4 *Leu.mesenteroides* 9, *P.acidilactici* 11, %10 alkolde gelişirken; diğer üyelerde gelişme yoktur. %15 alkol’de ise *L.pentosus* O8a, *L.brevis* O11, *L.brevis* 2, *L.curvatus* O32, *L.paracasei ssp. paracasei* O54 gelişmiş; diğer üyeler gelişmemiştir.

Tablo 3.54 Tek üyeli kümelerin alkole dayanıklılık sonuçları

İzolat Kodu	İzolatlar	Alkol içeriği		
		%10	%12	%15
LO100	<i>L.lactis ssp. lactis</i> O3	+	+	-
LO102	<i>L.lactis</i> 7	+	+	-
LO110	<i>L. pentosus</i> O8a	+	+	+
LO130	<i>L.brevis</i> O11	+	+	+
LB131	<i>L.brevis</i> 2	+	+	+
PP167	<i>P.pentosaceus</i> 10	+	+	-
LO170	<i>L.curvatus</i> O32	+	+	+
LC171	<i>L.curvatus</i> 3	+	-	-
LO190	<i>L.paracasei ssp. paracasei</i> O54	+	+	+
LR192	<i>L.paracasei</i> 5	+	+	-
LS201	<i>L.salivarius</i> 4	+	-	-
LA210	<i>L.acidophilus</i> 6	-	-	-
LM220	<i>L.mesenteroides</i> 9	+	+	-
PA230	<i>P.acidilactici</i> 11	+	+	-
LO120	Tanımsız O1	-	-	-
LO122	Tanımsız O15	-	-	-
LO124	Tanımsız O18	-	-	-

+: Gelişme var, -: Gelişme yok

García Fontán vd (2007) yaptıkları çalışmada *L.mesenteroides* subsp. *mesenteroides*'in 4 izolatının %10 etanolde hiçbirinin gelişme göstermediğini tespit etmiştir. Çalışma sonunda *L.mesenteroides* 9 için %10 alkolde gelişme tespit edildiğinden sonuç literatür verisiyle benzeşmemektedir.

3.2.13. Plazmid DNA izolasyonu

Plazmidler sitoplazmada bulunan, kendi replikasyonlarını kendileri yöneten, küçük DNA molekülleridir (ekstrakromozomal DNA). Birçok araştırmacı laktik asit bakterisinde bulunan plazmid DNA'ların; ekzopolisakkarit bakteriyosin ve asit üretimi, antibiyotiklere, ağır metal iyonlarına ve fajlara dirençlilik, proteolitik aktivite ve sitrat metabolizmasından sorumlu genleri taşıdığını belirtmişlerdir (McKay 1983, Pouwels ve Leer 1993, Venema 1993). Bu nedenle plazmidler, endüstriyel starter kültür suşu geliştirilen çalışmalarının önemli materyalini oluşturmaktadır. Tür içi ve türler arası genetik madde aktarımlarını da yönetme yeteneğindeki plazmidler bu bakterilere çevresel uyumu kolaylaştıracak bir genetik imkan sağlamaktadır. Bakterilerin plazmid profillerinin tanımlanması, özellikle suşların farklılığının ortaya konulması açısından da değer taşımaktadır. Tüm bu faktörler dikkate alınarak izolatların plazmid DNA analizleri de gerçekleştirilmiş ve kümelere göre tartışılmıştır.

Küme 1: Araştırma sonucu elde edilen küme üyesi izolatların plazmid sayıları Tablo 3.55'de verilmiştir. Küme1'in üyelerinden en fazla plazmidi 8 plazmid ile *P.pentosaceus* O27 taşırken, bu sayıyı 4 adet plazmid sayısı ile *P.pentosaceus* O25, O29 ve Tanımsız O28 izlemiştir. En az plazmidi taşıyan izolat ise 1 adet plazmid içeren *P.pentosaceus* O31'dir.

Tablo 3.55 Küme 1 izolatlarının plazmid DNA sayıları

İzolat Kodu	İzolatlar	Plazmid Sayısı
LO160	<i>P.pentosaceus</i> O24	2
LO161	<i>P.pentosaceus</i> O25	4
LO162	<i>P.pentosaceus</i> O27	8
LO163	<i>P.pentosaceus</i> O29	4
LO164	<i>P.pentosaceus</i> O31	1
LO165	<i>P.pentosaceus</i> O57	3
LO125	Tanımsız O28	4

Şimşek (2003) tarafından yapılan çalışmada da *Pediococcus* sp. E5'de 5 adet plazmid sayılmıştır. Çalışmada bulunan plazmid sayıları bu literatür verisiyle benzerlik göstermektedir.

Küme 2: Küme 2 izolatlarının plazmid DNA sayıları Tablo 3.56'da sunulmuştur. Küme 2'nin en çok plazmide sahip üyesi 6 plazmid ile *L.plantarum* O44b ve *L.plantarum* O21'dir. *L.plantarum* O30 ve O58 izolatlarında plazmid belirlenememiştir.

Tablo 3.56 Küme 2 izolatlarının plazmid DNA sayıları

İzolat Kodu	İzolat Adı	Plazmid Sayısı
LO140	<i>L.plantarum</i> O12	2
LO141	<i>L.plantarum</i> O13	4
LO142	<i>L.plantarum</i> O14	4
LO143	<i>L.plantarum</i> O19	3
LO144	<i>L.plantarum</i> O20	2
LO145	<i>L.plantarum</i> O21	6
LO147	<i>L.plantarum</i> O23	3
LO148	<i>L.plantarum</i> O26	4
LO149	<i>L.plantarum</i> O30	-
LO150	<i>L.plantarum</i> O33	4
LO151	<i>L.plantarum</i> O41	5
LO153	<i>L.plantarum</i> O58	-
LO155	<i>L.plantarum</i> 1	3
LO156	<i>L.plantarum</i> O22b	1
LO157	<i>L.plantarum</i> O44b	6

Şimşek (2003) tarafından izole edilen 3 adet *L.plantarum* izolatlarında 3, 4 ve 6 adet plazmid DNA tespit edilmiştir. Çalışmada *L.plantarum* O30 ve O58 için elde edilen değerler hariç tutulacak olursa, sonuçlar Şimşek (2003) tarafından verilen literatür verisiyle uyumludur.

Tablo 3.57 Küme3 izolatlarının plazmid DNA sayıları

İzolat Kodu	İzolatlar	Plazmid Sayısı
LO180	<i>L.helveticus</i> O16	4
LO121	Tanımsız O10	5
LO123	Tanımsız O17	5

Küme 3: Küme üyesi izolatların plazmid DNA sayıları Tablo 3.57'da verilmiştir. Küme üyelerinden *L.helveticus* O16, 4 adet plazmid içerirken, Tanımsız O10 ve O17

izolatları 5 adet plazmid içermektedir. Bu çalışmada elde edilenin aksine Reinheimer vd (1996) çalışmasında *L.helveticus*'da DNA plazmidi saptayamamıştır.

Tek üyeli kümeler : Tek üyeli kümelerin plazmid DNA izolasyonu değerleri Tablo 3.58'de verilmiştir. *L.lactis* ssp. *lactis* O3, *L. pentosus* O8a, *L.brevis* O11, *L.curvatus* O32, *L.curvatus* 3, , *L.paracasei* ssp. *paracasei* O54, *L.salivarius* 4 ve *P.acidilactici* 11'in 1 adet plazmidde yani en düşük sayıda plazmidde sahip olduğu, en yüksek plazmidde ise Tanımsız O1'in sahip olduğu tespit edilmiştir. Diğer izolatlar ise 1-4 arasında plazmid DNA'ya sahiptirler.

Tablo 3.58 Tek üyeli kümelerin plazmid DNA sayıları

İzolat Kodu	İzolatlar	Plazmid Sayısı
LO100	<i>L.lactis</i> ssp. <i>lactis</i> O3	1
LO102	<i>L.lactis</i> 7	2
LO110	<i>L. pentosus</i> O8a	1
LO130	<i>L.brevis</i> O11	1
LB131	<i>L.brevis</i> 2	2
PP167	<i>P.pentosaceus</i> 10	3
LO170	<i>L.curvatus</i> O32	1
LC171	<i>L.curvatus</i> 3	1
LO190	<i>L.paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> O54	1
LR192	<i>L.paracasei</i> 5	2
LS201	<i>L.salivarius</i> 4	1
LA210	<i>L.acidophilus</i> 6	3
LM220	<i>L.mesenteroides</i> 9	2
PA230	<i>P.acidilactici</i> 11	1
LO120	Tanımsız O1	4
LO122	Tanımsız O15	2
LO124	Tanımsız O18	2

Şimşek (2003) *L.brevis* ssp. *lindneri* 2103'ün 2 plazmid DNA, *L. acidophilus* 274, 134, 15, 473 izolatlarının sırasıyla 6, 5, 2 ve 0 plazmid DNA içerdiğini belirlemiştir. Çalışmada gerek *L.brevis* O11 ve *L.brevis* 2 gerekse de *L.acidophilus* 6 için bulunan plazmid DNA sonuçları literatür verisiyle uyumludur.

Şimşek (2003) *Lactobacillus*'larla yapmış olduğu çalışmada 7 adet izolattan *Lactobacillus* sp. B2, K4'nin plazmidsiz, *Lactobacillus* sp. B3, 261 ve 3124'ün 6 adet *Lactobacillus* sp. 482'nin 4 adet ve *Lactobacillus* sp. 483'ün de 3 adet plazmid DNA içerdiğini belirtmiştir. Çalışmada bulunan değerler bu sınırlar içerisinde bulunması nedeni ile literatür ile uyumlu kabul edilmiştir.

3.2.14. İzolatların temel özellikleri

Küme 1: Küme1 izolatlarının temel özellikleri ve izolasyon kaynakları Tablo 3.59'da verilmiştir. Küme üyelerinin tamamında Gram boyama pozitif; katalaz, arginin hidrolizi ve glukozdan gaz üretimi negatif, mikroskop altındaki morfolojilerinin de Tanımsız O28 izolatı dışında kok olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3.59 Küme 1 izolatlarının temel özellikleri ve izolasyon kaynakları

İzolat Kodu	İzolatlar	Gram Boyama	Katalaz	Arginin Hidroliz	Glukozdan Gaz Üretimi	Morfoloji	İzolasyon Kaynağı
LO160	<i>P.pentosaceus</i> O24	+	-	-	-	Kok	Sucuk
LO161	<i>P.pentosaceus</i> O25	+	-	-	-	Kok	Sucuk
LO162	<i>P.pentosaceus</i> O27	+	-	-	-	Kok	Sucuk
LO163	<i>P.pentosaceus</i> O29	+	-	-	-	Kok	Sucuk
LO164	<i>P.pentosaceus</i> O31	+	-	-	-	Kok	Sucuk
LO165	<i>P.pentosaceus</i> O57	+	-	-	-	Kok	Sucuk
LO125	TanımsızO28	+	-	-	-	Basil	Sucuk

+: Pozitif; -: Negatif

Tamang vd (2005) yaptıkları çalışmada 7 adet *P.pentosaceus* izolatının tamamının glukozdan gaz üretiminin negatif , arginin hidrolizinin pozitif olduğunu belirtmişlerdir. Şimşek (2003) *Pediococcus* ssp. E5'in morfolojisinin kok, Gram boyamasının, arginin hidrolizinin pozitif, glukozdan gaz üretiminin negatif olduğunu belirtmiştir. Çalışma sonuçları Şimşek (2003) ve Tamang vd (2005) ile glukozdan gaz üretimi açısından benzerlik gösterirken, arginininden NH₃ üretimi açısından benzememektedir.

Küme 2: Küme 2 izolatlarının temel özellikleri ve izolasyon kaynakları Tablo 3.60'da verilmiştir. Küme üyelerinin tamamının Gram boyamasının pozitif; katalaz, arginin hidrolizi ve glukozdan gaz üretiminin negatif, mikroskop altındaki morfolojilerinin ise basil olduğu tespit edilmiştir.

Tamang vd (2005) çalışmalarında fermente sebzelerden izole ettikleri 13 adet *L.plantarum* izolatının tamamında glukozdan gaz üretiminin olmadığını ve arginin hidrolizinin yalnızca 3 izolatta pozitif olduğunu belirtmişlerdir. García Fontán vd (2007) yaptıkları çalışmada 18 adet *L.plantarum* suşunun glukozdan gaz üretiminin olmadığını tespit etmişlerdir. Papamanoli vd (2003) izole ettiği 7 adet *L.plantarum*'un glukozdan gaz üretiminin ve arginin hidrolizinin hiçbirinde pozitif olmadığını belirtmişlerdir. Çalışma sonuçları Papamanoli vd (2003), Tamang vd (2005), Karasu (2006) ve García Fontán vd (2007) tarafından izole edilen *L.plantarum* izolatlarıyla temel özellikler açısından uyum göstermektedir.

Tablo 3.60 Küme 2 izolatlarının temel özellikleri ve izolasyon kaynakları

İzolot Kodu	İzolot Adı	Gram Boyama	Katalaz	Arginin Hidroliz	Glukozdan Gaz Üretimi	Morfoloji	İzolasyon Kaynağı
LO140	<i>L.plantarum</i> O12	+	-	-	-	Basil	Karışık turşu
LO141	<i>L.plantarum</i> O13	+	-	-	-	Basil	Karışık turşu
LO142	<i>L.plantarum</i> O14	+	-	-	-	Basil	Ekşi hamur
LO143	<i>L.plantarum</i> O19	+	-	-	-	Basil	Hıyar turşusu
LO144	<i>L.plantarum</i> O20	+	-	-	-	Basil	Peynir
LO145	<i>L.plantarum</i> O21	+	-	-	-	Basil	Peynir
LO147	<i>L.plantarum</i> O23	+	-	-	-	Basil	Turşu
LO148	<i>L.plantarum</i> O26	+	-	-	-	Basil	Sucuk
LO149	<i>L.plantarum</i> O30	+	-	-	-	Basil	Sucuk
LO150	<i>L.plantarum</i> O33	+	-	-	-	Basil	Peynir
LO151	<i>L.plantarum</i> O41	+	-	-	-	Basil	Peynir
LO153	<i>L.plantarum</i> O58	+	-	-	-	Basil	Peynir
LO155	<i>L.plantarum</i> 1	+	-	-	-	Basil	Tip izolatu
LO156	<i>L.plantarum</i> O22b	+	-	-	-	Basil	Peynir
LO157	<i>L.plantarum</i> O44b	+	-	-	-	Basil	Ekşi hamur

+: Pozitif; -: Negatif

Şimşek (2003) *L.plantarum* 431, C5, 113 izolatlarının morfolojik görünümünün basil, Gram boyamasının pozitif, katalaz, arjinin hidrolizi ve glukozdan gaz üretiminin negatif olduğunu bildirmiştir. Karasu (2006) turşu ve zeytinden izole etmiş olduğu *L.plantarum*'ların Gram boyamasının pozitif, katalaz, arginin hidrolizi ve glukozdan gaz üretiminin negatif, morfolojilerinin basil olduğunu bildirmiştir. Çalışma sonuçları Şimşek (2003) ve Karasu (2006) tarafından bildirilen literatür verileriyle tam bir benzerlik göstermektedir.

Küme 3. Küme 3 izolatlarının temel özellikleri ve izolasyon kaynakları Tablo 3.61'da verilmiştir. Küme üyelerinden *L.helveticus* O16, Tanımsız O10 ve Tanımsız O17'nin Gram boyaması pozitif, katalaz aktivitesi ve glukozdan gaz üretimi negatif; *L.helveticus* O16 ve Tanımsız O17'nin arginin hidrolizi negatif, Tanımsız O10 için arginin hidrolizi pozitif; *L.helveticus* O16 ve Tanımsız O10'un mikroskop altındaki morfolojileri basil, Tanımsız O17'nin morfolojisi kok olarak tespit edilmiştir.

Hébert vd (2000) Arjantin ve İtalya peynirlerinden izole ettikleri *Lactobacillus*'lar için yapmış oldukları çalışma sonucunda bu mikroorganizmaların Gram reaksiyon verdiğini, glukozdan gaz ürettiğini, katalazın negatif olduğunu ve argininden amonyak üretmediğini tespit etmişlerdir.

Tablo 3.61 Küme 3 izolatlarının temel özellikleri ve izolasyon kaynakları

İzolat Kodu	İzolatlar	Gram Boyama	Katalaz	Arginin Hidroliz	Glukozdan Gaz Üretimi	Morfoloji	İzolasyon Kaynağı
LO180	<i>L.helveticus</i> O16	+	-	-	-	Basil	Ekşi hamur
LO121	Tanımsız O10	+	-	+	-	Basil	Ekşi hamur
LO123	Tanımsız O17	+	-	-	-	Kok	Ekşi hamur

+: Pozitif; -: Negatif

Tek üyeli kümeler: Tek üyeli kümelerin temel özellikleri ve izolasyon kaynakları Tablo 3.62’de verilmiştir. Tek üyeli kümeler incelendiğinde bunların tamamının Gram boyamasının pozitif, katalazının negatif olduğu; arginin hidrolizinin *L.lactis ssp. lactis* O3, *L. pentosus* O8a, *P.pentosaceus* 10, *L.paracasei ssp. paracasei* O54, *L.mesenteroides* 9, *P.acidilactici* 11 ve *L.brevis* O11’de pozitif, diğerlerinde negatif; glukozdan gaz üretiminin *L.mesenteroides* 9, *L.brevis* O11, *L.brevis* 2 ve Tanımsız O18’de pozitif, diğerlerinde negatif olduğu saptanmıştır. Morfolojileri incelendiğinde *L.lactis ssp. lactis* O3, *L.lactis* 7, *P.pentosaceus* 10, *L.mesenteroides* 9 ve *P.acidilactici* 11’in kok, diğerlerinin basil olduğu tespit edilmiştir .

Tablo 3.62 Tek üyeli kümelerin temel özellikleri ve izolasyon kaynakları

İzolat Kodu	İzolatlar	Gram Boyama	Katalaz	Arginin Hidroliz	Glukozdan Gaz Üretimi	Morfoloji	İzolasyon Kaynağı
LO100	<i>L.lactis ssp. lactis</i> O3	+	-	+	-	Kok	Peynir
LO102	<i>L.lactis</i> 7	+	-	-	-	Kok	Tip suşu
LO110	<i>L.pentosus</i> O8a	+	-	+	-	Basil	Ekşi hamur
LO130	<i>L.brevis</i> O11	+	-	+	+	Basil	Ekşi hamur
LB131	<i>L.brevis</i> 2	+	-	-	+	Basil	Tip suşu
PP167	<i>P.pentosaceus</i> 10	+	-	+	-	Kok	Tip suşu
LO170	<i>L.curvatus</i> O32	+	-	-	-	Basil	Peynir
LC171	<i>L.curvatus</i> 3	+	-	-	-	Basil	Tip suşu
LO190	<i>L.paracasei ssp. paracasei</i> O54	+	-	+	-	Basil	Peynir
LR192	<i>L.paracasei</i> 5	+	-	-	-	Basil	Tip suşu
LS201	<i>L.salivarius</i> 4	+	-	-	-	Basil	Tip suşu
LA210	<i>L.acidophilus</i> 6	+	-	-	-	Basil	Tip suşu
LM220	<i>L.mesenteroides</i> 9	+	-	+	+	Kok	Tip suşu
PA230	<i>P.acidilactici</i> 11	+	-	+	-	Kok	Tip suşu
LO120	Tanımsız O1	+	-	-	-	Basil	Peynir
LO122	Tanımsız O15	+	-	-	-	Basil	Ekşi hamur
LO124	Tanımsız O18	+	-	-	+	Basil	Ekşi hamur

+: Pozitif; -: Negatif

Ayad vd (1999) çalışmalarında 23 adet *L.lactis* izolatının arginin hidrolizinin pozitif olduğunu tespit etmişlerdir. Özkalp (2006) çalışmasında 50 adet *L.lactis* izolatlarıyla çalışmış bunların hepsinin morfolojilerinin kok olduğunu, Gram boyamalarının pozitif, katalazın negatif, arginin hidrolizinin 5 izolat dışında pozitif olduğunu belirlemiştir.

Kelly vd (1998) sebze ve meyvelerden izole edilen laktokokların bütün suşlarının Gram pozitif , katalaz negatif, kok şekilli olduğunu ve glukozdan gaz üretimleri ile sukrozdan dekstran üretimlerinin olmadığını belirtmişlerdir. Arginin degradasyonunun ise olduğunu belirtmişlerdir. Çalışma sonucu *L.lactis*'lerde belirlenen değerler yukarıda verilen literatür sonuçları ile benzerdir.

Karasu (2006) *L.pentosus* izolatlarında yapmış olduğu çalışmada 3 izolatın Gram pozitif, katalaz ve arginin hidrolizinin negatif, morfolojisinin basil olduğunu belirtmiştir. Argininden elde edilen sonuç dışında sonuçlar literatür verisiyle uyumludur.

Tamang vd (2005) çalışmalarında 13 *L.brevis* izolatının glukozdan gaz üretiminin pozitif, arginin hidrolizinin ise sadece 7 izolatta (%53.8) pozitif olduğunu belirtmişlerdir. Çalışma sonunda *L.brevis* O11 için glukozdan gaz üretimi ve arjinin hidrolizi pozitif bulunurken; tip izolatu olan *L.brevis* 2 için glukozdan gaz üretimi pozitif, arjinin hidrolizi negatiftir, dolayısıyla bulunan sonuçlar literatür verisiyle oldukça iyi bir uyum göstermektedir.

Papamanoli vd (2003) yapmış oldukları çalışmada izole ettikleri 24 adet *L.curvatus*'un glukozdan gaz üretmediğini ve arginin hidrolizinin %67'sinde pozitif olduğunu belirtmişlerdir. Kask vd (2003) Estonya yarı sert peynirlerinden izole ettiği 2 adet *L.curvatus*'un, García Fontán vd (2007) de çalışmalarında 23 *L.curvatus* izolatının glukozdan gaz üretmediğini belirtmişlerdir. Yapılan çalışma sonunda elde edilen değerler glukozdan gaz üretimi açısından 3 literatür verisiyle tam bir uyum gösterirken, arginin hidrolizi açısından Papamanoli vd (2003) verisiyle tam benzerlik göstermemektedir.

Şimşek (2003) ekşi hamur örneklerinden izole ettiği *L.acidophilus* 274, 134, 15 ve 473 izolatlarının tamamının morfolojik görünümünün basil, Gram boyamasının pozitif, katalaz, arjinin hidrolizi ve glukozdan gaz üretiminin negatif olduğunu belirtmiştir. Çalışmada bulunan sonuçlar literatür verileriyle tamamen benzerdir.

García Fontán vd (2007) yaptıkları çalışmada. *L.mesenteroides* subsp. *mesenteroides*'in 4 izolatının da glukozdan gaz ürettiğini, ancak L-arginin deaminasyonunu gerçekleştirmediğini belirtmişlerdir. Çalışma sonunda *L.mesenteroides* 9 tip izolatu için bulunan sonuç literatür verisiyle tamamen benzerdir.

Tamang vd (2005) tarafından yapılan çalışmada da *P.acidilactici*'nin glukozdan gaz üretmediği, ancak arginini hidroliz ettiği tespit edilmiştir. Bu literatür verisi *P.acidilactici* 11 tip izolatu için bulunan veri ile tam bir uyum içindedir.

Tamang vd (2005) fermente sebzelerden izole ettikleri laktik asit bakterilerini gruplandırmışlardır. Çubuk formunda olanlarda, glukozdan gaz üretiminin negatif, 108 izolattan 12'sinde arginin hidrolizinin pozitif, 96'sında negatif olduğu, glukozdan gaz üretiminin pozitif olduğu; 70 izolattan ise 40'ında arginin hidrolizinin pozitif, 30'unda negatif olduğu belirtilmiştir. Kok formunda olanlarda da, glukozdan gaz üretiminin negatif, 78 adet izolattan 44'ünde arginin hidrolizinin pozitif 34'ünde negatif olduğu belirtilmiştir. Glukozdan gaz üreten 13 adet kok bakterinin de arginin hidrolizinin olmadığı belirtilmiştir. Ayrıca tüm izolatların Gram pozitif (+) olduğu da ifade edilmiştir. Şimşek (2003) ekşi hamur örneklerinden izole ettiği *Lactobacillus*'larla yaptığı çalışmada *Lactobacillus sp.* 483, 482, B3, B2, 3124, 261, K4, E5'in morfolojilerinin basil, Gram pozitif, katalaz, arjinin hidrolizi ve glukozdan gaz üretiminin negatif olduğunu belirtmiştir. Bu literatür verileri çalışmada elde edilen verilerle paralellik göstermektedir.

3.2.15. Antibiyotiklere duyarlılık

Antibiyotikler mikroorganizma gelişmesini engelleyen farklı bileşimdeki kimyasal maddelerin ortak ismidir. Antibiyotiklerin etki mekanizmaları farklı şekillerde olmaktadır. Etki mekanizmalarına göre antibiyotikler: Bakteri hücre duvarı sentezini bozanlar, sitoplazma membranının permeabilitesini bozanlar, ribozomlarda protein sentezini bozanlar, bakteri genetik materyali üzerine etki yapanlar ve intermediyer metabolizmayı bozanlar olmak üzere 5 ana grupta sınıflandırılabilir (Dökmeci 1992, Kayaalp 1998).

Laktik asit bakterilerinin antibiyotiklere duyarlılığı probiyotik ve starter kültür olarak kullanımlarında büyük önem taşımaktadır. Bazı mikroorganizmalar antibiyotiklere karşı hassasiyet gösterebilmektedir. Ayrıca antibiyotiğe duyarlılık genlerle ilgili olabilmekte ve antibiyotiğe dayanıklılık genlerinin genellikle konjugasyonla plazmidler aracılığıyla aktarılabilirliği de bildirilmektedir (Cebeci ve Gürakan 2003). Bu nedenlerle çalışmada izolatların 16 antibiyotiğe karşı duyarlılıkları da test edilmiş ve Charteris vd (1998) tarafından belirtilen hassasiyet değerlerine göre düzenlenmiş veriler izolatların yer aldığı kümelere göre tartışılmıştır.

Küme 1: Çalışmada küme üyelerinin antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının verildiği Tablo 3.63'den de görüldüğü gibi küme 1 izolatlarının tamamı, polymixin B'ye dirençli, ampicilline 5'i hassas 2'si dirençli, bacitracin, kanamycin ve streptomycine tamamı dirençli, tetracycline 5'i hassas 2'si yarı-hassas, erythromycin ve chloramphenicol tamamı hassas, gentamicin ve vancomycine tamamı dirençli, penicillin G'ye 4'ü dirençli, 3'ü yarı hassastır. Rojo-Bezales vd (2006) tarafından *P.pentosaceus*'un 4 izolatıyla yapılan çalışma sonucunda; penicillin G 10 ve erythromycin 15'in $\leq 0.5-1$ $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, chloramphenicol 30'un 4 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, vancomycin 30'un ≥ 128 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, tetracycline 30'un 8-32 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, streptomycin 10'un 512 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, gentamicin 10'un, 128 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, kanamycin 30'un 512- ≥ 1024 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin inhibisyon için yeterli olduğu bildirilmiştir.

Tablo 3.63 Küme 1 izolatlarının antibiyotik duyarlılık testi sonuçları

İzolat Kodu	İzolatlar	Antibiyotiğe Duyarlılık Testi															
		PB	AM	B	K	S	TE	E	C	CN	VA	P	RD ^a	NV ¹	NV ²	RF	N
LO160	<i>P.pentosaceus</i> O24	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	32.0	12.5	13.0	16.0	2.5
LO161	<i>P.pentosaceus</i> O25	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	MS	24.0	12.0	12.5	17.5	2.5
LO162	<i>P.pentosaceus</i> O27	R	S	R	R	R	MS	S	S	R	R	MS	21.0	12.0	11.0	15.0	1.5
LO163	<i>P.pentosaceus</i> O29	R	S	R	R	R	MS	S	S	R	R	MS	21.5	12.0	11.5	17.0	2.0
LO164	<i>P.pentosaceus</i> O31	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	28.5	17.5	12.0	14.0	1.0
LO165	<i>P.pentosaceus</i> O57	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	32.0	18.0	13.0	16.0	-
LO125	Tammsız O28	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	24.0	15.0	10.0	13.0	-

*: R: Dirençli, MS: Yarı-hassas, S: Hassas

** : PB: Polymixin B, AM: Ampicillin, B: Bacitracin, K: Kanamycin, S: Streptomycin, TE: Tetracycline, E: Erythromycin, C: Chloramphenicol, CN: Gentamicin, VA: Vancomycin, P: Penicillin G, RD: Rifampicin, NV¹: Novobiocin(30 μg), NV²: Novobiocin(5 μg), RF: Rifamycin, N: Neomycin

a: çap (mm)

Küme 2: Çalışmada küme 2 üyelerinin (15 adet) antibiyotik duyarlılık testi sonuçları Tablo 3.64'de sunulduğu gibidir.

L.plantarum izolatlarının polymixin B'ye 2'si hassas, diğerleri dirençlidir. Cebeci ve Gürakan (2003) *L.plantarum* izolatlarının polymixin B'ye karşı 13 adetten 5'inin dirençli, 1'inin yarı hassas ve 7'sinin hassas olduğunu saptamıştır. Charteris vd (1998) Karasu (2006) ve Zhou vd (2005) de çalışmalarında *L.plantarum* izolatının polymixin B'ye dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Bu verilere göre çalışmada polymixin B'ye direnç Cebeci ve Gürakan'a (2003) göre daha yüksek olmasına rağmen uyumlu, Charteris vd (1998), Zhou vd (2005) ve Karasu (2006) ile oldukça benzerdir.

Çalışmada *L.plantarum* izolatlarının ampicilline 5 adedi dirençli, diğerleri hassastır. Ampicilline karşı Cebeci ve Gürakan (2003) 13 adet *L.plantarum* izolatından 4 izolatın

dirençli, 3 adet izolatin yarı hassas, 6 adet izolatin hassas olduğunu belirtmiştir. Karasu (2006) *L.plantarum* 66 dışında diğer izolatların, Herreros vd (2005) izolatların tamamının dirençli olduğunu, Charteris vd (1998) ve Zhou vd (2005) izolatların hassas olduğunu belirtmişlerdir. Olukoya vd. de *L. plantarum*'un, ampicilline % 47.5'unun dirençli olduğunu ifade etmişlerdir (Mathur ve Singh 2005). Sonuçlar literatür verileriyle karşılaştırıldığında, Cebeci ve Gürakan (2003), Charteris vd (1998), Zhou vd (2005) ile benzer, Karasu (2006) ve Herreros vd (2005) ile farklı, Mathur ve Singh'e (2005) göre ise dirençlilik düzeyi biraz düşüktür.

Tablo 3.64 Küme 2 izolatlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçları

İzolat Kodu	İzolatlar	PB	AM	B	K	S	TE	E	C	CN	VA	P	RD ^a	NV ¹	NV ²	RF	N
LO140	<i>L.plantarum</i> O12	R	S	R	R	R	MS	S	S	R	R	MS	18.0	13.0	11.0	11.0	-
LO141	<i>L.plantarum</i> O13	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	24.0	16.0	10.0	13.0	-
LO142	<i>L.plantarum</i> O14	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	26.0	14.5	11.0	14.0	-
LO143	<i>L.plantarum</i> O19	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	24.0	16.0	11.0	14.0	-
LO144	<i>L.plantarum</i> O20	R	S	R	R	R	MS	S	S	R	R	MS	19.5	13.0	12.0	11.5	6.0
LO145	<i>L.plantarum</i> O21	R	S	R	R	R	MS	S	S	R	R	R	26.0	15.0	11.0	12.0	-
LO147	<i>L.plantarum</i> O23	R	S	R	R	R	MS	S	S	R	R	MS	19.5	13.0	12.0	13.0	-
LO148	<i>L.plantarum</i> O26	R	S	R	R	R	MS	S	S	R	R	MS	18.5	5.5	4.5	14.0	-
LO149	<i>L.plantarum</i> O30	R	S	R	R	R	MS	S	S	R	R	MS	18.0	6.0	3.0	14.5	-
LO150	<i>L.plantarum</i> O33	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	MS	17.5	13.0	11.5	18.0	2.5
LO151	<i>L.plantarum</i> O41	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	24.0	16.0	10.0	13.0	-
LO153	<i>L.plantarum</i> O58	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	24.5	7.5	5.5	16.0	-
LO155	<i>L.plantarum</i> 1	R	S	R	R	R	MS	MS	S	R	R	MS	19.0	15.0	13.0	22.5	-
LO156	<i>L.plantarum</i> O22b	R	S	R	R	R	R	MS	S	R	R	R	17.0	-	-	9.5	-
LO157	<i>L.plantarum</i> O44b	R	S	R	R	R	MS	R	S	R	R	MS	21.0	-	-	11.5	-

*: R: Dirençli, MS: Yarı-hassas, S: Hassas

** : PB: Poymixin B, AM: Ampicillin, B: Bacitracin, K: Kanamycin, S: Streptomycin, TE: Tetracycline, E: Erythromycin, C: Chloramphenicol, CN: Gentamicin, VA: Vancomycin, P: Penicillin G, RD: Rifampicin, NV¹: Novobiocin(30µg), NV²: Novobiocin(5µg), RF: Rifamycin, N: Neomycin

a: çap (mm)

Çalışmada tüm izolatların bacitracine dirençli olduğu saptanmıştır. Charteris vd (1998), Cebeci ve Gürakan (2003) ve Karasu (2006) çalışmalarında izole ettikleri *L.plantarum*'ların bacitracine karşı dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle çalışmada elde edilen bacitracin direnç düzeyi Charteris vd (1998), Cebeci ve Gürakan (2003) ve Karasu (2006) çalışmalarıyla tam bir paralellik göstermektedir.

Çalışmada kanamycine tüm izolatlar dirençli olarak bulunmuştur. Charteris vd (1998), Herreros vd (2005), Zhou vd (2005) ve Karasu (2006) elde ettiği *L.plantarum* izolatlarının kanamycine karşı dirençli, Temmerman vd (2003) ise hassas olduğunu saptamışlardır. Danielsen ve Wind (2003) çalışmalarında *L.plantarum* ve *L.pentosus* izolatlarında kanamycinin minimal inhibisyon konsantrasyonunun 256 mg/ml'den fazla

olduğunu tespit etmişlerdir. Rojo- Bezares vd (2006) kanamycin 30'un, *L.plantarum*'un 38 izolatu için inhibisyonda $128 \geq 1024$ $\mu\text{g/ml}$ 'sinin yeterli olduğunu belirtmişlerdir. Çalışma sonuçları Temmerman vd (2003) dışında tüm literatür verileriyle tam uyumludur.

L.plantarum izolatlarının streptomycine dirençli oldukları saptanmıştır. Charteris vd (1998) ve Zhou vd (2005) tarafından da *L.plantarum*'un streptomycine dirençli olduğu saptanmıştır. Danielsen ve Wind (2003) yaptıkları çalışmada, *L.plantarum* ve *L.pentosus* izolatlarına karşı streptomycinin minimal inhibisyon konsantrasyonunun izolatların 17 adedinde 256 mg/ml'den fazla 1 adedinde 64 mg/ml olarak tespit edildiğini belirtmişlerdir. Rojo-Bezares vd (2006) tarafından yapılan çalışmada streptomycin 10'a göre *L.plantarum*'un 38 izolatu için inhibisyonda 16-512 $\mu\text{g/ml}$ değerinin yeterli olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonunda bulunan değerlerle literatür verileri arasında tam bir uyum bulunmaktadır.

Çalışmada 15 adet *L.plantarum* izolatından yalnızca 1 adedinin tetracycline direnç gösterdiği, 8 adedinin yarı-hassas, 6 adedinin ise hassas olduğu tespit edilmiştir. Cebeci ve Gürakan (2003) elde ettikleri *L.plantarum* izolatından 11'inin tetracycline dirençli, 1 adedinin hassas olduğunu, Herreros vd (2005) izole edilen *L.plantarum*'ların tamamının ve Temmerman vd (2003) de izole ettikleri *L.plantarum* izolatlarının %17'sinin tetracycline dirençli olduklarını belirtmiştir. Zhou vd (2005) izole ettiği *L.plantarum* izolatının tetracycline hassas olduğunu, Karasu (2006) turşu ve zeytinden elde ettiği izolatlardan *L.plantarum* 66 izolatu dışındaki 12 izolatın da tetracycline dirençli olduğunu açıklamıştır. Olukoya ve diğerleri *L.plantarum*'un, tetracycline %42.5 dirençli olduğunu, Danielsen de *L.plantarum* 5057'nin tetracycline direnç geni taşıdığını bildirmişlerdir (Mathur ve Singh 2005). Rojo-Bezares vd (2006) çalışmalarında tetracycline 30'un *L.plantarum*'un 38 izolatu için $1 \geq 128$ $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonunun inhibisyonda yeterli olduğunu, bu izolatların %50'sinin inhibe olması için 8 $\mu\text{g/ml}$ gerektiğini açıklamışlardır. Bu literatür verileri çalışma sonuçları ile karşılaştırıldığında, Cebeci ve Gürakan (2003), Herreros vd (2005), Karasu (2006) ve Mathur ve Singh (2005) ile benzeşmemekte, Zhou vd (2005) ve Temmerman vd (2003) ile benzerlik göstermektedir.

Küme üyesi *L.plantarum*'ların erythromycine karşı 2'si yarı hassas, 1'i dirençli, diğerleri hassastır. Cebeci ve Gürakan (2003) tarafından erythromycine karşı 13 adet *L.plantarum* izolatının 11'i hassas, 2'si yarı-hassas olarak tanımlanırken, Zhou vd

(2005) ve Charteris vd (1998) tarafından izole edilen *L.plantarum* izolatu ise dirençli olarak tanımlanmıştır. *L.plantarum* izolatlarının erythromycine karşı Temmerman vd (2003) %33'ünün, Karasu (2006) %67'sinin, Olukoya vd. %17.5'unun dirençli olduğunu bildirmişlerdir (Mathur ve Singh 2005). Rojo-Bezares vd (2006) erythromycin 15'in *L.plantarum*'un 38 izolatını inhibe etmesi için $\leq 0.5-1$ $\mu\text{g/ml}$ 'sinin yeterli olduğunu belirtmişlerdir. Danielsen ve Wind (2003) de *L.plantarum* ve *L.pentosus* izolatlarına erythromycinin minimal inhibisyon konsantrasyonunun 11 tanesinde 1 mg/ml, 5 tanesinde 2 mg/ml ve 2 tanesinde ise 0.5 mg/ml olduğunu belirtmişlerdir. Çalışma sonuçları literatür verileriyle karşılaştırıldığında Charteris vd (1998), Cebeci ve Gürakan (2003), Zhou vd (2005) ve Tannock ile benzer, Temmerman vd (2003), Karasu (2006) ve Mathur ve Singh (2005) tarafından verilenlerden de dirençlilik düzeyinin düşük olduğu belirlenmiştir.

L.plantarum izolatlarının chloramphenicol tamamının hassas olduğu tespit edilmiştir. *L.plantarum* izolatlarının chloramphenicol karşı Karasu (2006) 3 adedinin hassas, 6 adedinin yarı hassas, 3 adedinin dirençli olduğunu, Zhou vd (2005), Temmerman vd (2003) ve Herreros vd (2005) ve Charteris vd (1998) izole ettikleri *L.plantarum* izolatlarının chloramphenicol hassas olduğunu bildirmişlerdir. Ahn vd tarafından çığ domuz etindeki *L.plantarum* caTC2R'nin chloramphenicol dirençli olduğu saptanmıştır. Vidal ve Collins-Thomson da çığ domuz ve sığır etindeki *L.plantarum* ve *L.brevis*'in %3 direnç gösterdiğini belirlemişlerdir (Mathur ve Singh 2005). Rojo-Bezares vd (2006) çalışmalarında chloramphenicol 30'un *L.plantarum*'un 38 izolatu için 4-16 $\mu\text{g/ml}$ değer aralığının inhibisyonda yeterliyken, %50'sinin inhibe olması için 4 $\mu\text{g/ml}$, %90'ünün inhibe olması için de yine 4 $\mu\text{g/ml}$ yeterli olduğunu bildirmiştir. Danielsen ve Wind (2003) yaptıkları çalışmada *L.plantarum* ve *L.pentosus* izolatlarına chloramphenicol antibiyotiginin minimal inhibisyon konsantrasyonunun 11 adedinde 4 mg/ml, 5 adedinde 8 mg/ml ve 2 adedinde ise 2 mg/ml olarak tespit etmişlerdir. Herreros vd (2005) chloramphenicol'ün 30 μg 'ına karşı *L.plantarumun* 2 izolatının da dirençli olmadığını belirtmişlerdir. Çalışma sonuçları literatür verileriyle karşılaştırıldığında, Karasu (2006), Mathur ve Singh (2005) ile benzerlik göstermemekte, Herreros vd (2005), Zhou vd (2005) ve Temmerman vd (2003) ile uyum göstermektedir.

L.plantarum izolatlarının gentamicine tamamı dirençlidir. Cebeci ve Gürakan (2003) gentamicine karşı elde ettiği 13 adet *L.plantarum* izolatından 3'ünü dirençli, 10

adedini hassas olarak saptamıştır. Charteris vd (1998) ve Karasu (2006) çalışmalarında *L.plantarum* izolatlarını, Zhou vd (2005) de çalışmalarındaki *L.plantarum* izolatını gentamicine dirençli bulmuşlardır. Rojo-Bezales vd (2006) çalışmalarında *L.plantarum*'un 38 izolatını 32-128 µg/ml gentamicin 10'un inhibe etmede yeterli olduğunu, izolatların %50'sinin inhibe olması için 64 µg/ml'nin, %90'ün inhibe olması için 128 µg/ml'nin yeterli olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışma sonuçları Charteris vd (1998), Zhou vd (2005) ve Karasu (2006) literatür verileriyle tam bir uyum göstermekteyken, Cebeci ve Gürakan (2003) ile farklıdır.

Vancomycine karşı *L.plantarum* izolatlarının tamamı dirençli olarak tespit edilmiştir. Cebeci ve Gürakan (2003) elde ettiği 13 adet *L.plantarum* izolatından 11 izolatın vancomycin'e dirençli, 2 adet izolatın hassas olduğunu bildirmiştir. Charteris vd (1998), Temmerman vd (2003), Herreros vd (2005), Zhou vd (2005), ve Karasu (2006) yaptıkları araştırmada *L.plantarum* izolatlarının vancomycine karşı dirençli olduğunu belirtmişlerdir. Danielsen ve Wind (2003) ise çalışmalarında *L.plantarum* ve *L.pentosus* izolatlarının vancomycine karşı minimal inhibisyon konsantrasyonunun 256 mg/ml'den fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Elisha ve Courvalin tarafından yapılan çalışmada *L.plantarum*, *L.casei*, *L.salivarius* ve *L.acidophilus*'un D-alanine ve D-alanin ligase ile ilgili enzimlerin varlığından dolayı doğal direnç taşıdığı tespit edilmiştir (Mathur ve Singh 2005). Rojo-Bezales vd (2006), vancomycin 30'un *L.plantarum*'un 38 izolatı için inhibisyonda ≥ 128 µg/ml'sinin yeterli olduğunu bildirmişlerdir. Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde sonuçların, Cebeci ve Gürakan (2003), Herreros vd (2005), Temmerman vd (2003), Zhou vd (2005), Charteris vd (1998), Karasu (2006) literatür verileriyle tamamen uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmada *L.plantarum* izolatlarının penicillin G 10'a 7 adedi dirençli, diğerleri yarı hassastır. Rojo-Bezales vd (2006) çalışmasına göre de penicillin G10'un $\leq 0.5-4$ µg/ml arası konsantrasyonu inhibe etmede yeterlidir.

Rifampicine karşı hassasiyet sınır değerleri Charteris vd (1998) tarafından 5 µg konsantrasyon için verilmiştir (≤ 14 Dirençli; 15-17: Yarı-hassas; ≥ 18 : Hassas). Çalışmada kullanılan rifampicine konsantrasyonu 30 µg olduğu gözden kaçırılmamak şartı ile Charteris vd (1998) verisine göre yapılan değerlendirmede 2. küme üyelerinin 1 adedi yarı-hassas diğerleri hassastır. Rifampicine karşı Cebeci ve Gürakan (2003) 13 adet *L.plantarum* izolatından 7 adedinin dirençli, 3 adedinin yarı hassas ve 3 adedinin hassas olduğunu, Karasu (2006) %83'ünün, Zhou vd (2005) ve Charteris vd (1998) ise

tümünün hassas olduğunu saptamışlardır. Herreros vd (2005) çalışmalarında 5 µg rifampicine *L.plantarum*'un 2 izolatından 1 adedinin dirençli olduğunu bildirmiş, Danielsen ve Wind (2003) de *L.plantarum* izolatlarına rifampicin minimal inhibisyon konsantrasyonunun 4 adedinde 2 mg/ml, 6 adedinde 1 mg/ml, 5 adedinde 0.5 mg/ml ve 3 adedinde ise 0.25 mg/ml olduğunu tespit etmişlerdir. Bu literatür verilerine göre rifampicine direnç Cebeci ve Gürakan'ın (2003) çalışmasına göre oldukça düşük çıkmaktadır. Ancak bu sonuç konsantrasyon farklılığından kaynaklanmış olmalıdır. Konsantrasyon farkına rağmen sonuçlar Zhou vd (2005) ve Charteris vd (1998) ile tam uyumludur.

Küme 3: Çalışmada küme üyelerinin antibiyotik duyarlılık test sonuçları Tablo 3.65'de verilmiştir. Çalışmada denenen 3 adet küme üyesinin polymixin B, bacitracin, kanamycin, streptomycin, gentamicin ve vancomycine tamamının dayanıklı; erythromycin ve chloramphenicole tamamının hassas, tetracycline 1'inin yarı-hassas, 1'inin hassas, diğerinin dirençli; ampicilline 1'inin hassas diğerlerinin dirençli; polymixine de 1'inin yarı-hassas diğerlerinin dirençli olduğu belirlenmiştir.

Tablo 3.65 Küme 3 izolatlarının antibiyotik duyarlılık testi sonuçları

İzolat Kodu	İzolatlar	PB	AM	B	K	S	TE	E	C	CN	VA	P	RD ^a	NV ¹	NV ²	RF	N
LO180	<i>L.helveticus</i> O16	R	R	R	R	R	MS	S	S	R	R	R	22.5	7.5	2.5	13.0	-
LO121	Tanımsız O10	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	22.5	7.5	3.0	12.5	-
LO123	Tanımsız O17	R	S	R	R	R	R	S	S	R	R	MS	16.5	5.5	3.0	12.5	-

*: R: Dirençli, MS: Yarı-hassas, S: Hassas

** : PB: Polymixin B, AM: Ampicillin, B: Bacitracin, K: Kanamycin, S: Streptomycin, TE: Tetracycline, E: Erythromycin, C: Chloramphenicol, CN: Gentamicin, VA: Vancomycin, P: Penicillin G, RD: Rifampicin, NV¹: Novobiocin(30µg), NV²: Novobiocin(5µg), RF: Rifamycin, N: Neomycin

a: çap (mm)

Tek üyeli kümeler: Çalışmada küme üyeleri için elde edilen antibiyotik duyarlılık test sonuçları Tablo 3.66'de verilmiştir. Çalışmada denenen 17 adet küme üyesinin bacitracin ve vancomycine tamamının, polymixin B'ye, ampicilline, kanamycine, streptomycine ve gentamicine karşı da çok büyük kısmının dayanıklı olduğu, chloramphenicole karşı da tamamının hassas olduğu saptanmıştır. Tetracycline 4'ünün yarı-hassas, 8'inin hassas, 5'inin dirençli; erythromycine 1'inin yarı-hassas, 12'sinin hassas, 4'ünün dirençli; penicillin G'ye de 5'inin yarı-hassas, 1'inin hassas ve 11'inin dirençli olduğu belirlenmiştir.

L.lactis ssp. *lactis* O3 izolatu tetracycline hassas, *L.lactis* 7 izolatu yarı hassas, streptomycine her ikisi de dirençli, chloramphenicol karşı her ikisi de hassas bulunmuştur. *L.lactis* ssp. *lactis* O3 izolatu ampicilline, erythromycine, gentamicine, penicillin G ve vancomycine dirençli; *L.lactis* 7 izolatu ampicilline, erythromycine, penicillin G'ye yarı hassas, gentamicine ve vancomycine dirençlidir. Perreten vd. tarafından yapılan çalışmada çiğ süttten yapılmış yumuşak peynirden izole edilen *L.lactis* K214'ün streptomycin adenylase geni, tetracycline direnç geni, chloramphenicol direnç geni içerdiği bildirilmiştir. *L.lactis* izolatlarının ise ampicillin, 1. jenerasyon cephalosporin, chloramphenicol, erythromycin, gentamicin, imipenem, oxacillin, penicillin, piperacillin, sulphonamide, tetracycline, trimethoprim/sulfomethoxazole ve vancomycine duyarlı olduğu saptanmıştır (De Fabrizio vd 1994). Herreros vd (2005) İspanya keçi sütü peyniri olan Armada peynirlerinden izole edilen 18 adet laktik asit bakterilerinin antibiyotik direncini incelediklerinde: 9 adet *L.lactis*'den ampicillin 10µg için 3'ünün, vancomycin 30 µg için 5'inin, chloramphenicol 30 µg için 6'sının, tetracycline 30 µg için 3 adedinin, kanamycin 30 µg için 6'sının dirençli olduğunu belirtmişlerdir.

Tablo 3.66 Tek üyeli kümelerin antibiyotik duyarlılık test sonuçları

İzolot Kodu	İzolatlar	PB	AM	B	K	S	TE	E	C	CN	VA	P	RD ^a	NV ¹	NV ²	RF	N
LO100	<i>L.lactis</i> ssp. <i>lactis</i> O3	MS	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	14.5	14.0	10.0	9.0	-
LO102	<i>L.lactis</i> 7	R	MS	R	R	R	MS	MS	S	R	R	MS	20.5	9.0	5.0	15.5	-
LO110	<i>L.pentosus</i> O8a	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	26.5	6.5	2.5	11.0	5.0
LO130	<i>L.brevis</i> O11	R	R	R	R	R	MS	S	S	R	R	R	25.0	4.5	2.5	12.0	3.0
LB131	<i>L.brevis</i> 2	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	27.0	12.0	11.5	22.0	-
PP167	<i>P.pentosaceus</i> 10	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	22.5	7.5	3.0	12.5	-
LO170	<i>L.curvatus</i> O32	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	27.0	12.0	11.5	22.0	-
LC171	<i>L.curvatus</i> 3	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	MS	19.0	5.0	3.0	20.5	3.5
LO190	<i>L.paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> O54	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	35.5	7.5	13.0	17.5	-
LR192	<i>L.paracasei</i> 5	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	MS	17.0	17.0	16.0	17.5	-
LS201	<i>L.salivarius</i> 4	R	S	R	R	R	R	S	S	R	R	S	16.0	15.0	12.0	14.5	-
LA210	<i>L.acidophilus</i> 6	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	20.5	9.5	7.5	5.5	-
LM220	<i>L.mesenteroides</i> 9	R	R	R	R	R	MS	S	S	MS	R	R	20.0	8.0	5.0	16.0	-
PA230	<i>P.acidilactici</i> 11	R	MS	R	R	R	MS	S	S	R	R	MS	23.5	14.0	13.0	11.5	-
LO120	Tanımsız O1	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	-	-	23.5	30.0	-
LO122	Tanımsız O15	R	R	R	MS	R	S	S	S	R	R	R	27.5	8.0	8.0	19.0	-
LO124	Tanımsız O18	MS	S	R	R	S	S	S	S	R	R	MS	22.0	9.0	5.5	14.0	3.0

*: R: Dirençli, MS: Yarı-hassas, S: Hassas

** : PB: Poymixin B, AM: Ampicillin, B: Bacitracin, K: Kanamycin, S: Streptomycin, TE: Tetracycline, E: Erythromycin, C: Chloramphenicol, CN: Gentamicin, VA: Vancomycin, P: Penicilin G, RD: Rifampicin, NV¹: Novobiocin(30µg), NV²: Novobiocin(5µg), RF: Rifamycin, N: Neomycin

a: çap (mm)

Çalışma sonuçlarına göre *L.pentosis* O8a tetracycline, erythromycine ve chloramphenicol hassas, polymixin B, ampicillin, bacitracin, kanamycin, streptomycin, gentamicin, vancomycin, penicillin G'ye dirençlidir. Literatür verilerinde de Cebeci ve Gürakan (2003) çalışmalarında elde ettikleri 3 *L.pentosis* izolatının tetracycline dirençli, erythromycine karşı hassas olduğunu bildirmişlerdir. Karasu (2006) çalışmasında *L.pentosis* izolatlarının ampicillin, polymixine, gentamicine, bacitracine, vancomycine, kanamycine tamamının dirençli, erythromycine karşı 2 adedinin yarı-hassas 1 adedinin dirençli, rifampicine karşı ise 2 adedinin dirençli, 1 adedinin de yarı-hassas olduğunu tespit etmiştir. Olukoya ve diğerleri *L.pentosis*'un tetracycline %42.5'unun dayanıklı olduğunu bildirmiştir (Mathur ve Singh 2005). Cebeci ve Gürakan (2003) ile tetracycline dirençlilik açısından benzerlik göstermezken, erythromycine hassasiyet gösterme açısından benzer, Karasu (2006) ile oldukça benzer, Mathur ve Singh (2005) ile benzeşmemektedir.

Gerçekleştirilen çalışmada *L.brevis* O11 ve *L.brevis* 2 polymixin B, ampicillin, bacitracin, kanamycin, streptomycin, gentamicin, vancomycin, penicillin G'ye dirençli, tetracycline 1'i yarı-hassas diğeri dirençli, erythromycine 1'i hassas diğeri dirençli, chloramphenicol 2'si de hassastır. Herreros vd (2005) çalışmalarında chloramphenicolün 30 µg için *L.brevis*'in 2 adedinden 1 adedinin, tetracycline 30 µg için *L.brevis*'in 2 izolatı da direnç göstermemiştir. Kanamycine 30 mg için *L.brevis*'in 2 adedinden 2'si de dirençlidir. Olukoya ve diğerleri de *L.brevis* izolatlarının erythromycine %17.5, ampicilline %47.5, cloxacilline %80 ve penicilline %77.5 dirençli olduğunu ifade etmişlerdir (Mathur ve Singh 2005). Çalışma sonuçları Herreros vd (2005) ile uyumlu, Mathur ve Singh (2005)'e göre verilen ampicillin ve penicillin dirençlilik düzeyinden daha yüksektir.

Çalışma sonucunda *L.curvatus* O32 ve *L.curvatus*3'ün 2'si de polymixin B, bacitracin, kanamycin, streptomycin, chloramphenicol, gentamicin, vancomycine dirençli, ampicilline 1'i dirençli diğeri hassas, tetracycline 1'i dirençli, diğeri hassas, erythromycine 1'i dirençli, diğeri hassas, penicillin G'ye 1'i dirençli, diğeri yarı-hassastır. Vidal ve Collins-Thompson çığ domuz ve sığır etinden izole ettiği *L.curvatus*'ların %69'unun tetracycline dirençli olduğunu bildirmişlerdir (Mathur ve Singh 2005). Çalışma sonucu literatür verisiyle uyumludur.

L.paracasei ssp.*paracasei* O54 ve *L.paracasei* 5'in her ikisi de polymixin B, bacitracin, kanamycin, streptomycin, gentamicin, vancomycine dirençli, ampicilline 1'i

dirençli, diğeri hassas, penicilline 1'i dirençli, diğeri yarı-hassas, tetracycline, erythromycin, chloramphenicol 2'si de hassastır. Rojo-Bezales vd (2006) tarafından yapılan çalışmada *L.paracasei*'nin 2 izolatı için yapılan denemede penicillin 10'un inhibisyonunda $\leq 0.5-1 \mu\text{g/ml}$ 'sinin, %50'sinin inhibe olması için de $\leq 0.5 \mu\text{g/ml}$ 'sinin yeterli olduğunu, erythromycin 15'in inhibisyonunda $\leq 0.5 \mu\text{g/ml}$ 'sinin, %50'sinin inhibisyonunda $\leq 0.5 \mu\text{g/ml}$ 'sinin, chloramphenicol 30'un inhibisyonunda $4 \mu\text{g/ml}$ 'sinin, %50'sinin inhibisyonu için yine aynı miktarın, vancomycin 30'un inhibisyonunda $\geq 128 \mu\text{g/ml}$ 'sinin, %50'sinin inhibisyonu için $\geq 128 \mu\text{g/ml}$ 'sinin, tetracycline 30'un inhibisyonunda $1-32 \mu\text{g/ml}$ 'sinin, %50'sinin inhibisyonunda $16 \mu\text{g/ml}$ 'sinin, streptomycin 10'un inhibisyonunda $8-128 \mu\text{g/ml}$ 'sinin, %50'sinin inhibisyonunda $16 \mu\text{g/ml}$ 'sinin, gentamicin 10'un inhibisyonunda $4-64 \mu\text{g/ml}$ 'sinin, %50'sinin inhibisyonunda $4 \mu\text{g/ml}$ 'sinin, kanamycin 30'un inhibisyonunda $16-256 \mu\text{g/ml}$ 'sinin, %50'sinin inhibisyonunda $32 \mu\text{g/ml}$ 'sinin yeterli olduğu bildirilmiştir Olukoya ve diğeri *L.casei* izolatlarının erythromycine %17.5, ampicilline %47.5, cloxacilline %80 ve penicilline %77.5 dirençli olduğunu ifade etmişlerdir (Mathur ve Singh 2005). Charteris vd (1998) çalışmalarında *L.casei* vancomycine dirençli, bacitracine hassas (sadece *L.casei* UNFLc), tetracycline, chloramphenicol, rifampicine, erythromycine hassas (sadece *L.casei* UNFLc) olduğunu bildirmiştir. Temmerman ve diğeri Avrupa probiyotik yoğurdundaki *L.casei*'nin %23'ünün penicillin G ye dirençli olduğunu bildirmişlerdir (Mathur ve Singh 2005).

Çalışmada *L.salivarius* polymixin B, bacitracin, kanamycin, streptomycin, tetracycline, gentamicin ve vancomycine dirençli, ampicillin, erythromycin, chloramphenicol, penicillin G'ye hassas bulunmuştur. Elisha ve Courvalin çalışmalarında *L.salivarius* ve *L.acidophilus*'un vancomycine karşı D-alanine, D-alanin ligase ilgili enzimlerinin varlığı sebebiyle doğal direnç taşıdığını belirtmişlerdir (Mathur ve Singh 2005). Çalışma sonucu literatür verisiyle uyumludur.

Çalışmada *L.acidophilus* 6 polymixin B, ampicillin, bacitracin, kanamycin, streptomycin, tetracycline, gentamicin, vancomycin ve penicillin G'ye dirençli, erythromycine ve chloramphenicol hassastır. Benzer şekilde Charteris vd (1998) tarafından peynirden izole edilen *L.acidophilus* ACA-DC243'ün penicilline dirençli olduğu belirtilmiştir. Çalışmalarında izole etikleri *L.acidophilus*'un tetracycline Olukoya ve diğeri %42.5'unun, Temmerman ve diğeri de %26'sının dirençli olduğunu bildirmişlerdir (Mathur ve Singh 2005). Bir başka çalışmada Gupta ve Mittal,

7 adet *L.acidophilus* izolatın tamamının novobiocin, chloramphenicol, ampicillin, erythromycin, oxy-tetracycline ve chlorotetracycline'e karşı hassas, norfloxacin ve nalidixic acide karşı da dirençli olduğunu belirtmişlerdir (Mathur ve Singh 2005). Çalışma sonuçları literatür verileriyle karşılaştırıldığında, Charteris vd (1998) ile tam uyumlu, dirençlilik düzeyi Mathur ve Singh (2005) çalışmalarında belirtilenden yüksek, chloramphenicol ve erythromycin açısından ise bu literatür verisiyle uyumludur.

Çalışmada *L.mesenteroides* polymixin B, ampicillin, bacitracin, kanamycin, streptomycine, vancomycin ve penicillin G'ye dirençli, tetracycline ve gentamicine yarı-hassas, erythromycin ve chloramphenicol hassastır. Herreros vd (2005) *L.mesenteroides*'in vancomycin, chloramphenicol, tetracycline ve kanamycine 2 adedinin de, ampicillin ve rifampicine de 1 adedinin dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Rojo-Bezares vd (2006) tarafından *L.mesenteroides*'in 3 izolatı için penicillin 10'un inhibisyonunda $\leq 0.5-1$ $\mu\text{g/ml}$ aralığındaki değerlerin, %50'sinin inhibisyonu için ≤ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, erythromycin 15'in inhibisyonunda ≤ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, %50'sinin inhibisyonunda ≤ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, chloramphenicol 30'un inhibisyonunda 4 mg/ml'sinin, %50'sinin inhibisyonunda 4 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, vancomycin 30'un inhibisyonunda ≥ 128 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, %50'sinin inhibisyonunda da ≥ 128 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, tetracycline 30'un inhibisyonunda 1-2 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, %50 inhibisyonunda 2 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, streptomycin 10'un inhibisyonunda 32-64 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, %50'sinin inhibisyonunda 32 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, gentamicin 10'un inhibisyonunda 4-8 $\mu\text{g/ml}$ 'si yeterliyken, %50'sinin inhibe olması için 4 $\mu\text{g/ml}$ 'si, kanamycin 30'un inhibisyonunda 64 $\mu\text{g/ml}$ 'si, %50'sinin inhibisyonu için 64 $\mu\text{g/ml}$ yeterli olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonucu Herreros vd (2005) verileriyle ampicillin, kanamycin, vancomycin açısından uyumludur.

Çalışmada *P.acidilactici* polymixin B, bacitracin, kanamycin, streptomycin, gentamicin, vancomycine dirençli, ampicillin, tetracycline, penicillin G'ye yarı-hassas, erythromycine, chloramphenicol hassastır. Rojo-Bezares vd (2006) tarafından *P.acidilactici*'nin 1 izolatı için, penicillin 10'un inhibisyonunda ≤ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, %50'si için ≤ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, erythromycin 15'in inhibisyonunda 64 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, %50'si için ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, chloramphenicol 30'un inhibisyonunda ≤ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, %50'si için de 4 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, vancomycin 30'un, inhibisyonunda ≥ 128 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, %50'si için de ≥ 128 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, tetracycline 30'un, inhibisyonunda ≤ 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, %50'sinin inhibisyonunda 8 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, streptomycin 10'un inhibisyonunda 512 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, %50'sinin inhibisyonunda 128 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin, gentamicin 10'un inhibisyonunda 64 $\mu\text{g/ml}$ 'sinin,

%50'sinin inhibisyonunda 64 µg/ml'sinin, kanamycin 30'un inhibisyonunda 256 µg/ml'sinin, %50'sinin 128 µg/ml'sinin yeterli olduğu bildirilmiştir.

Küme üyelerinden Tanımsız O1 polymixin B, ampicillin, bacitracin, kanamycin, streptomycin, tetracycline, erythromycin, gentamicin, vancomycin, penicillin G'ye dirençli, chloramphenicol hassas, Tanımsız O15 polymixin B, ampicillin, bacitracin, streptomycin, gentamicin, vancomycin, penicillin G'ye dirençli, kanamycine yarı-hassas, tetracycline, erythromycin, chloramphenicol ve streptomycine hassastır. Tanımsız O18 polymixin B ve penicillin G'ye yarı-hassas, bacitracin, kanamycin, gentamicin ve vancomycine dirençli, ampicillin, streptomycin, tetracycline, erythromycin ve chloramphenicol hassastır.

Gevers ve diğerleri Fermente kuru sucuk için yaptıkları çalışmada *Lactobacillus* türlerinin tetracycline (%30), gentamicin (%79), penicillin G (%64), kanamycine (%79) dirençli olduğunu tespit etmişlerdir (Mathur ve Singh 2005).

Lactobacilli'ler, *Pediococci*'lar ve *Leuconostoc* spp. vancomycine karşı yüksek doğal direnç göstermektedir (Hamilton-Miller ve Slah 1998, Simpson vd 1988). Danielsen ve Wind'e göre bazı *Lactobacilli*'ler bacitracin, cefoxitin, ciprofloxacin, fusidic acid, kanamycin, gentamicin, metronidazole, nitrofurantoin, norfloxacin, streptomycin, sulphadiazine, teicoplanin, trimethoprim/sulphamethoxazole ve vancomycine yüksek doğal direnç göstermektedir (Mathur ve Singh 2005).

Temmerman vd (2002) çalışmalarında 55 Avrupa probiyotik ürününden elde edilmiş 187 izolatın antibiyotik direnci disk difüzyon metodunu kullanarak belirlemişlerdir. Bu izolatlar Kanamycine karşı %79, vancomycine karşı %65, tetracycline karşı %26, penicillin G'ye karşı %23, erythromycine karşı %16 ve chloramphenicol karşı %11 dirençli bulunmuşlardır (Mathur ve Singh 2005).

Charteris vd (1998) çalışmalarında *Bifidobacterium* dirençlilik spectrumunu incelemişler ve *Bifidobacteria*'nın (probiyotikler) ampicillin, penicillin G, cephalosporin, bacitracin, chloramphenicol, erythromycin, clindamycin, nitrofurantoin ve tetracycline karşı hassasiyetini kanıtlamışlardır (Mathur ve Singh 2005).

3.2.16. Ağır metallere dayanıklılık

Tüm izolatlar $\text{CdN}_2\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, AgNO_3 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 'ya karşı dayanıksız ve $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ gibi metallere daha dayanıklıdır.

Tablo 3.67 Küme 1 izolatlarının ağır metallere dayanıklılık testi sonuçları

İzolot Kodu	İzolotlar	Konsantrasyon (ppm)	$\text{Cr}_2\text{N}_3\text{O}_9 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	$\text{N}_2\text{NiO}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	$\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$\text{CoN}_2\text{O}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	$\text{CdN}_2\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	AgNO_3	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	NaNO_2
			LO160	<i>P.pentosaceus</i> O24	500	3.0*	4.0	3.0	5.5	-	23.0	-	10.5	10.0	-	-
300	1.5	-			1.0	2.5	-	21.0	-	8.0	6.0	-	-	1.0	-	-
150	-	-			-	1.0	-	17.5	-	6.0	3.0	-	-	-	-	-
50	-	-			-	-	-	16.0	-	2.5	-	-	-	-	-	-
25	-	-			-	-	-	13.5	-	1.5	-	-	-	-	-	-
10	-	-			-	-	-	7.0	-	1.5	-	-	-	-	-	-
LO161	<i>P.pentosaceus</i> O25	500	3.5	4.0	3.0	5.5	-	22.0	-	11.0	10.0	-	-	3.0	4.0	2.5
		300	0.5	3.0	2.0	3.5	-	20.5	-	9.5	5.5	-	-	2.0	-	1.0
		150	-	1.0	-	2.0	-	19.0	-	4.5	3.0	-	-	-	-	0.4
		50	-	-	-	-	-	16.0	-	2.0	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	13.5	-	1.5	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	12.5	-	1.0	-	-	-	-	-	-
LO162	<i>P.pentosaceus</i> O27	500	4.0	-	3.0	4.5	-	19.0	-	12.0	5.5	-	12.0	3.0	8.0	2.0
		300	2.0	-	1.0	2.5	-	16.5	-	8.5	5.5	-	10.0	1.8	6.0	0.6
		150	-	-	-	0.5	-	15.0	-	6.0	2.5	-	5.0	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	12.0	-	2.0	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	10.0	-	1.5	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	8.0	-	1.0	-	-	-	-	-	-
LO163	<i>P.pentosaceus</i> O29	500	4.0	-	2.5	4.5	-	18.5	-	11.0	12.0	-	-	3.8	8.0	1.0
		300	1.5	-	1.0	2.0	-	16.5	-	8.5	7.5	-	-	1.5	6.0	-
		150	0.5	-	-	1.0	-	14.0	-	6.5	5.5	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	12.5	-	2.0	4.0	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	10.5	-	1.5	2.0	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	8.0	-	1.0	-	-	-	-	-	-
LO164	<i>P.pentosaceus</i> O31	500	3.5	-	3.0	4.0	-	21.5	-	13.0	13.0	-	-	2.0	-	1.0
		300	1.0	-	1.0	2.0	-	19.5	-	10.0	8.5	-	-	1.0	-	-
		150	0.5	-	-	-	-	17.0	-	6.0	4.5	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	14.5	-	2.5	2.0	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	12.5	-	1.5	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	10.0	-	0.5	-	-	-	-	-	-
LO165	<i>P.pentosaceus</i> O57	500	4.5	4.0	2.5	5.0	8.0	27.5	-	12.0	12.0	-	-	3.0	2.0	1.8
		300	1.5	4.0	0.5	3.0	4.0	24.5	-	10.5	9.5	-	-	0.8	1.0	-
		150	0.5	0.5	-	1.0	1.0	22.5	-	7.0	5.0	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	19.0	-	4.0	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	16.5	-	3.5	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	12.5	-	2.5	-	-	-	-	-	-
LO125	Tanımsız O28	500	5.0	-	2.5	4.0	-	19.5	-	11.5	5.5	-	-	3.8	-	1.0
		300	2.0	-	1.0	2.5	-	18.5	-	8.5	6.5	-	-	0.8	-	-
		150	0.5	-	-	-	-	16.5	-	7.0	1.5	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	14.0	-	3.0	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	12.0	-	2.0	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	8.0	-	1.5	-	-	-	-	-	-

*: çap (mm)

Küme 1: Küme 1 izolatlarının ağır metallere dayanıklılık sonuçları Tablo 3.67'de verilmiştir. Küme 1 izolatları $\text{CdN}_2\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ve AgNO_3 ağır metallerinin tüm

konsantrasyonlarında diğer ağır metallere göre çok daha büyük zonlar oluşmuştur. Bu nedenle izolatlar bu ağır metallere diğerlerinden daha büyük hassasiyet göstermektedirler. $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ve $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ağır metallerinin genellikle ilk 3 konsantrasyonunda zon görülmüştür. Bu izolatların $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ağır metaline tamamı, $MnSO_4 \cdot 2H_2O$ ağır metaline büyük kısmı dayanıklıdır. Diğer metallere dayanıklılık ise değişkendir.

Tablo 3.68 Küme 2 izolatlarının ağır metallere dayanıklılık testi sonuçları

İzolot Kodu	İzolotlar	Konsantrasyon (ppm)	$CrN_3O_9 \cdot 9H_2O$	$N_2NiO_6 \cdot 6H_2O$	$Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	$CoN_2O_6 \cdot 6H_2O$	$CdN_2O_6 \cdot 4H_2O$	$Pb(NO_3)_2$	$AgNO_3$	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	$MnSO_4 \cdot 2H_2O$	$Fe_2(SO_4)_3 \cdot H_2O$	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	$NaNNO_2$
LO140	<i>L.plantarum</i> O12	500	5.0*	5.0	3.5	5.0	3.0	24.0	-	13.0	11.0	-	-	2.0	-	2.5
		300	2.0	3.0	1.0	3.0	3.0	22.5	-	9.5	7.5	-	-	1.0	-	1.0
		150	1.0	-	-	1.0	1.0	20.5	-	5.0	4.5	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	17.5	-	3.5	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	15.0	-	3.0	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	12.0	-	2.0	-	-	-	-	-	-
LO141	<i>L.plantarum</i> O13	500	2.5	5.0	3.5	4.5	2.3	24.0	-	13.0	11.0	-	-	2.5	-	3.0
		300	1.5	3.0	1.0	3.0	2.0	22.5	-	9.5	8.5	-	-	1.5	-	1.0
		150	-	1.0	-	-	1.0	20.5	-	5.0	5.5	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	17.5	-	3.5	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	15.0	-	3.0	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	12.0	-	2.0	-	-	-	-	-	-
LO142	<i>L.plantarum</i> O14	500	4.5	3.0	3.0	5.5	-	27.0	1.0	13.0	10.0	-	-	5.0	1.0	2.0
		300	2.0	-	1.0	3.0	-	24.5	-	10.5	6.5	-	-	2.5	-	-
		150	0.5	-	-	-	-	22.5	-	9.5	4.0	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	20.0	-	4.5	1.5	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	18.0	-	3.5	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	15.5	-	3.0	-	-	-	-	-	-
LO143	<i>L.plantarum</i> O19	500	3.5	4.0	3.0	4.0	4.0	22.0	-	12.0	9.0	-	-	3.5	0.5	1.0
		300	0.5	-	-	2.0	3.0	20.0	-	10.0	6.0	-	-	2.0	-	-
		150	-	-	-	1.0	-	17.0	-	6.0	1.5	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	15.0	-	3.0	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	12.5	-	2.0	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	10.0	-	-	-	-	-	-	-	-
LO144	<i>L.plantarum</i> O20	500	3.5	5.0	3.0	4.0	4.0	22.0	-	11.0	7.0	-	-	3.5	-	1.0
		300	1.0	3.0	1.0	2.0	2.0	20.0	-	8.5	4.5	-	-	2.0	-	-
		150	-	-	-	-	-	18.0	-	6.0	1.0	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	14.5	-	3.0	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	13.0	-	2.0	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	10.0	-	1.5	-	-	-	-	-	-
LO145	<i>L.plantarum</i> O21	500	4.0	3.0	3.5	5.0	5.0	24.0	-	11.5	8.0	-	-	4.0	2.0	2.0
		300	2.0	3.0	1.5	2.5	4.0	21.0	-	9.5	6.0	-	-	2.5	-	0.5
		150	0.5	1.0	-	-	2.0	18.5	-	6.0	2.5	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	16.0	-	3.0	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	14.5	-	2.5	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	11.0	-	2.0	-	-	-	-	-	-

*: çap (mm)

Devam

Tablo 3.68 Devam

İzolat Kodu	İzolatlar	Konsantrasyon (ppm)	CrN ₃ O ₉ .9H ₂ O	N ₂ NiO ₆ .6H ₂ O	Al(NO ₃) ₃ .9H ₂ O	ZnSO ₄ .7H ₂ O	CoN ₂ O ₆ .6H ₂ O	CdN ₂ O ₆ .4H ₂ O	Pb(NO ₃) ₂	AgNO ₃	CuSO ₄ .5H ₂ O	MgSO ₄ .7H ₂ O	MnSO ₄ .2H ₂ O	Fe ₂ (SO ₄) ₃ .H ₂ O	FeSO ₄ .7H ₂ O	NaNO ₂
LO147	<i>L.plantarum</i> O23	500	4.0*	-	2.5	4.0	-	22.0	-	12.5	11.0	-	-	5.0	-	-
		300	1.0	-	0.4	2.0	-	20.5	-	9.0	5.0	-	-	2.5	-	-
		150	-	-	-	1.0	-	18.0	-	5.5	3.0	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	14.5	-	1.5	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	13.0	-	1.5	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	11.0	-	1.0	-	-	-	-	-	-
LO148	<i>L.plantarum</i> O26	500	3.5	6.0	3.0	5.0	-	19.0	-	12.0	7.0	-	-	4.0	-	1.0
		300	1.5	5.0	1.0	3.0	-	17.5	-	9.0	4.5	-	-	1.5	-	0.5
		150	0.5	-	-	0.5	-	16.5	-	7.5	2.5	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	13.0	-	2.0	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	11.5	-	1.5	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	9.0	-	1.5	-	-	-	-	-	-
LO149	<i>L.plantarum</i> O30	500	3.5	-	2.5	4.0	-	18.5	-	11.0	13.0	-	-	2.5	-	1.5
		300	1.5	-	0.5	2.0	-	16.5	-	9.0	7.0	-	-	0.5	-	-
		150	-	-	-	0.5	-	14.5	-	7.0	4.0	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	12.0	-	2.0	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	9.5	-	1.0	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	7.5	-	0.5	-	-	-	-	-	-
LO150	<i>L.plantarum</i> O33	500	4.5	-	2.5	3.0	-	20.5	-	12.0	7.5	-	-	3.0	-	1.5
		300	2.5	-	1.5	2.0	-	17.5	-	9.5	5.0	-	-	1.0	-	-
		150	0.5	-	-	-	-	15.0	-	5.5	2.0	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	12.0	-	2.5	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	9.5	-	1.5	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	8.0	-	1.0	-	-	-	-	-	-
LO151	<i>L.plantarum</i> O41	500	3.5	-	2.5	3.0	-	20.0	-	11.5	9.5	-	-	2.5	-	1.0
		300	1.5	-	1.5	2.5	-	18.0	-	9.0	5.5	-	-	1.5	-	-
		150	0.5	-	-	0.5	-	16.0	-	5.0	3.0	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	14.0	-	2.0	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	10.0	-	1.2	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	8.0	-	0.9	-	-	-	-	-	-
LO153	<i>L.plantarum</i> O58	500	4.5	4.5	2.5	5.5	6.0	25.5	-	13.0	10.0	-	-	3.0	-	2.0
		300	2.0	2.5	-	3.5	4.0	24.5	-	10.0	7.5	-	-	2.0	-	-
		150	-	-	-	1.5	0.5	22.5	-	6.5	2.5	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	18.5	-	4.0	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	15.0	-	3.0	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	13.5	-	2.5	-	-	-	-	-	-
LO155	<i>L.plantarum</i> 1	500	6.0	-	1.3	4.5	3.5	22.0	-	5.0	6.0	-	-	2.3	-	4.0
		300	2.5	-	0.2	3.0	0.5	20.0	-	4.0	4.5	-	-	-	-	-
		150	0.5	-	-	0.5	-	18.0	2.5	1.5	-	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	15.0	-	1.0	0.2	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	14.0	-	0.5	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	12.0	-	-	-	-	-	-	-	-
LO156	<i>L.plantarum</i> O22	500	3.5	2.0	1.5	4.5	-	22.5	-	11.5	8.5	-	-	3.5	3.0	0.8
		300	1.0	1.5	0.5	2.0	-	22.0	-	8.5	4.0	-	-	-	-	-
		150	-	-	-	0.5	-	19.5	-	6.0	3.0	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	16.0	-	3.3	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	16.5	-	5.0	2.0	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	12.3	-	1.3	-	-	-	-	-	-

*: çap (mm)

Devam

Tablo 3.68 Devam

İzolot Kodu	İzolotlar	Konsantrasyon	CrN ₃ O ₉ .9H ₂ O	N ₂ NiO ₆ .6H ₂ O	Al(NO ₃) ₃ .9H ₂ O	ZnSO ₄ .7H ₂ O	CoN ₂ O ₆ .6H ₂ O	CdN ₂ O ₆ .4H ₂ O	Pb(NO ₃) ₂	AgNO ₃	CuSO ₄ .5H ₂ O	MgSO ₄ .7H ₂ O	MnSO ₄ .2H ₂ O	Fe ₂ (SO ₄) ₃ .H ₂ O	FeSO ₄ .7H ₂ O	NaNO ₂	
		(ppm)															
LO157	<i>L.plantarum</i> O44b	500	4.5*	5.0	2.3	3.5	4.5	24.0	-	12.0	12.0	-	-	3.5	1.0	2.5	
		300	2.3	2.5	1.0	2.5	1.3	22.3	-	9.3	8.5	-	-	-	1.7	-	-
		150	0.5	1.0	-	1.3	-	20.1	-	7.3	3.3	-	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	16.5	-	4.0	-	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	15.0	-	2.8	-	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	11.3	-	2.0	-	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	11.3	-	2.0	-	-	-	-	-	-	-

*: çap (mm)

Küme 2: Küme 2 izolotları CdN₂O₆.4H₂O, AgNO₃ ağır metallerine karşı test edilmiş ve küme 1 izolotlarında olduğu gibi bu ağır metallere diğer ağır metallere göre çok büyük zonlar oluşmuştur (Tablo 3.68). Bu nedenle bu ağır metallere karşı izolotlar oldukça hassas, Pb(NO₃)₂, MgSO₄.7H₂O, MnSO₄.2H₂O ağır metallerine tamamı dayanıklı, diğer ağır metallere karşı da değişken dayanıklılık göstermişlerdir.

Tablo 3.69 Küme 3 izolotlarının ağır metallere dayanıklılık testi sonuçları

İzolot Kodu	İzolot No	Konsantrasyon	CrN ₃ O ₉ .9H ₂ O	N ₂ NiO ₆ .6H ₂ O	Al(NO ₃) ₃ .9H ₂ O	ZnSO ₄ .7H ₂ O	CoN ₂ O ₆ .6H ₂ O	CdN ₂ O ₆ .4H ₂ O	Pb(NO ₃) ₂	AgNO ₃	CuSO ₄ .5H ₂ O	MgSO ₄ .7H ₂ O	MnSO ₄ .2H ₂ O	Fe ₂ (SO ₄) ₃ .H ₂ O	FeSO ₄ .7H ₂ O	NaNO ₂
		(ppm)														
LO180	<i>L.helveticus</i> O16	500	5.0*	5.0	2.5	7.5	6.5	31.5	-	12.0	15.0	-	-	7.0	4.0	12.0
		300	2.0	2.5	-	4.5	4.0	30.0	-	8.5	11.0	-	-	5.0	2.5	8.0
		150	1.0	1.0	-	4.0	3.0	28.5	-	5.5	8.5	-	-	2.0	-	4.0
		50	-	-	-	3.5	-	27.0	-	3.0	2.0	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	3.0	-	25.5	-	1.5	1.0	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	20.0	-	1.0	-	-	-	-	-	-
LO121	Tanımsız O10	500	6.0	6.5	5.0	8.0	9.0	36.0	-	11.5	18.0	-	-	6.0	3.0	12.0
		300	2.0	4.0	-	4.0	5.5	33.5	-	8.0	15.5	-	-	8.0	1.0	9.0
		150	0.5	-	-	3.0	4.0	31.0	-	5.0	11.5	-	-	-	-	3.0
		50	-	-	-	-	-	27.5	-	4.0	5.0	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	18.0	-	2.0	3.0	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	13.0	-	1.0	-	-	-	-	-	-
LO123	Tanımsız O17	500	5.5	5.5	4.0	7.0	9.0	33.0	-	12.5	14.0	-	-	4.0	4.0	6.5
		300	3.0	2.5	2.0	5.5	6.0	31.0	-	9.0	11.5	-	-	4.0	2.5	4.5
		150	2.0	2.0	-	3.5	3.0	29.5	-	6.0	8.5	-	-	1.0	-	6.0
		50	-	-	-	3.0	-	27.0	-	4.0	2.0	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	2.0	-	25.5	-	2.0	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	24.0	-	1.0	-	-	-	-	-	-

*: çap (mm)

Küme 3: Küme 3 izolatları $Pb(NO_3)_2 \cdot MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $MnSO_4 \cdot 2H_2O$ ağır metallerine tamamen dayanıklıyken, diğer kümelerde olduğu gibi $CdN_2O_6 \cdot 4H_2O$ ve $AgNO_3$ ağır metallerinin uygulandığı petrielerde oluşan büyük zonlar sebebiyle bu ağır metallere büyük hassasiyet göstermişlerdir (Tablo 3.69). Diğerlerine dayanıklılıkları değişkendir.

Tablo 3.70 Tek üyeli kümelerin ağır metallere dayanıklılık testi sonuçları

izolat Kodu	izolat No	Konsantrasyon (ppm)	$CrN_3O_9 \cdot 9H_2O$	$N_2NiO_6 \cdot 6H_2O$	$Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	$CoN_2O_6 \cdot 6H_2O$	$CdN_2O_6 \cdot 4H_2O$	$Pb(NO_3)_2$	$AgNO_3$	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	$MnSO_4 \cdot 2H_2O$	$Fe_2(SO_4)_3 \cdot H_2O$	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	$NaNO_2$
LO100	<i>L.lactis ssp. lactis</i> O3	500	8.0*	22.0	4.0	6.5	18.0	29.0	-	13.0	15.0	-	11.0	5.0	4.0	1.0
		300	4.5	18.5	1.0	4.0	11.0	24.0	-	9.0	7.0	-	6.0	3.5	2.5	0.5
		150	3.5	12.0	-	2.0	5.5	20.0	-	6.0	3.5	-	2.5	0.5	1.8	-
		50	1.0	6.0	-	-	-	18.0	-	4.5	2.0	-	-	-	-	-
		25	-	3.0	-	-	-	16.0	-	5.0	0.5	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	11.0	-	2.5	-	-	-	-	-	-
LO102	<i>L.lactis</i> 7	500	6.0	-	3.0	3.0	4.0	18.0	-	10.3	5.0	-	-	2.0	-	1.3
		300	3.0	-	1.0	2.0	0.3	16.0	-	9.0	3.0	-	-	0.6	-	0.5
		150	1.0	-	-	1.0	-	15.0	-	6.0	0.5	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	12.5	-	3.0	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	10.0	-	2.0	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	8.0	-	1.0	-	-	-	-	-	-
LO110	<i>L.pentosus</i> O8a	500	4.0	4.0	3.5	3.5	-	21.0	-	12.5	4.0	-	-	2.0	-	1.5
		300	1.5	2.0	1.0	2.5	-	18.5	-	9.5	2.0	-	-	0.8	-	0.5
		150	-	-	-	-	-	17.0	-	6.0	-	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	14.5	-	4.5	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	12.5	-	3.0	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	9.5	-	1.0	-	-	-	-	-	-
LO130	<i>L.brevis</i> O11	500	6.0	-	3.5	9.5	3.5	30.0	-	12.5	10.5	-	-	2.3	0.8	1.6
		300	1.5	-	1.0	5.0	-	28.0	-	9.5	6.5	-	-	1.3	-	1.1
		150	-	-	-	3.5	-	27.0	-	5.0	1.0	-	-	0.3	-	-
		50	-	-	-	-	-	23.5	-	1.5	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	22.5	-	1.0	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	18.0	-	0.2	-	-	-	-	-	-
LB131	<i>L.brevis</i> 2	500	4.5	-	2.5	6.5	-	27.5	-	5.5	5.0	-	0.5	1.5	-	1.6
		300	0.5	-	0.2	4.0	-	25.5	-	5.0	1.5	-	-	-	-	0.9
		150	-	-	-	0.5	-	24.0	-	4.0	0.2	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	20.0	-	2.0	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	18.5	-	1.5	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	16.0	-	1.5	-	-	-	-	-	-
PP167	<i>P.pentosaceus</i> 10	500	6.0	9.0	2.3	-	9.0	20.3	-	10.3	10.0	-	-	1.8	0.45	0.5
		300	2.0	7.0	-	-	7.0	18.0	-	8.3	7.0	-	-	0.5	-	-
		150	1.3	2.3	-	-	5.0	17.0	-	7.0	4.0	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	12.0	-	2.3	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	7.0	-	1.0	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	4.0	-	-	-	-	-	-	-	-

*: çap (mm)

Devam

Tablo 3.70 Devam

izolat Kodu	izolat No	Konsantrasyon (ppm)	CrN ₃ O ₆ .9H ₂ O	N ₂ NiO ₆ .6H ₂ O	Al(NO ₃) ₃ .9H ₂ O	ZnSO ₄ .7H ₂ O	CoN ₂ O ₆ .6H ₂ O	CdN ₂ O ₆ .4H ₂ O	Pb(NO ₃) ₂	AgNO ₃	CuSO ₄ .5H ₂ O	MgSO ₄ .7H ₂ O	MnSO ₄ .2H ₂ O	Fe ₂ (SO ₄) ₃ .H ₂ O	FeSO ₄ .7H ₂ O	NaNO ₂
LO170	<i>L.curvatus</i> O32	500	3.5*	6.0	2.0	4.0	-	25.0	-	13.0	12.5	-	-	1.8	-	-
		300	1.0	4.0	1.0	-	-	21.50	-	9.5	8.5	-	-	1.0	-	-
		150	-	-	-	-	-	19.0	-	5.0	4.0	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	17.0	-	2.5	4.0	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	15.0	-	2.0	2.0	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	13.0	-	1.0	-	-	-	-	-	-
LC171	<i>L.curvatus</i> 3	500	4.5	10.0	3.0	-	8.5	24.5	-	4.5	15.5	-	-	2.1	-	-
		300	1.5	8.5	0.5	-	5.0	23.5	-	3.0	13.0	-	-	0.4	-	-
		150	-	3.5	-	-	3.0	21.5	-	1.0	7.0	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	19.5	-	1.0	0.5	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	16.0	-	-	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO190	<i>L.paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> O54	500	4.0	7.0	2.5	3.5	8.0	23.5	-	14.0	10.0	-	-	1.5	1.5	0.6
		300	2.5	5.0	1.0	1.0	4.5	22.5	-	10.0	8.0	-	-	0.5	0.5	-
		150	1.0	2.0	-	-	1.0	19.0	-	2.5	6.0	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	16.5	-	2.0	3.0	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	13.5	-	2.0	3.0	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	10.0	-	1.4	-	-	-	-	-	-
LR192	<i>L.paracasei</i> 5	500	2.0	8.0	1.3	2.0	9.5	18.5	-	12.0	5.0	-	-	2.0	-	-
		300	-	2.0	-	0.5	3.3	16.3	-	9.0	3.0	-	-	0.3	-	-
		150	-	-	-	-	0.5	15.0	-	6.0	-	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	14.0	-	3.3	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	12.3	-	2.3	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	10.5	-	1.5	-	-	-	-	-	-
LS201	<i>L.salivarius</i> 4	500	5.0	12.0	3.0	7.3	17.5	39.5	-	11.5	13.3	-	-	2.2	0.7	1.4
		300	1.0	8.0	1.0	4.3	4.3	36.0	-	9.3	10.3	-	-	0.9	0.5	0.5
		150	-	3.3	-	3.0	3.0	33.5	-	6.0	4.0	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	1.0	1.0	32.0	-	4.0	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	30.0	-	3.0	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	27.3	-	2.0	-	-	-	-	-	-
LA210	<i>L.acidophilus</i> 6	500	4.0	-	-	-	-	22.0	-	3.0	-	-	-	2.0	-	-
		300	3.0	-	-	-	-	20.0	-	3.0	-	-	-	0.3	-	-
		150	-	-	-	-	-	14.0	-	2.0	-	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	3.0	-	1.0	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM220	<i>L.mesenteroides</i> 9	500	6.0	-	4.0	4.0	4.5	17.5	-	11.0	7.0	-	-	2.1	-	1.5
		300	3.0	-	1.0	2.0	2.0	16.0	-	9.0	3.5	-	-	0.9	-	0.6
		150	0.2	-	-	0.5	-	14.5	-	5.5	1.0	-	-	-	-	-
		50	-	-	-	-	-	13.0	-	2.0	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	11.5	-	1.0	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PA230	<i>P.acidilactici</i> 11	500	6.0	-	3.5	9.5	3.5	30.0	-	13.0	10.5	-	-	2.3	0.8	1.6
		300	1.5	-	1.0	5.0	-	28.0	-	9.5	6.5	-	-	1.3	-	1.1
		150	-	-	-	3.5	-	27.0	-	5.0	2.0	-	-	0.3	-	-
		50	-	-	-	-	-	23.5	-	1.5	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	22.5	-	1.0	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	18.5	-	0.2	-	-	-	-	-	-

*: çap (mm)

Devam

Tablo 3.70 Devam

izolat Kodu	izolat No	Konsantrasyon (ppm)	CrN ₃ O ₉ .9H ₂ O	N ₂ NiO ₆ .6H ₂ O	Al(NO ₃) ₃ .9H ₂ O	ZnSO ₄ .7H ₂ O	CoN ₂ O ₆ .6H ₂ O	CdN ₂ O ₆ .4H ₂ O	Pb(NO ₃) ₂	AgNO ₃	CuSO ₄ .5H ₂ O	MgSO ₄ .7H ₂ O	MnSO ₄ .2H ₂ O	Fe ₂ (SO ₄) ₃ .H ₂ O	FeSO ₄ .7H ₂ O	NaNO ₂
LO120	Tanımsız O1	500	3.0*	-	-	-	-	-	2.0	4.0	12.0	-	10.0	2.5	2.0	1.0
		300	-	-	-	-	-	-	1.0	3.0	8.0	-	6.0	1.5	1.5	0.5
		150	-	-	-	-	-	-	-	1.0	6.0	-	4.0	0.5	0.5	-
		50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO122	Tanımsız O15	500	2.5	3.0	2.0	4.5	5.0	27.5	-	10.5	10.0	-	-	5.0	2.3	-
		300	0.5	-	1.5	2.0	2.0	25.5	-	8.5	8.0	-	-	3.0	1.0	-
		150	-	-	-	-	-	23.5	-	6.0	6.0	-	-	2.0	-	-
		50	-	-	-	-	-	21.5	-	3.0	-	-	-	-	-	-
		25	-	-	-	-	-	18.0	-	3.0	-	-	-	-	-	-
		10	-	-	-	-	-	16.0	-	2.0	-	-	-	-	-	-
LO124	Tanımsız O18	500	8.0	7.0	1.5	4.0	8.5	21.5	-	10.5	8.5	-	-	3.0	2.0	-
		300	6.0	4.0	-	-	5.5	20.0	-	9.5	6.5	-	-	1.5	2.0	-
		150	4.5	2.0	-	-	5.0	17.0	-	5.5	3.0	-	-	-	-	-
		50	3.0	-	-	-	-	13.5	-	1.5	-	-	-	-	-	-
		25	2.0	-	-	-	-	11.0	-	0.5	-	-	-	-	-	-
		10	1.0	-	-	-	-	7.5	-	-	-	-	-	-	-	-

*: çap (mm)

Tek Üyeli Kümeler: Tek üyeli kümelerin de Pb(NO₃)₂ ve MnSO₄.2H₂O ağır metallerine çok büyük kısmı, MgSO₄.7H₂O ağır metaline ise tamamı dayanıklıdır. Bu kümeler CdN₂O₆.4H₂O ve AgNO₃ ağır metallerine hassas, CuSO₄.5H₂O ağır metaline ise büyük bir kısmı hassastır. Diğer ağır metallere karşı ise 1., 2. ve 3. kümelerde olduğu gibi dayanıklılık oranları değişkendir.

4. SONUÇ

Yapılan nümerik taksonomi çalışması sonucunda test hatası %1.11 bulunmuştur. Sneath ve Johnson'a (1972) göre %10 test hatası normal olarak kabul edilmektedir. Çalışmada bulunan test hatasının, bu kabul ile karşılaştırıldığında çok düşük olduğu görülmektedir. Bu sonuç çalışmanın güvenilirliğinin yüksek olduğunu göstermektedir.

Nümerik taksonomi çalışmalarında Sneath ve Sokal (1973) ve Sackin ve Jones (1993) tarafından belirtildiği üzere hiyerarşik kümelemede verilerin uygunluğunu saptamak için benzerlik katsayısı kullanılmaktadır. %60 ile %95 arasındaki benzerlik değerleri nümerik sınıflandırmalarda taksonomik yapının iyi sonuçlandığını göstermektedir (Doğramacı 2005). Bu çalışmada kümeleme, elde edilen kümelerin suşlar arasındaki ilişkisini daha iyi yansıttığı ifade edilen S_{SM} -UPGMA analizine göre yapılmıştır. Çalışmada 32 test izolatu ve 10 tip izolatu S_{SM} -UPGMA analizine göre %89.4 benzerlik seviyesinde tanımlanmış ve 7 üyeli 1. küme, 15 üyeli 2. küme, 3 üyeli 3. küme olmak üzere 3 adet çok üyeli ve 17 adet de tek üyeli kümeye ayrılmıştır. Bu sonuca göre toplam 42 izolatu 25 adedi (% 59.52) çok üyeli, 17 adedi de (% 40.48) tek üyeli kümelere gruplandırılmıştır. Son veri tabanı 42 adet izolat ve 122 birim karakterini içermektedir.

S_{SM} -UPGMA analiz sonucuna göre tanımlanan 3 adet çoklu kümenin birbiri arasında benzerlik oranı %80 olarak belirlenmiştir. Bu oran; çalışmada taksonomik yapının kabul edilebilirliğinin yüksek olduğunu göstermektedir. Çalışmada tanımlanan 3 küme kendi içindeki benzerlik oranına göre birbirleri ile karşılaştırıldığında, 3. kümenin %90.7 benzerlik oranıyla, 1. ve 2. kümeye göre (%89.4 benzerlik) daha yüksek benzerliğe sahip olduğu ortaya konulmuştur.

Kümeleler tip örnekleri açısından karşılaştırıldığında, 1. ve 3. kümeleler tip izolatlarından ayrı düzlemlerde kümelelenirken, 1. küme LL102 kodlu izolat olan *L.lactis* DSM20481 tip izolatıyla %85 oranında benzerlik göstererek kümelelenmiştir.

Nümerik taksonomi sonucu 1. ve 2. kümenin %85 oranında, 1. ve 3. kümenin %80 oranında, 2. ve 3. kümenin %78 oranında benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Buradan elde edilen sonuca göre 1. ve 2. kümenin, 1. ve 3. küme ile 2. ve 3. küme arasındaki benzerlikten; 1. ve 3. küme arasındaki benzerliğin de 2. ve 3. küme arasındaki benzerlikten daha yüksek olduğu sonucu elde edilmiştir. Ayrıca 3 kümenin benzerlik oranı %80 olduğundan 1. ve 2. küme 3. küme ile karşılaştırıldığında 1. ve 2. kümenin birbirine daha yakın, 3. kümenin ise bu iki kümeye daha uzak olduğu ve bu benzerlik oranını 3. kümenin düşürdüğü ortaya konulmuştur.

Testler kendi içinde belirleyicilik açısından değerlendirildiğinde; karbonhidrat fermantasyon testleri için 49 karbonhidrat değerlendirmeye alınmış ve bu karbonhidratlardan 15 tanesi tamamen negatif, 1 tanesi tamamen pozitif olduğundan değerlendirme matriksinden çıkarılmıştır. Yani 49 karbonhidrat testinden 33 tanesi nümerik taksonomi için belirleyici olmuştur (%67.35).

Ağır metal dayanıklılık testleri, 14 metal ve her bir metal için 6 konsantrasyon olmak üzere toplam 84 karakter olarak denenmiştir. Bu karakterlerden 32 tanesinde tüm izolatlar negatif, 4 tanesinde tüm izolatlar pozitif sonuç verdiği için ağır metal konsantrasyonlarının 36'sı değerlendirme matriksinden çıkarılmıştır. Bu nedenle ağır metal dayanıklılık testlerinin belirleyiciliği %57.14 olmuştur.

Metal testleri kendi içinde değerlendirildiğinde; $CdN_2O_6.4H_2O$ ve $AgNO_3$ için tüm izolatların pozitif ya da negatif olduğu bir test sonucu bulunmadığından $CdN_2O_6.4H_2O$ ve $AgNO_3$ sonuçları %100 belirleyicidir. $CrN_3O_9.9H_2O$ 'ün 6 konsantrasyonun 1 adedinde (10 ppm) tüm izolatlar negatif özellik gösterdiği için belirleyicilik %83.3'tür. $Al(NO_3)_3.9H_2O$ için tüm izolatlar 150 ppm, 50 ppm, 25 ve 10 ppm olmak üzere 4 konsantrasyonda negatif özellik göstermiştir, bu sonuçlar değerlendirme matriksinden çıkarılmış ve 6 konsantrasyondan 2'si belirleyici (%33.33) olmuştur. $ZnSO_4.7H_2O$ 'nun sadece 10 ppm konsantrasyonda tüm izolatlar negatif özelliindedir ve değerlendirmeye alınmamıştır. Bu nedenle belirleyicilik %83.33'tür. $CoN_2O_6.6H_2O$ ve $Pb(NO_3)_2$ 'de tüm izolatlar 50 ppm, 25 ppm, 10 ppm konsantrasyonlarında tümüyle negatif özellik göstererek değerlendirme matriksinden çıkarılmıştır. Bu durumda belirleyicilik %50.00'dir. $CuSO_4.5H_2O$ 'te tüm izolatlar sadece 10 ppm lik konsantrasyonda negatif özellik göstermişler ve belirleyicilik oranları %83.33 olarak hesaplanmıştır. $MgSO_4.7H_2O$ için tüm izolatlar tüm konsantrasyonlarda negatif özellik göstermişlerdir

ve bu nedenle bütün konsantrasyonlardaki sonuçlar değerlendirme matrisinden çıkarılmıştır. Bundan dolayı bu metalin nümerik taksonomide belirleyicilik özelliği yoktur. $MnSO_4 \cdot 2H_2O$, $Fe_2(SO_4)_3 \cdot H_2O$, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ve $NaNO_2$ 'de tüm izolatlar 50 ppm, 25 ppm ve 10 ppm konsantrasyonda negatif özellik göstermiştir. Bu nedenle $MnSO_4 \cdot 2H_2O$, $Fe_2(SO_4)_3 \cdot H_2O$, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ve $NaNO_2$ 'nin nümerik taksonomide belirleyiciliği %50.00 olarak bulunmuştur.

Antibiyotik duyarlılık testinde, 16 çeşit antibiyotikten sadece 1 tanesinde tüm izolatlar pozitif sonuç vermiştir. Bu nedenle 16 çeşit antibiyotikten sadece bir adedi (RF30) değerlendirme matrisinden çıkarılmıştır. Bu sonuca göre antibiyotik duyarlılık testi %93.75 belirleyicilik göstermiştir.

Biyokimyasal testlerde izolatların tümüyle pozitif yada tümüyle negatif sonuç verdiği herhangi bir test karakterine rastlanmaması nedeni ile biyokimyasal testlerin belirleyiciliği %100 olarak tespit edilmiştir.

Karbonhidrat fermantasyon testleri (API 50CH) ile O1, O10, O15, O17, O18 ve O28 izolatları tanımlanamamıştır. Nümerik taksonomisine bakıldığında bu izolatlardan Tanımsız O28 benzerlikleri yönünden 1. kümenin bir üyesi olarak yer almış, Tanımsız O10 ve Tanımsız O17 ise 3. küme içinde sınıflandırılmışlardır. Diğer tanımsız izolatlar hiçbir kümeye dahil olmamıştır.

L.plantarum tip izolatu 2. kümede diğer *L.plantarum* olarak tanımlanmış test izolatlarıyla kümelenirken; *P.pentosaceus* tip izolatu *P.pentosaceus* olarak tanımlanmış izolatlar ile 1. kümede yer almamıştır. *P.pentosaceus* izolatının 1. küme de yer almamasının nedeni nümerik taksonomide çok fazla karakterin değerlendirmeye alınması nedeniyle tür içi farklılaşmaların analizde ortaya çıkması ve fazla sayıda kullanılan özelliklerin ayırt edicilik sağlaması olarak düşünülmektedir. Diğer tip izolatları ise belirlenen 3 büyük kümede yer almamış ve tek üyeli kümeler olarak sınıflandırılmışlardır.

Araştırmada izolatların starter kültür üretimi ve probiyotik özellik açısından büyük önem taşıyan bazı endüstriyel karakterleri de belirlenmiştir. Bunlardan gıda endüstrisinde farklı gıdaların üretimi, muhafaza süresi ve kalitesinin artırılması için starter veya probiyotik kültür olarak kullanılan laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal aktiviteye sahip olması büyük önem taşımaktadır. Yapılan antimikrobiyal aktivite testi

sonucunda küme 1 izolatları *E.faecium* ve *L.monocytogenes* Li1'e karşı yüksek antimikrobiyal aktivite gösterirken, küme 2 izolatları *A.hydrophila*, *E.faecium* ve *L.monocytogenes* Li1'e karşı yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Tek üyeli kümelerden *L.lactis* ssp.*lactis* O3, *L.curvatus* O32 ve Tanımsız O15, *E.faecium* ve *L.monocytogenes* Li1'e karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktivite nedeniyle starter kültür olma ve probiyotik özellik gösterme açısından ön plana çıkmıştır.

Asidik fermente gıdalarda starter kültür olarak kullanım açısından 1. 2. ve 3. kümenin tüm üyelerinin ve tek üyeli kümelerin büyük kısmının 15°C sıcaklıkta gelişebilmeleri bu kültürlerin kullanımında bir avantaj olarak görülmüştür.

Küme 1 ve küme 2 üyelerinin tamamının ve tek üyeli kümelerin büyük bir kısmının 3.5 pH'da gelişebilmeleri asidik fermente gıda üretiminde starter kültür olarak kullanım açısından bu kültürlerle avantaj sağlarken, küme 3 üyelerinin 3.5 pH'da gelişmemesi asidik fermente gıda üretiminde starter kültür olarak kullanım açısından onları dezavantajlı kılmaktadır.

Asidik fermente gıdaların büyük bir kısmının üretiminde %1-10 NaCl arasında değişen konsantrasyonlarda tuz kullanılmaktadır. Bu sebeple çalışmada %3.0, 4.0, 5.0, 6.5, 8.0, 9.0 oranlarında NaCl kullanılmıştır. 1., 2. ve 3. küme üyelerinin çok büyük bir kısmı ve tek üyeli kümelerin bir kısmı yüksek oranlardaki tuza tolerans göstermiştir. Bu nedenle bu özellikteki izolatların starter kültür olarak kullanılmalrı uygundur.

Sütçülük starter kültür özelliği dikkate alındığında küme 1 üyelerinin tamamı, küme 2 üyelerinin 4'ü, proteolitik aktivite açısından uygun olarak değerlendirilirken, küme 3 üyeleri starter kültürlerde aranılan değerler açısından uyumlu bulunmuştur.

Gıda endüstrisinde asidik fermente gıdaların üretimi, muhafaza süresi ve kalitesini belirleyen en önemli özelliklerden biri olan pH değerleri ve % asitlik değerleri incelendiğinde izolatların pH değerleri 7. gün için 3.30-4.41 pH arasında ve ortalama 3.86 pH, asitlik dereceleri %1.07-2.47 arasında ve ortalama %1.79 olarak bulunmuştur. 1. küme üyelerinin 7. gün ortalama pH değerleri 3.94 pH, % asitlik değeri %1.73 olarak bulunmuştur. Bu küme üyelerinin ulaştıkları son pH değerleri ise % asit üretim miktarları ve hızları starter kültür olarak kullanım açısından yeterli bulunmuştur. 2. küme üyeleri olan *L.plantarum*'lar 1. küme üyeleri olan *P.pentosaceus*'lara göre daha yüksek oranda asit üretmiştir. 3. kümenin pH ve % asit değerleri ve asit üretim hızları

starter kültür olarak kullanımlarında yeterli görülmüştür. Tek üyeli kümelerin 7. gün ulaştıkları ortalama pH ve % asitlik değerleri sırasıyla 3.87 pH ve %1.71'dir. Dolayısıyla starter kültür kullanım açısından uygundur.

Probiyotik özelliklerin belirlenmesi için en önde gelen özelliklerden biri olan hidrofobisite kümeler açısından değerlendirildiğinde 1. küme içinde probiyotik olarak en avantajlı izolat *P.pentosaceus* O57 (%13.93), 2. küme için *L.plantarum* O21 (%50.82), 3. küme için Tanımsız O17 (%6.16) ve tek üyeli kümeler için de *L.salivarius* 4 (%23.99) olmuştur.

%10 alkole dayanıklılık probiyotik özellik açısından yeterli bir kriterdir. 1. ve 3. kümenin tamamı, 2. küme üyelerinden *L.plantarum* O12 dışındaki izolatlar ve tek üyeli kümelerin büyük kısmı %10 alkolde gelişme göstermesi nedeni ile probiyotik kültür için gerekli kritere sahiptir.

Tüm izolatlar $CdN_2O_6.4H_2O$, $AgNO_3$, $CuSO_4.5H_2O$ ağır metallerine karşı dayanıksız ve $Pb(NO_3)_2$, $MgSO_4.7H_2O$, $MnSO_4.2H_2O$ gibi ağır metallere diğerlerine göre daha dayanıklıdır. Bu izolatlar genellikle antibiyotiklerden polymixin B, bacitracin, kanamycin, streptomycin, gentamicin ve vancomycine dirençlidir. Sayılan bu önemli antibiyotiklere karşı var olan direnç probiyotik özellik açısından önem taşımaktadır.

İzolatlardan *L.plantarum*'lar ile *P.pentosaceus*'lar yüksek safra tuzuna dayanıklılık ve 3.5 ile 9.6 pH da gelişme, gastrik suya ve H_2O_2 'ye dayanıklılık, β -Galaktosidaz aktivitesi gösterme açısından probiyotik starter kültür için aranan değerlere sahip bulunmuşlardır. Bu izolatların plazmid DNA sayıları da 1-8 adet arasında değişmektedir.

KAYNAKLAR

- Aktan, N., Kalkan, H. ve Yücel, U. (1999) Turşu Teknolojisi, Ege Üniversitesi *Ege Meslek Yüksekokulu Yayınları*, No:23,148s.
- Albenzio, M., Corbo, M.R., Rehman, S.U., Fox, P.F., De Angelis, M., Corsetti, A., Sevi, A. and Gobetti, M. (2001) Microbiological and Biochemical Characteristics of Canestrato Pugliese Cheese Made from Raw Milk, Pasteurized Milk or By Heating the Curd in Hot Whey. *International Journal of Food Microbiology*, 67: 35-48.
- Ammor, M.S. and 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: 138-146.
- Anderson, D.G. and McKay, L.L. (1983) Simple and Rapid Method for Isolating Large Plasmid DNA from Lactic Streptococci. *Appl. and Environ. Microbiology*, 46: 549-552.
- Andersson, R. (1989) Food Processing, Lactic Acid Bacteria in the Production of Food, SIK- Publication. *Food Laboratory Newsletter*, 14:17-21.
- Anderson, A.S. and Wellington, E.M.H. (2001) The Taxonomy of *Streptomyces* and Related Genera. *Int J. Syst. Evolu. Microbiol.*, 51: 797-814.
- Anonim (2005) Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Ed: A. K. Halkman. *Başak Matbaacılık Ltd.Şti.*, Ankara, 358s.
- Aslım, B. (1994) *L.bulgaricus* ve *S.thermophilus* Bakterilerinin Metabolik ve Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Bazı Fiziksel ve Kimyasal Mutajenlerin Etkisi., Doktora Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 151s.
- Ayad, E.H.E., Verheul, A., De Jong, C., Wouters, J.T.M. and 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: 725-735.
- Badis, A., Guetarni, D., Moussa-Boudjemâ, B., Henni, D.E., Tornadijo, M.E. and Kihal, M. (2004) Identification of Cultivable Lactic Acid Bacteria Isolated from Algerian Raw Goat's Milk and Evaluation of Their Technological Properties. *Food Microbiology*, 21: 343-349.
- Borch, E. and Molin, G. (1988) Numerical Taxonomy of Psychrotrophic Lactic Acid Bacteria from Prepacked Meat and Meat Products. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 54: (4) 301.

- Bringel, F., Quenee, P. and Tailliez, P. (2001) Polyphasic Investigation of the Diversity Within *Lactobacillus plantarum* Related Strains Revealed Two *L.plantarum* Subgroups. *Systematic and Applied Microbiology*, 24: (4) 561-571.
- Brink, M., Todorov, S.D., Martin, J.H., Senekal, M. and Dicks, L.M.T. (2006) The Effect of Prebiotics on Production of Antimicrobial Compounds, Resistance to Growth at Low pH and in the Presence of Bile and Adhesion of Probiotic Celles to Intestinal Mucus. *Journal of Applied Microbiology*, 100: 813-820.
- Bujalance, C., Jiménez-Valera, M., Moreno, E. and Ruiz-Bravo, A. (2006) A Selective Differential Medium for *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Microbiological Methods*, 66: 572-575.
- Buriti, F.C.A., da Rocha, J.S., Assis, E.G. and Saad, S.M.I. (2005) Probiotic Potential of Minas Fresh Cheese Prepared with the Addition of *Lactobacillus paracasei*. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.*, 38: 173-180.
- Carr, J.F., Chill, D. and Miada, N. (2002) The Lactic Acid Bacteria:A Literature Survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28(4): 281-370.
- Cebeci, A. and Gürakan, C. (2003) Properties of Potential Probiotic *Lactobacillus plantarum* Strains. *Food Microbiology*, 20: 511-518.
- Charteris, P.W., Kelly, M.P., Morelli, L. and Collins, K.J. (1998) Antibiotic Susceptibility of Potentially Probiotic *Lactobacillus* Species. *Journal of Food Protection*, 61(12): 1636-1643.
- Çakmakçı, L. ve Karahan, A.G. (1995) Mikrobiyolojiye Giriş. *Bizim Büro Basımevi*, Ankara, 227s.
- Çon, A.H. (1995) Sucuktan Bakteriosin- Benzeri Antimikrobiyal Metabolit Üreten Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyon ve İdentifikasyonu ve Çeşitli Gıda Zararlısı ve/veya Gıda Kaynaklı Patojen Bakterilere Karşı Antogonistik Aktivite Araştırılması, Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, 78s.
- Çon, A.H. and Gökalp, H.Y. (2000) Production of Bacteriosin Like Metabolites by Lactic Acid Cultures Isolated from Sucuk Samples. *Meat Science*, 55: 89-96.
- Dağdemir, E., Çelik, Ş. and Özdemir, S. (2003). The Effects of Some Starter Cultures on the Properties of Turkish White Cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 56(4): 215-219.
- Dal Bello, F., Clarke, C.I., Ryan, L.A.M., Ulmer, H., Schober, I.J., Ström, K., Sjögren, J., van Sinderen, D., Schnürer, J. and Arendt, E.K. (2007) Improvement of the Quality and Shelf Life of Wheat Bread by Fermentation with the Antifungal Strain *Lactobacillus plantarum* FST 1.7. *Journal of Cereal Science*, 45:309-318.
- Damiani, P., Gobbetti, M., Cossignani, L., Corsetti, A., Simonetti, M.S. and Rossi, J. (1996) The Sourdough Microflora Characterization of Hetero and Homo

Fermentatif Lactic Acid Bacteria, Yeast and Their Interactions on the Basis of Volatile Compounds Produced, *Lebensm. Wiss. Technol.*, 29;63-70.

- Danielsen, M. and Wind, A. (2003) Susceptibility of *Lactobacillus spp.* to Antimicrobial Agents. *International Journal of Food Microbiology*, 82: 1-11.
- De Angelis, M., Corsetti, A., Tosti, N., Rossi, J., Corbo, M. R., and Gobbetti, M. (2001) Characterization of Non- Starter Lactic Acid Bacteria from Italian Ewe Cheeses Bases on Phenotypic, Genotypic, and Cell Wall Protein Analyses. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(5):2011-2020.
- De Fabrizio, S.V., Parada, J.L. and Ledford, R.A. (1994) Antibiotic Resistance of *Lactococcus lactis*-an Approach of Genetic Determinants Location Through a Model System. *Microbiol. Aliment. Nutr.*, 12: 307-315.
- De Vuyst, L. and Vancanneyt, M. (2007) Biodiversity and Identification of Sourdough Lactic Acid Bacteria. *Food Microbiology*, 24: 120-127.
- Doğramacı, M. (2005) *Streptomyces violaceusniger* Kümesi (Clade) Üyelerinin Rizosferden İzolasyonu ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Samsun, 150s.
- Dökmeci, İ., Akçasu, A., Banoğlu, N., Berkarda, Ş. ve ark. (1992) Farmakoloji İlaç Uygulamalarında Temel Kavramlar, ed. Dökmeci, İ., *Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul, 705-785 s.
- Dykes, G.A., Britz, J.J. and Holy, A. (1994) Numerical Taxonomy and Identification of Lactic Acid Bacteria from Spoiled, Vacuum-Packaged Vienna Sausages. *J Appl Bacteriol.*, 76(3):246-52.
- Elez-Martínez, P., Escolà-Hernández, J., Soliva-Fortuny, R.C. and Martín-Belloso O. (2005) Inactivation of *Lactobacillus brevis* in Orange Juice By High-Intensity Pulsed Electric Fields. *Food Microbiology*, 22: 311-319.
- Everson, C.W., Danner, W.E. and Hammes, P.A. (1970) Bacterial Starter Cultures in Sausage Products, *J. Agr. Food Chem.*, 4:570.
- Evren, M. (1991) Turşudan Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Bunlardan Starter Kültür Üretimini Araştırılması., Yüksek Lisans Tezi, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Samsun, 64s.
- Feresu, S.B. and Muzondo, M.I. (1990) Identification of Some Lactic Acid Bacteria from Two Zimbabwean Fermented Milk Products. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 6 (2): 178-186.
- G-Allegria, E., Lopez, I., Ruiz, I.J., Saenz, J., Fernandez, E., Zarazaga, M., Dizy, M., Torres, C. and Ruiz- Larrea, F. (2004) High Tolerance of Wild *Lactobacillus plantarum* and *Oenococcus oeni* Strains to Lyophilisation and Stress Environmental Conditions of Acid pH and Ethanol. *FEMS Microbiology Letters*, 230: 53-61.

- Gancel, F., Dzierszynski, F. and Talliez, R. (1997) Identification and Characterization of *Lactobacillus* Species Isolated from Fillets of Vacuum-Packed Smoked and Salted Herring (*Clupea harengus*). *Journal of Applied Microbiology*, 82: 722-728.
- Gänzle, M.G., Vermeulen, N. and Vogel, R.F. (2007) Carbohydrate, Peptide and Lipid Metabolism of Lactic Acid Bacteria in Sourdough. *Food Microbiology*, 24: 128-138.
- García Fontán, M.C., Lorenzo, J.M., Martínez, S., Franco, I. and Carballo, J. (2007) Microbiological Characteristics of Botillo, a Spanish Traditional Pork Sausage, *Article in Press*, 40: 1610-1622.
- Gardiner, G., Stanton, C., Lynch, P.B., Collins, J.K., Fitzgerald, G. and Ross, R.P. (1999) Evaluation of Cheddar Cheese as a Food Carrier for Delivery of a Probiotic Strain to the Gastrointestinal Tract. *Journal Dairy Science*, 82: 1379-1387.
- Gardner, J.N., Savard, T., Obermeier, P., Caldwell, G. and Champagne, P.C. (2001) Selection and Characterization of Mixed Starter Cultures for Lactic Acid Fermentation of Carrot, Cabbage, Beet and Onion Vegetable Mixtures. *International Journal of Food Microbiology*, 64: 261-275.
- González, C.J., Encinas, J.P., García-López, M.L. and Otero, A. (2000) Characterization and Identification of Lactic Acid Bacteria from Freshwater Fishes. *Food Microbiology*, 17: (4) 383-391.
- González, L., Sandoval, H., Sacristán, N., Castro, J.M., Fresno, J.M. and Tornadijo, M.E. (2007) Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Genestoso Cheese Throughout Ripening and Study of Their Antimicrobial Activity. *Food Control*, 18: 716-722.
- Goodfellow, M. and Dickinson, C.H. (1985) Delineation and Description of Microbial Populations Using Numerical Methods. In Computer-Assisted Bacterial Systematics, ed. Goodfellow, M.; Jones, D. And Priest, F.G., *Academic Press* London, 165-225s.
- Goodfellow, M. and Q'Donnell, A.G. (1993) Roots of Bacterial Systematics. In Handbook of New Bacterial Systematics, Ed. Goodfellow, M. and Q'Donnell, A.G., *Academic Press*, London, 3-54s.
- Goodfellow, M. and Q'Donnell, A. G. (1994) Chemical Methods Prokaryotic Systematics, *John Wiley & Sons*, Chichester, 602s.
- Gökalp, H.Y. (1982) Değişik Olgunlaşma Sıcaklıklarında Farklı Starter Kültürleri Uygulayarak Türk Tipi Sucuk Üretimi, Doçentlik Tezi, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümü, Erzurum, 178 s.
- Grant, I. and Patterson, M.F. (1991) A Numerical Taxonomic Study of Lactic Acid Bacteria Isolated from Irradiated Pork and Chicken Packaged Under Various Gas Atmospheres. *Journal of Applied Bacteriology*, 70: 302-307.

- Grimont, P.A.D. (1999) Taxonomy and Classification of Bacteria. Manual of Clinical Microbiology, ed. Murray, P.R., Jo Baron, E., Pfaller, M.A., Tenover, F.C. and Tenover, R.H., *ASM Press*, Washington, 1773 s.
- Gülcan, S. (2006) Çeşitli Kaynaklardan İzole Edilen *Pseudomonas* Cinsi Bakterilerin Ağır Metal ve Naftalin Toleransı, Yüksek Lisans Tezi, *Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Denizli, 76 s.
- Hamilton-Miller, J.M.T. and Slah, S. (1998) Vancomycin Susceptibility as an Aid to the Identification of Lactobacilli. *Lett. Appl. Microbiol.*, 26: 153-154.
- Hassen, A., Saidi, N., Cherif, M. and Boudabous, A. (1998a) Resistance of Environmental Bacteria to Heavy Metals. *Bioresource Technology*, 64: 7-15.
- Hébert, E. M., Raya, R.R., Tailliez, P. and De Giori, G.S. (2000) Characterization of Natural Isolates of *Lactobacillus* Strains to Be Used as Starter Cultures in Dairy Fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 59: 19-27.
- Heller, K.J. (2001) Probiotic Bacteria in Fermented Foods: Product Characteristics and Starter Organisms. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2: 374-379.
- Herreros, M.A., Sandoval, H., González, L., Castro, J.M., Fresno, J.M. and Tornadijo, M.E. (2005) Antimicrobial Activity and Antibiotic Resistance of Lactic Acid Bacteria Isolated from Armada Cheese (a Spanish Goats' Milk Cheese). *Food Microbiology*, 22: 455-459.
- Jin, L.Z., Ho, Y.W., Abdullah, N. and Jalalludin, S. (1998) Acid and Bile Tolerance of *Lactobacillus* Isolated from Chicken Intestine. *Letters in Applied Microbiology*, 27: 183-185.
- Johansson, M-L., Sanni, A., Lönnner, C. and Molin, G., (1995) Phenotypically Based Taxonomy Using API 50CH of Lactobacilli from Nigerian Ogi and the Occurrence of Starch Fermenting Strains. *International Journal of Food Microbiology*, 25 (2): 159-168.
- Johansson, C.B. (1999) Bakterilerin Sınıflandırılması. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Edt. Ustaçelebi, Ş., Mutlu, G., İmir, T., Cengiz, A.T., Tümbay, E., Mete, Ö., *Güneş Kitabevi*, Ankara , 1339 s.
- Karasu, N. (2006) Turşu ve Zeytinden Antagonistik ve Probiyotik Özellikle Laktik Starter Kültür Eldesi, Yüksek Lisans Tezi, *Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Denizli, 78 s.
- Kask, S., Adamberg, K., Orłowski, A., Vogensen, F.K., Moller, P.L., Ardö, Y. and Paalme, T. (2003) Physiological Properties of *Lactobacillus paracasei*, *L.danicus* and *L.curvatus* Strains Isolated from Estonian Semi-Hard Cheese. *Food Research International*, 36: 1037-1046
- Kayaalp, S.O. (1998) Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, *Hacettepe-Taş, Ankara*, 880 s.

- Kayagil, F. (2006) Effect of Traditional Starter Cultures on Quality of Cheese, Yüksek Lisans Tezi, *A Thesis Submitted to the Graduate School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University*, Ankara, 75 s.
- Kelly, W.J., Davey, G.P. and Ward, L.J.H. (1998) Characterization of Lactococci isolated from Minimally Processed Fresh Fruit and Vegetables. *International Journal of Food Microbiology*, 45: 85-92.
- Kılıç, S. (2001) Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi*, İzmir, No:542, 451 s.
- Kim, S.W., Perl, L., Park, H. J., Tandianus, E.J and Dunn, W.N., (2001) Assessment of Stress Response of the Probiotic *Lactobacillus acidophilus*. *Current Microbiology*, 43: 346-350.
- Klingberg, T.D., Axelsson, L., Naterstad, K., Elsser, D. and Budde, B.B. (2005) Identification of Potential Probiotic Starter Cultures for Scandinavian-type Fermented Sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 105: 419-431.
- Kostinek, M., Specht, I., Edward, V.A., Pinto, C., Egounlety, M., Sossa, C., Mbugua, S., Dortu, C., Thonart, p., Taljaard, L., Mengu, M., Franz, C.M.A.P. and Holzapfel, W.H. (2007). Characterisation and Biochemical Properties of Predominant Lactic Acid Bacteria from Fermenting Cassava for Selection as Starter Cultures. *International Journal of Food Microbiology*, 114: 342-351.
- Leroy, F. and De Vuyst, L. (2004) Lactic Acid Bacteria as Functional Starter Cultures for the Food Fermentation Industry. *Trends in Food Science & Technology*, 15: 67-78.
- Lewus, C.B., Kaiser, A. and Montville, T.J. (1991) Inhibition of Food-Borne Pathogens by Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria Isolated from Meat. *Appl. Environ. Microbiology*, 57: 1683-1688.
- Lönner, C. and Johansson, M. L. (2005) Pro Equo—a Liquid Oat Product Fermented with *Lactobacillus plantarum* JI:1 (DSM 11520)- a New Probiotic Product for Horses. <http://www.proequo.se/docs/ProEquo-vet.sammanfattnin-050222.doc>, 6s.
- Mac Donell, M.J. and Colwell, R.R. (1985) The Contribution of Numerical Taxonomy to the Systematics of Gram-Negative Bacteria, In Computer-Assisted Bacterial Systematics, ed. M. Goodfellow, D. Jones and F.G. Priest, *Academic Press*, London, 107-135s.
- Manfio, G.P. (1995) Towards Minimal Standards for the Description of Streptomyces Species. Ph. D. Thesis, *University of Newcastle, Newcastle Upon Tyne*, UK.
- Marteau, P.R., De Vrese, M., Cellier, C.J. and Schrezenmeir, J. (2001) Protection from Gastrointestinal Diseases with the Use of Probiotics. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73: 430-436.
- Matur, S. and Singh, R. (2005) Antibiotic Resistance in Food Lactic Acid Bacteria Review. *International Journal of Food Microbiology*, 105: 281-295.

- Mayra- Makinen, A. and Bigret, M. (1993) Industrial Use and Production of Lactic Acid Bacteria. Lactic Acid Bacteria:, edt. Salminen, S. and von Wright, A., **Marcel Dekker Inc.** , New York, 65-96 s.
- McDonald, L.C., Fleming, H.P. and Hassan, H.M. (1990) Acid Tolerance of *L.mesenteroides* and *L.plantarum*. **Appl Environ Microbiol.**, 56(7): 2120-2124.
- McKay, L.L. (1983) Functional Properties of Plasmids in *Lactic Streptococci*. **Antonie Van Leeuwenhoek**, 49: 259-274.
- Mumcu, Z.N. (1997) Kefirden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Metabolik, Antimikrobiyal ve Plasmid DNA'larının İncelenmesi., **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 129s.
- Nigatu, A. (2000) Evaluation of Numerical Analyses of RAPD and API 50 CH Patterns to Differentiate *Lactobacillus plantarum*, *Lact.fermentum*, *Lact.rhamnosus*, *Lact.sake*, *Lact. Parabuchneri*, *Lact. Gallinarum*, *Lact. Casei*, *Weissella* Minor and Related Taxa Isolated from *Kocho* and *Tef*. **Journal of Applied Microbiology**, 89: 969-978.
- Ouwehand, A.C., Kirijavainen, P.V., Grönlund, M.M., Isoluri, E. and Salminen, S.J. (1999) Adhesion of Probiotic Microorganisms to Intestinal Mucus. **International Dairy Journal**, 9: 623-630.
- Özkalp, B. (2006) Doğal Tip *Lactococcus Lactis* Suşlarının Endüstriyel Starter Kültür Potansiyellerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, **Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü**, Ankara, 101 s.
- Öztan, A. (2003) Et Bilimi ve Teknolojisi, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Yayınları, Ankara, 495 s.
- Öztürk, E. (2000) Termofilik Streptomyces'lerin İzolasyonu ve Nümerik Taksonomisi, Yüksek Lisans Tezi, **Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Samsun, 143s.
- Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E. and Kotzekidou, P. (2003) Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from a Greek Dry-Fermented Sausage in Respect of Their Technological and Probiotic Properties. **Meat Science**, 65: 859-867.
- Park, S.C., Hwang, M.H., Kim, Y.H., Kim, J.C., Song, J.C., Lee, K.W., Jeong, K.S., Rhee, M.H., Kim, K.S. and Kim, T.W. (2006) Comparison of pH and Bile Resistance of *Lactobacillus acidophilus* Strains Isolated from Rat, Pig, Chicken and Human Resources. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, 22: 35-37.
- Paul Ross, R., Morgan, S. and Hill, C. (2002) Preservation and Fermentation: Past, Present and Future.**International Journal of Food Microbiology**, 79:3-16.
- Pepe, O., Blaiotta, G., Anastasio, M., Moschetti, G., Ercolini, D. and Villani, F. (2004). Technological and Molecular Diversity of *Lactobacillus plantarum* Strains Isolated from Naturally Fermented Sourdoughs. **System. Appl. Microbiol.**, 27: 443-453.

- Pouwels, H.P. and Leer, R. J. (1993) Genetics of *Lactobacilli*; Plasmid and Gene Expression. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 64: 85-107.
- Priest, F. and Austin, B. (1993). Modern Bacterial Taxonomy. *Chapman & Hall*, London, 225 s.
- Randazzo, C.L., Restuccia, C., Daniele Romano, A. and Caggia, C. (2004) *Lactobacillus casei*, Dominant Species in Naturally Fermented Scillian Green Olives. *International Journal of Food Microbiology*, 90:9-14.
- Reid,G. (1999) The Scientific Basis for Probiotic Strains of *Lactobacillus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 9: 3763-3766.
- Reinheimer, J.A., Quiberoni, A., Tailliez, P., Binetti, A.G. and Suarez, V.B. (1996) The Lactic Acid Microflora of Natural Whey Starters Used in Argentina for Hard Cheese Production. *International dairy journal*, 8:869-879.
- Rojo-Bezares, B.R., Sáenz, Y., Poeta, P., Zarazaga, M., Ruiz-Larrea, F. and Torres, C. (2006) Assessment of Antibiotic Susceptibility Within Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Wine. *International Journal of Food Microbiology*, 111: 234-240.
- Rolfe, R.D. (2000) The Role of Probiotic Cultures in the Control of Gastrointestinal Health. *Journal of Nutrition*, 130: 396-402.
- Sackin, M. J. and Jones, D. (1993) Computer-Assisted Classification. In Handbook of New Bacterial Systematics, Edt. Goodfellow, M. and Q'Donnell, A.G., *Academic Press*, London, 281-313s.
- Salminen, S., von Wright, A. and Ouwehand, A. (2006) Lactic Acid Bacteria. *International Dairy Journal* , 16:940-941.
- Sánchez, M.M., Delgado, T., Alonso, L. and Baltasayar, M. (2000) Phenotypic and Genetic Characterization of a Selected Set of *Lactococcus lactis* Strains Isolated from a Starter-Free Farmhouse Cheese. *Food Microbiology*, 17: 449-460.
- Sánchez, I., Sesena, S.,Poveda, J.M., Cabezas, L. and Palop, L. (2005) Phenotypic and Genotypic Characterization of Lactobacilli Isolated from Spanish Goat Cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 102: 355- 362.
- Sanders, M.E. (1995) Lactic Acid Bacteria and Human Health, Dairy and Food Culture Technologies, Littleton, Colorado, USA, 140s.
- Santos, A., San Mauro, M., Sánchez, A., Torres, J.M. and Marquina, D. (2003) The Antimicrobial Properties of Different Strains of *Lactobacillus spp.* Isolated from Kefir. *Systematic and Applied Microbiology*, 26: 434-437.
- Savage, D.C. (1992) Growth Phase, Cellular Hydrophobicity, and Adhesion in Vitro of Lactobacilli Colonizing the Keratinizing Gastric Epitelium in the Mouse. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(6): 1992-1995.

- Schillinger, U. and Lucke, F.K. (1989) Identification of Lactobacilli from Meat and Meat Products. *Appl. Environ. Microbiol.*, 4: 199-209.
- Schlegel, H.G. (1986) General Microbiology, *Cambridge University Press*, Cambridge, 587s.
- Sharpe, M.E., Fryer, T.F. and Smith, D.G. (1966) Identification of the Lactic Acid Bacteria, ed. Gibbs, B.M. and Skinner, F.A., *Academic Press*, New York, 245 s.
- Shimamura, S., Abe, F., Ishibashi, N., Miyakawa, H., Yaeshima, T., Araya, T. and Tomita, M. (1992) Relationship Between Oxygen Sensitivity and Oxygen Metabolism of *Bifidobacterium* Species. *Journal of Dairy Science*, 75(12): 3296-3306.
- Sneath, P.H.A. and Johnson, R. (1972) The Influence on Numerical Taxonomic Similarities of Errors in Microbiological Tests. *Journal of General Microbiology* 72, 377-392.
- Sneath, P.H.A. and Sokal, R.R. (1973) Numerical Taxonomy: The Principles and Practise of Numerical Classification. *W. H. Freeman*, Baltimore, 588 s.
- Sneath, P.H.A. (1978) Classification of Microorganisms. In Essays in Microbiology, Section 9. Edt J. R. Norris and M. H. Richmond, *John Wiley and Sons Ltd.*, Chichester, 1-31s.
- Sokal, R.R. and Michener, C.D. (1958) A Statistical Method for Evaluating Systematic Relationship. *Kansas University Science Bulletin*, 38: 1409-1438.
- Soomro, A.H., Masud, T. and Anwear, K. (2002) Role of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Food Preservation and Human Health-AReview. *Pakistan Journal of Nutrition*, 1(1): 20-24.
- Simpson, W.J., Hammond, J.R.M. and Miller, R.B. (1988) Avoparcin and Vancomycin. Useful Antibiotics for the Isolation of Brewery Lactic Acid Bacteria. *J. Appl. Bacteriol.*, 64:299-309.
- Sullivan, A. and Nord, C.E. (2002) Probiotics in Human Infections. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 50:625-627.
- Şahin, İ. (1990) Mikrobiyolojiye Giriş. *Eser Matbaası*, Samsun, 237s.
- Şahin, N.(1995) Selective isolation, characterisation and classification of novel thermotolerant *Streptomyces*, Ph. D Thesis, *Newcastle Univ.*, England.
- Şimşek, Ö. (2003) Uşak ve Yöresi Ekşi Hamurlarından İzole Edilen Antimikrobiyal Aktiviteye Sahip Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması ve Bazı Metabolik Özelliklerinin Belirlenmesi., Yüksek Lisans Tezi, *Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Denizli, 90s.

- Şimşek, Ö., Çon, A.H. and Tulumoğlu, Ş. (2006) Isolating Lactic Starter Cultures with Antimicrobial Activity for Sourdough Processes. *Food Control*, 17: 263-270.
- Tamang, J.P., Tamang, B., Schillinger, U., Franz, C.M.A.P., Gores, M. and Holzapfel, W.H. (2005) Identification of Predominant Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditionally Fermented Vegetable Products of the Eastern Himalayas. *International Journal of Food Microbiology*, 105: 347-356.
- Tassou, C.C., Panagou, E.Z. and Katsaboxakis, K.Z. (2002) Microbiological and Physicochemical Changes of Naturally Black Olives Fermented at Different Temperatures and NaCl Levels in The Brine. *Food Microbiology*, 19: 605-615.
- Temmerman, R., Pot, B., Huys, G. and Swings, J. (2003) Identification and Susceptibility of Bacterial Isolates Probiotic Products. *International Journal of Food Microbiology*, 81:1-10.
- Temmerman, R., Huys, G. and Swings, J. (2004) Identification of Lactic Acid Bacteria: Culture-Dependent and Culture-Independent Methods. *Trends in Food Science & Technology*, 15:348-359.
- Todorov, S., Onno, B., Sorokine, O., Chabert, U. M., Ivanova, I. and Dousset, X. (1999) Detection and Characterization of a Novel Antibacterial Substance Produced by *Lactobacillus plantarum* ST31 Isolated from Sourdough. *Int. J. Food Microbiol.*, 48: 167-177.
- Tolonen, M., Rajaniemi, S., Pihlava, J-M., Johansson, T., Saris, P.E.J. and Ryhänen, E-L. (2004) Formation of Nisin, Plant-Derived Biomolecules and Antimicrobial Activity in Starter Culture Fermentations of Sauerkraut. *Food Microbiology*, 21: 167-179.
- Tunail, N. ve Köşker, Ö. (1989) Süt Mikrobiyolojisi, *Ankara Üniversitesi Basımevi*, Ankara, 138 s.
- Tuomola (née Lehto), E.M. and Salminen, S. (1998) Adhesion of Some Probiotic and Dairy *Lactobacillus* Strains to Caco-2 Cell Cultures. *International Journal of Food Microbiology*, 41: 45-51.
- Turantaş, F. (1999) Fermantasyonda Rol Oynayan Mikroorganizmalar. Gıda Mikrobiyolojisi, Edt. Ünlütürk, A. ve Turantaş, F., Acar, J., Karapınar, M., Temiz, A., Gönül, Ş. ve Tuncel, G., *Mengi Tan Basımevi*, İzmir, 598s.
- Türker, İ. (1975) Asit Fermantasyonları (Sirke, Turşu, Sofralık Zeytin ve Boza Teknolojileri), *Ankara Üniversitesi Basımevi*, Ankara, No:577,182 s.
- Venema, G. (1993) Molecular Biology and Genetic Modification of *Lactococci*. *Journal of Dairy Science*, 76 (8) : 2133-2144.
- Vidal, C.A. and Collins-Thompson, D. (1987) Resistance and Sensitivity of Meat Lactic Acid Bacteria to Antibiotics. *J.Food Prot.*, 50:737-740.

- Vinderola, C.G. and Reinheimer, J.A. (2003) Lactic Acid Starter and Probiotic Bacteria: A Comparative "in Vitro" Study of Probiotic Characteristics and Biological Barrier Resistance. *Food Research International*, 36: 895-904.
- Williams, S.T., Goodfellow, M., Alderson, G., Wellington, E.M.H., Sneath, P.H.A. and Sackin, M.J. (1983) Numerical Classification of *Streptomyces* and Related Genera. *Journal of General Microbiology*, 129:1743-1813.
- Yaman, A., Gökalp, H.Y. and Çon, A.H. (1998) Some Characteristics of Lactic Acid Bacteria Present in Commercial Sucuk Samples, *Meat Science*, 49 (4): 387-397.
- Yoon, K.Y., Woodams, E.E. and Hang, Y.D. (2006) Production of Probiotic Cabbage Juice By Lactic Acid Bacteria. *Bioresource Technology*, 97: 1427-1430.
- Yüksekdağ, Z.N., Beyatlı, Y. and Aslım, B. (2004) Determination of Some Characteristics Coccoid Forms of Lactic Acid Bacteria Isolated from Turkish Kefirs with Natural Probiotic. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 37(6): 663-667.
- Zamfir, M., Vancanneyt, M., Makras, L., Vaningelgem, F., Lefebure, K., Pot, B., Swings, J. and De Vuyst, L. (2006) Biodiversity of Lactic Acid Bacteria in Romanian Dairy Products. *Systematic and Applied Microbiology*, 29: 487-495.
- Zhou, J.S., Pillidge, C.J., Gopal, P.K. and Gill, H.S. (2005) Antibiotic Susceptibility Profiles of New Probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium Strains. *International Journal of Food Microbiology*, 98: 211-217.

EKLER

Ek-1 Çalışmada izolatlara uygulanan karbonhidrat fermantasyon testleri ve sonuçları

İzolat Kodu	AAA	AAB	AAC	AAD	AAE	AAF	AAG	AAH	AAI	AAK	AAL	AAM	AAN	AAO	AAP	AAR	AAS	AAT	AAU	AAV	AAZ	ABA	ABB	ABC	ABD	
LO100	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+
LL101	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
LO102	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
LO110	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+
LO120	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
LO121	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
LO122	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
LO123	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
LO124	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
LO125	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
LO130	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
LB131	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO140	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LO141	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LO142	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LO143	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
LO144	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
LO145	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
LO146	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LO147	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
LO148	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LO149	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LO150	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+
LO151	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+

Devam

Ek-1 Devam

İzolat Kodu	AAA	AAB	AAC	AAD	AAE	AAF	AAG	AAH	AAI	AAK	AAL	AAM	AAN	AAO	AAP	AAR	AAS	AAT	AAU	AAV	AAZ	ABA	ABB	ABC	ABD	
LO152	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LO153	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LP154	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+
LP155	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+
LO156	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LO157	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LO160	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
LO161	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
LO162	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
LO163	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
LO164	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
LO165	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
PP166	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
PP167	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
LO170	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
LC171	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
LO180	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
LO190	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LR191	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+
LR192	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+
LS200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-
LS201	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-
LA210	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
LM220	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
PA230	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+

Ek-1 Devam

İzolat Kodu	ABE	ABF	ABG	ABH	ABI	ABK	ABL	ABM	ABN	ABO	ABP	ABR	ABS	ABT	ABU	ABV	ABY	ABZ	ACD	ACE	ACF	ACG	ACH	ACI	
LO100	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
LL101	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
LO102	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
LO110	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LO120	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
LO121	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO122	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO123	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO124	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO125	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
LO130	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
LB131	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO140	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LO141	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LO142	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO143	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
LO144	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LO145	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO146	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
LO147	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LO148	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LO149	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LO150	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
LO151	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-

Devam

Ek-1 Devam

İzolat Kodu	ABE	ABF	ABG	ABH	ABI	ABK	ABL	ABM	ABN	ABO	ABP	ABR	ABS	ABT	ABU	ABV	ABY	ABZ	ACD	ACE	ACF	ACG	ACH	ACI	
LO152	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	
LO153	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LP154	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LP155	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LO156	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LO157	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LO160	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
LO161	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
LO162	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
LO163	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
LO164	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
LO165	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
PP166	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
PP167	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
LO170	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
LC171	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO180	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO190	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
LR191	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
LR192	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
LS200	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LS201	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LA210	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM220	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PA230	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Devam

Ek-2 Çalışmada izolatlara uygulanan ağır metallere dayanıklılık testleri ve sonuçları

İzolât Kodu	ANA	ANB	ANC	AND	ANE	ANF	ANG	ANH	ANI	ANK	ANL	ANM	ANN	ANO	ANP	ANR	ANS	ANT	ANU	ANV	ANY	ANZ	ANW	ANX	AOA
LO100	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+
LO101	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
LL102	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
LO110	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
LO120	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO121	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+
LO122	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
LO123	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+
LO124	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
LO125	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
LO130	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
LB131	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
LO140	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
LO141	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
LO142	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
LO143	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
LO144	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
LO145	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
LO146	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
LO147	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
LO148	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
LO149	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
LO150	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
LO151	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-

Devam

Ek-2 Devam

İzolât Kodu	ANA	ANB	ANC	AND	ANE	ANF	ANG	ANH	ANI	ANK	ANL	ANM	ANN	ANO	ANP	ANR	ANS	ANT	ANU	ANV	ANY	ANZ	ANW	ANX	AOA
LO152	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+
LO153	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+
LP154	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
LP155	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
LO156	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
LO157	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
LO160	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
LO161	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
LO162	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
LO163	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
LO164	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
LO165	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
PP166	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
PP167	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
LO170	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
LC171	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
LO180	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+
LO190	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
LR191	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
LR192	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
LS200	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+
LS201	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+
LA210	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM220	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
PA230	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+

Devam

Ek-2 Devam

İzolot Kodu	AOB	AOC	AOD	AOE	AOF	AOG	AOH	AOI	AOK	AOL	AOM	AON	AOO	AOP	AOR	AOS	AOT	AOU	AOV	AOY	AOZ	AOW	AOX	APA	APB	APC	APD	APE	APF	APG	
LO100	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-		
LL101	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-		
LO102	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-		
LO110	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-		
LO120	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-		
LO121	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	
LO122	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
LO123	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
LO124	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	
LO125	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
LO130	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
LB131	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
LO140	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
LO141	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
LO142	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
LO143	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	
LO144	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
LO145	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
LO146	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	
LO147	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	
LO148	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	
LO149	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	
LO150	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	
LO151	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	

Devam

Ek-2 Devam

İzolat Kodu	AOB	AOC	AOD	AOE	AOF	AOG	AOH	AOI	AOK	AOL	AOM	AON	AOO	AOP	AOR	AOS	AOT	AOU	AOV	AOY	AOZ	AOW	AOX	APA	APB	APC	APD	APE	APF	APG	
LO152	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
LO153	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
LP154	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	
LP155	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	
LO156	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
LO157	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
LO160	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
LO161	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
LO162	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
LO163	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
LO164	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
LO165	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
PP166	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	
PP167	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	
LO170	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
LC171	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	
LO180	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
LO190	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LR191	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
LR192	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
LS200	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
LS201	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
LA210	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM220	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
PA230	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-

Devam

Ek-2 Devam

İzolât Kodu	APH	API	APK	APL	APM	APN	APO	APP	APR	APS	APT	APU	APV	APY	APZ	APW	APX	ARA	ARB	ARC	ARD	ARE	ARF	ARG	ARH	ARI	ARK	ARL	ARM
LO100	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LL101	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LO102	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LO110	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LO120	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LO121	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
LO122	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO123	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
LO124	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO130	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LB131	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
LO140	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LO141	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LO142	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LO143	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO144	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO145	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LO146	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO147	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO148	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO149	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LO150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LO151	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Devam

Ek-2 Devam

İzolât Kodu	APH	API	APK	APL	APM	APN	APO	APP	APR	APS	APT	APU	APV	APY	APZ	APW	APX	ARA	ARB	ARC	ARD	ARE	ARF	ARG	ARH	ARI	ARK	ARL	ARM
LO152	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LO153	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LP154	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LP155	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LO156	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO157	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LO160	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO161	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LO162	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LO163	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO164	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO165	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
PP166	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PP167	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO170	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LC171	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LO180	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
LO190	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LR191	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LR192	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LS200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LS201	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LA210	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM220	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
PA230	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-

Ek-3 Çalışmada izolatlara uygulanan antibiyotik duyarlılık testleri ve sonuçları

İzolat Kodu	ASA	ASB	ASC	ASD	ASE	ASF	ASG	ASH	ASI	ASK	ASL	ASM	ASN	ASO	ASP	ASR
LO100	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
LL101	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO102	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO110	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO120	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
LO121	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO122	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
LO123	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO124	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO125	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO130	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LB131	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
LO140	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO141	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO142	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO143	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO144	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO145	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO146	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO147	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO148	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO149	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO150	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
LO151	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-

Devam

Ek-3 Devam

İzolat Kodu	ASA	ASB	ASC	ASD	ASE	ASF	ASG	ASH	ASI	ASK	ASL	ASM	ASN	ASO	ASP	ASR
LO152	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO153	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LP154	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LP155	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO156	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
LO157	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
LO160	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO161	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO162	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO163	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO164	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO165	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
PP166	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
PP167	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
LO170	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-
LC171	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO180	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO190	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LR191	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LR192	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LS200	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LS201	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LA210	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LM220	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
PA230	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-

Ek-4 Çalışmada izolatlara uygulanan biyokimyasal testler ve sonuçları

İzolat Kodu	AGA	ACA	ACB	ACC	ADA	ADB	ADC	ADD	ADE	ADF	AEA	AEB	AEC	AFA	AFB	AFC	AHA	AHB	AHC	AHD	AIA	ALA	ATB	ATC	ATD	AYA
LO100	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
LL101	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
LO102	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
LO110	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
LO120	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+
LO121	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
LO122	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
LO123	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
LO124	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
LO125	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
LO130	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+
LB131	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
LO140	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
LO141	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
LO142	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
LO143	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+
LO144	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+
LO145	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+
LO146	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
LO147	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
LO148	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
LO149	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
LO150	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
LO151	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+

Devam

Ek-4 Devam

İzolat Kodu	AGA	ACA	ACB	ACC	ADA	ADB	ADC	ADD	ADE	ADF	AEA	AEB	AEC	AFA	AFB	AFC	AHA	AHB	AHC	AHD	AIA	ALA	ATB	ATC	ATD	AYA
LO152	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
LO153	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
LP154	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
LP155	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
LO156	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
LO157	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
LO160	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-
LO161	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-
LO162	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-
LO163	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
LO164	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-
LO165	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-
PP166	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
PP167	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
LO170	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+
LC171	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
LO180	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
LO190	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+
LR191	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
LR192	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
LS200	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
LS201	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
LA210	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
LM220	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
PA230	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-

Ek-5 Nümerik taksonomide kullanılan karbonhidrat fermantasyon testleri ve sonuçları

İzolat Kodu	AAE	AAF	AAG	AAI	AAL	AAN	AAO	AAP	AAR	AAU	AAV	AAZ	AAZ	ABA	ABB	ABC	ABD
LO100	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+
LL101	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
LO102	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
LO110	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+
LO120	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
LO121	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
LO122	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+
LO123	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
LO124	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
LO125	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
LO130	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
LB131	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO140	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LO141	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LO142	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LO143	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
LO144	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
LO145	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
LO146	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LO147	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
LO148	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LO149	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LO150	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+
LO151	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+

Devam

Ek-5 Devam

İzolât Kodu	AAE	AAF	AAG	AAI	AAL	AAN	AAO	AAP	AAR	AAU	AAV	AAZ	AAZ	ABA	ABB	ABC	ABD
LO152	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LO153	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LP154	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+
LP155	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+
LO156	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+
LO157	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LO160	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
LO161	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
LO162	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
LO163	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
LO164	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
LO165	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
PP166	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
PP167	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
LO170	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
LC171	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
LO180	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
LO190	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+
LR191	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+
LR192	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+
LS200	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-
LS201	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-
LA210	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
LM220	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+
PA230	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+

Devam

Ek-5 Devam

İzolât Kodu	ABE	ABF	ABG	ABH	ABI	ABK	ABL	ABM	ABN	ABO	ABT	ABU	ABY	ACE	ACG	ACI
LO100	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LL101	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO102	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO110	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-
LO120	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-
LO121	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO122	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
LO123	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO124	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO125	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-
LO130	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
LB131	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO140	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-
LO141	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-
LO142	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LO143	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-
LO144	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-
LO145	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LO146	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-
LO147	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-
LO148	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-
LO149	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-
LO150	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-
LO151	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-

Devam

Ek-5 Devam

İzolat Kodu	ABE	ABF	ABG	ABH	ABI	ABK	ABL	ABM	ABN	ABO	ABT	ABU	ABY	ACE	ACG	ACI
LO152	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-
LO153	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-
LP154	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-
LP155	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-
LO156	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-
LO157	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-
LO160	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-
LO161	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-
LO162	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-
LO163	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-
LO164	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-
LO165	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-
PP166	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-
PP167	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-
LO170	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-
LC171	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO180	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO190	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-
LR191	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-
LR192	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-
LS200	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
LS201	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
LA210	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LM220	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-
PA230	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-

Ek-6 Nümerik taksonomide kullanılan ağır metallere dayanıklılık testleri ve sonuçları

İzolat Kodu	ANB	ANC	AND	ANE	ANG	ANH	ANI	ANK	ANL	ANN	ANO	ANU	ANV	ANY	ANZ	ANW	AOA	AOB	AOC	AOG	AOH	AOI	AOK	AOL	AOM
LO100	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LL101	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+
LL102	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+
LO110	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
LO120	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO121	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
LO122	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LO123	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LO124	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LO125	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
LO130	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LB131	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
LO140	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LO141	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LO142	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
LO143	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LO144	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LO145	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LO146	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
LO147	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
LO148	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
LO149	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
LO150	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
LO151	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

Devam

Ek-6 Devam

İzolât Kodu	ANB	ANC	AND	ANE	ANG	ANH	ANI	ANK	ANL	ANN	ANO	ANU	ANV	ANY	ANZ	ANW	AOA	AOB	AOC	AOG	AOH	AOI	AOK	AOL	AOM
LO152	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LO153	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LP154	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+
LP155	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+
LO156	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
LO157	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+
LO160	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
LO161	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
LO162	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
LO163	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
LO164	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO165	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
PP166	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PP167	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LO170	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
LC171	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
LO180	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LO190	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LR191	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LR192	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LS200	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LS201	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LA210	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
LM220	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+		+	+	-	-	-	-
PA230	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-

Devam

Ek-6 Devam

İzolât Kodu	AON	AOO	AOP	AOY	AOZ	AOW	AOX	APA	APB	APC	APD	APE	APN	APO	APP	APV	APY	ARA	ARB	ARC	ARG	ARH	ARI	
LO100	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	
LL101	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LO102	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
LO110	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
LO120	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	
LO121	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	
LO122	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	
LO123	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	
LO124	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	
LO125	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	
LO130	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LB131	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
LO140	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LO141	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
LO142	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
LO143	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
LO144	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
LO145	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-
LO146	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
LO147	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
LO148	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
LO149	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LO150	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LO151	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Devam

Ek-6 Devam

İzolât Kodu	AON	AOO	AOP	AOY	AOZ	AOW	AOX	APA	APB	APC	APD	APE	APN	APO	APP	APV	APY	ARA	ARB	ARC	ARG	ARH	ARI	
LO152	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	
LO153	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
LP154	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LP155	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LO156	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO157	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
LO160	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
LO161	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-
LO162	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-
LO163	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
LO164	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
LO165	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
PP166	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PP167	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LO170	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LC171	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LO180	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+
LO190	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
LR191	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LR192	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
LS200	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-
LS201	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-
LA210	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LM220	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
PA230	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-

Ek-7 Nümerik taksonomide kullanılan antibiyotik duyarlılık testleri ve sonuçları

İzolat Kodu	ASA	ASB	ASC	ASD	ASE	ASF	ASG	ASH	ASI	ASK	ASL	ASM	ASN	ASP	ASR
LO100	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
LL101	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO102	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO110	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
LO120	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
LO121	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-
LO122	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
LO123	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO124	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO125	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-
LO130	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-
LB131	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
LO140	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO141	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO142	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO143	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
LO144	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO145	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
LO146	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
LO147	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO148	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO149	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO150	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
LO151	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-

Devam

Ek-7 Devam

İzolât Kodu	ASA	ASB	ASC	ASD	ASE	ASF	ASG	ASH	ASI	ASK	ASL	ASM	ASN	ASP	ASR
LO152	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
LO153	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-
LP154	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LP155	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO156	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
LO157	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-
LO160	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO161	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO162	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO163	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO164	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
LO165	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-
PP166	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
PP167	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
LO170	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-
LC171	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LO180	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
LO190	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
LR191	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LR192	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LS200	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LS201	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LA210	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
LM220	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
PA230	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-

Devam

Ek-8 Nümerik taksonomide kullanılan biyokimyasal testler

İzolat Kodu	AGA	ACA	ACB	ACC	ADA	ADB	ADC	ADD	ADE	ADF	AEA	AEB	AEC	AFA	AFB	AFC	AHA	AHB	AHC	AHD	AIA	ALA	ATB	ATC	ATD	AYA
LO100	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
LL101	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
LO102	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
LO110	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
LO120	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+
LO121	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
LO122	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
LO123	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
LO124	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
LO125	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
LO130	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+
LB131	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
LO140	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
LO141	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
LO142	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
LO143	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+
LO144	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+
LO145	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+
LO146	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
LO147	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
LO148	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
LO149	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
LO150	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
LO151	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+

Devam

Ek-8 Devam

İzolat Kodu	AGA	ACA	ACB	ACC	ADA	ADB	ADC	ADD	ADE	ADF	AEA	AEB	AEC	AFA	AFB	AFC	AHA	AHB	AHC	AHD	AIA	ALA	ATB	ATC	ATD	AYA
LO152	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
LO153	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
LP154	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
LP155	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
LO156	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
LO157	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
LO160	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-
LO161	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-
LO162	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-
LO163	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
LO164	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-
LO165	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-
PP166	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
PP167	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
LO170	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+
LC171	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
LO180	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
LO190	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+
LR191	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
LR192	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
LS200	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
LS201	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
LA210	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
LM220	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-
PA230	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-

Ek-9 Çalışmada kullanılan test karakterlerinin kısaltmaları

Karbonhidrat Fermantasyon	Ağır Metallerle Dayanıklılık	Ağır Metallerle Dayanıklılık	Biyokimyasal Testler
AAA: Kontrol	ANA: CrN ₃ O ₉ .9H ₂ O (500 ppm)	APE: CuSO ₄ .5H ₂ O (25ppm)	AGA:Glukozdan gaz üretimi
AAB: Glycerol	ANB: CrN ₃ O ₉ .9H ₂ O (300 ppm)	APF: CuSO ₄ .5H ₂ O (10ppm)	ACA:10 °C
AAC: Erythritol	ANC: CrN ₃ O ₉ .9H ₂ O (150 ppm)	APG:MgSO ₄ .7H ₂ O(500 ppm)	ACB:15 °C
AAD: D-Arabnose	AND: CrN ₃ O ₉ .9H ₂ O (50 ppm)	APH: MgSO ₄ .7H ₂ O (300 ppm)	ACC:45°C
AAE: L-Arabinose	ANE: CrN ₃ O ₉ .9H ₂ O (25 ppm)	API: MgSO ₄ .7H ₂ O (150 ppm)	ADA:%3.0 NaCl
AAF: D-Ribose	ANF: CrN ₃ O ₉ .9H ₂ O (10 ppm)	APK: MgSO ₄ .7H ₂ O (50 ppm)	ADB:%4.0 NaCl
AAG: D-Xylose	ANG: N ₂ NiO ₆ .6H ₂ O(500ppm)	APL: MgSO ₄ .7H ₂ O (25 ppm)	ADC:%5.0 NaCl
AAH: L-Xylose	ANH: N ₂ NiO ₆ .6H ₂ O(300ppm)	APM: MgSO ₄ .7H ₂ O (10 ppm)	ADD:%6.5 NaCl
AAI: D-Adonitol	ANI: N ₂ NiO ₆ .6H ₂ O(150 ppm)	APN: MnSO ₄ .2H ₂ O (500ppm)	ADE:%8.0 NaCl
AAK: Methyl-βD-Xylopyranoside	ANK: N ₂ NiO ₆ .6H ₂ O(50 ppm)	APO: MnSO ₄ .2H ₂ O(300ppm)	ADF:%9.0 NaCl
AAL: D-Galactose	ANL: N ₂ NiO ₆ .6H ₂ O(25 ppm)	APP: MnSO ₄ .2H ₂ O(150ppm)	AEA:9.6 pH
AAM: D-Glucose	ANM: N ₂ NiO ₆ .6H ₂ O(10 ppm)	APR: MnSO ₄ .2H ₂ O(50ppm)	AEB:3.5 pH
AAN: D-Fructose	ANN: Al(NO ₃) ₃ .9H ₂ O (500 ppm)	APS: MnSO ₄ .2H ₂ O(25ppm)	AEC:3.0 pH
AAO: D-Mannose	ANO: Al(NO ₃) ₃ .9H ₂ O (300 ppm)	APT: MnSO ₄ .2H ₂ O(10ppm)	AFA:%10 Alkol
AAP: L-Sorbose	ANP: Al(NO ₃) ₃ .9H ₂ O (150 ppm)	APU: Fe ₂ (SO ₄) ₃ .H ₂ O(500 ppm)	AFB:%12 Alkol
AAR: L. Rhamnose	ANR: Al(NO ₃) ₃ .9H ₂ O (50 ppm)	APV: Fe ₂ (SO ₄) ₃ .H ₂ O(300ppm)	AFC:%15 Alkol
AAS: Dulcitol	ANS: Al(NO ₃) ₃ .9H ₂ O (25 ppm)	APY: Fe ₂ (SO ₄) ₃ .H ₂ O(150ppm)	AHA:%3.0 ox-bile katkılı agar
AAT: Inositol	ANT: Al(NO ₃) ₃ .9H ₂ O (10 ppm)	APZ: Fe ₂ (SO ₄) ₃ .H ₂ O (50 ppm)	AHB:%5.0 ox-bile katkılı agar
AAU: D-Mannitol	ANU: ZnSO ₄ .7H ₂ O (500 ppm)	APW: Fe ₂ (SO ₄) ₃ .H ₂ O (25 ppm)	AHC:%9.0 ox-bile katkılı agar
AAV: D-Sorbitol	ANV: ZnSO ₄ .7H ₂ O (300 ppm)	APX: Fe ₂ (SO ₄) ₃ .H ₂ O 10 ppm)	AHD:%9.0 ox-bile katkılı broth
AAZ: Methyl-αD-Glucopyranoside	ANY: ZnSO ₄ .7H ₂ O (150 ppm)	ARA: FeSO ₄ .7H ₂ O(500ppm)	AIA:β-Galaktosidaz
	ANZ: ZnSO ₄ .7H ₂ O (50 ppm)	ARB: FeSO ₄ .7H ₂ O (300ppm)	ALA:Arginin Hidrolizi
	ANW: ZnSO ₄ .7H ₂ O (25 ppm)	ARC: FeSO ₄ .7H ₂ O (150ppm)	ATB: <i>L.sake</i> Lb.790
	ANX: ZnSO ₄ .7H ₂ O (10 ppm)	ARD: FeSO ₄ .7H ₂ O (50ppm)	ATC: <i>E.Faecium</i>
ABA: N-Acetylglucosamine	AOA: CoN ₂ O ₆ .6H ₂ O (500 ppm)	ARE: FeSO ₄ .7H ₂ O(25ppm)	ATD: <i>L.monocytogenes</i> Li1
ABB: Amygdaline	AOB: CoN ₂ O ₆ .6H ₂ O (300 ppm)	ARF: FeSO ₄ .7H ₂ O (10ppm)	AYA:Gram Boyama

Devam

Ek-9 Devam

Karbonhidrat Fermantasyon	Ağır Metallerle Dayanıklılık	Ağır Metallerle Dayanıklılık	Antibiyotik Duyarlılık Testi
ABC: Arbutin	AOC: $\text{CoN}_2\text{O}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (150 ppm)	ARG: NaNO_2 (500ppm)	ASA:Neomycin
ABD: Esculin	AOD: $\text{CoN}_2\text{O}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (50 ppm)	ARH: NaNO_2 (300ppm)	ASB:Polymixin B
ABE: Salicin	AOE: $\text{CoN}_2\text{O}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (25 ppm)	ARI: NaNO_2 (150ppm)	ASC:Novobiocin
ABF: D-Celiobiose	AOF: $\text{CoN}_2\text{O}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (10 ppm)	ARK: NaNO_2 (50ppm)	ASD:Ampicillin
ABG: D-Maltose	AOG: $\text{CdN}_2\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm)	ARL: NaNO_2 (25ppm)	ASE:Bacitracin
ABH: D-Lactose	AOH: $\text{CdN}_2\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (300 ppm)	ARM: NaNO_2 (10ppm)	ASF:Kanamycin
ABI: D-Melibiose	AOI: $\text{CdN}_2\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (150 ppm)		ASG:Streptomycin
ABK: D-Saccharose	AOK: $\text{CdN}_2\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (50 ppm)		ASH:Penicillin G
ABL: D-Trehalose	AOL: $\text{CdN}_2\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (25 ppm)		ASI:Tetracycline
ABM: Inulin	AOM: $\text{CdN}_2\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (10 ppm)		ASK:Rifampicin
ABN: D-Melezitose	AON: $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (500 ppm)		ASL:Erythromycin
ABO: D-Raffinose	AOO: $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (300 ppm)		ASM: Chloramphenicol
ABP: Amidon	AOP: $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (150 ppm)		ASN:Novobiocin
ABR: Glycogen	AOR: $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (50 ppm)		ASO:Rifamycin
ABS: Xylitol	AOS: $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (25 ppm)		ASP:Vancomycin
ABT: Gentiobiose	AOT: $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (10 ppm)		ASR:Gentamicin
ABU: D-Turanose	AOU: AgNO_3 (500 ppm)		
ABV: D-Lyxose	AOV: AgNO_3 (300 ppm)		
ABY:D-Tagatose	AOY: AgNO_3 (150 ppm)		
ABZ:D-Fucose	AOZ: AgNO_3 (50 ppm)		
ACD: L-Fucose	AOW: AgNO_3 (25 ppm)		
ACE: D-Arabitol	AOX: AgNO_3 (10 ppm)		
ACF: L-Arabitol	APA: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (500 ppm)		
ACG: Potassium Gluconate	APB: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (300 ppm)		
ACH: Potassium 2-Ketogluconate	APC: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (150ppm)		
ACI: Potassium 5-Ketogluconate	APD: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (50ppm)		

ÖZGEÇMİŞ

Özlem ERTEKİN, 1979 yılında İstanbul'da doğdu. İlköğrenimini K.Maraş'ta, orta ve lise öğrenimini Denizli'de tamamladı. 2000 yılında başlamış olduğu Mersin Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden, 2004 yılında 'fakülte birincisi' olarak mezun oldu. 2005 yılında Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği ABD'nin açmış olduğu yüksek lisans sınavında başarılı oldu. Halen aynı anabilim dalında yüksek lisans eğitimine devam etmektedir.