



## Probiyotik Özellikte Üç Farklı Laktik Asit Bakterileri Grubu Suşunun Koloni Büyüme Eğrilerinin Modifiye Edilmiş Gompertz Modeli İle Modellenmesi

<sup>a</sup>Oğuz AĞYAR\*, <sup>b</sup>Fatih ÜÇKARDEŞ

<sup>a</sup>Adıyaman Üniversitesi, Kahta Meslek Yüksek Okulu, Veterinerlik Bölümü, , Adıyaman

<sup>b</sup>Adıyaman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi, Adıyaman

\*Sorumlu yazar:oagyar@adiyaman.edu.tr

Geliş Tarihi: 03.03.2014

Düzeltilme Geliş Tarihi: 08.07.2014

Kabul Tarihi: 09.07.2014

### Özet

Bu çalışmanın amacı yaygın olarak kullanılan probiyotik özellikte Laktik Asit Bakterileri (LAB) grubu üç farklı suşunun "*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus crispatus* ve *Lactobacillus rhamnosus*" GM17 ve MRS besi ortamlarında sırası ile 30°C ve 37°C' de 96 saatlik koloni büyümeleri spektrofotometride OD (A600) ölçülmüş ve modifiye edilmiş Gompertz modeli ile modellenmesi sonucunda bu suşların koloni büyüme, maksimum bakteri büyüme hızı ve maksimum büyüme hızına ulaştığı süreleri araştırılmıştır. Bununla birlikte, modifiye edilmiş Gompertz modelinin parametreleri kullanılarak hangi bakteri türünün ortamda daha baskın olabileceği belirlenmeye çalışılmıştır. Modifiye edilmiş Gompertz modeli sonucunda *L. crispatus* (A=1.773) bakteri suşunun maksimum büyüme miktarı sırasıyla, *L. rhamnosus* (A=1.542) ve *L. acidophilus* (A=1.397) bakteri suşlarından daha fazla olduğu belirlenmiştir (P<0.05). Bununla birlikte, *L. crispatus* bakteri suşunun maksimum büyüme hızı diğer iki suşa göre daha yüksek bulunmuştur (P<0.05). Maksimum hıza ulaşma süresi daha kısa olmasına rağmen, bu hızlar arasında önemli bir farklılık olmamıştır (P>0.05). *L. acidophilus* (R<sup>2</sup>=0.9972) ve *L. rhamnosus* (R<sup>2</sup>=0.9911) suşları modifiye edilmiş, Gompertz modeline *L. crispatus* (R<sup>2</sup>=0.9868) suşuna göre daha iyi uyum göstermiştir (P<0.05). Çalışmanın sonucunda *L. crispatus* bakteri suşunun diğer bakteri suşlarına göre ortamda daha baskın olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Laktik Asit Bakterisi, Bakteri Büyüme Eğrisi, modifiye edilmiş Gompertz model, *L. acidophilus*, *L. crispatus*, *L. rhamnosus*

### Modeling with Modified Gompertz Model of Three Different Lactic Acid Bacteria Group Strains Having Probiotic Features

#### Abstract

The purpose of this study, the reached durations of colony growth, growth rate and maximum bacterial growth rate were investigated that *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus crispatus* and *Lactobacillus rhamnosus* of commonly used probiotics property LAB's three different strains which were measured at respectively 30°C and 37°C for the 96 hour colony growths OD (A600) in the GM17 and MRS stocks were modelled with modified Gompertz model strains. At the same time, as using modified Gompertz model parameters were tried to be determined which species of bacteria may be more dominant. As a result of modified Gompertz model, the amount of the maximum growth of *L. crispatus* (A=1.773) bacteria type was respectively found to be much more than *L. rhamnosus* (A=1542) and *L. acidophilus* (A=1.397) bacterial species (P<0.05). However, the maximum growth rate of *L. crispatus* type bacteria was higher than other bacterial species (P<0.05). Although there was shorter time to reach the maximum speed, this was not a significant difference between the speeds (P>0.05). *L. acidophilus* (R<sup>2</sup>=0.9972), and *L. rhamnosus* (R<sup>2</sup>=0.9911) species showed better compliance than *L. crispatus* (R<sup>2</sup>=0.9868) type to modified Gompertz model (P <0.05). As a result, of the strain of *L. crispatus* was more dominant than the other bacterial strains in the media.

**Key words:** Lactic Acid Bacteria, Bacterial Growth Curve, modified Gompertz model, *L. acidophilus*, *L. crispatus*, *L. rhamnosus*

## Giriş

Doğrusal olmayan modeller bakteriyel koloni büyümesi tahmininde son yirmi yılda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu modellerin yaygın olarak kullanılmasına Zwietering ve ark. (1990) çok büyük katkısı olmuştur. Bu araştırmacılar Gompertz, Lojistik, Richards, Stannard ve Schunute modellerini bakterinin maksimum büyüme miktarı, maksimum büyüme hızı ve maksimum büyüme hızına ulaştığı süreyi veren yeni parametrelerle modifiye etmeleriyle bu alandaki çalışmalar ivme kazanmıştır. Özellikle günümüzde Lu ve ark. (2007), Fujikawa (2011) ve Li ve ark. (2013) gibi birçok araştırmacılar son yıllarda modifiye edilmiş bu modelleri başta gıda olmak üzere ormancılık, tarım ve hayvancılık gibi birçok farklı disiplinlerde kullanmışlardır (Alexandrov, 2008).

Buzrul, (2014) yapmış olduğu çalışmada yüksek hidrostatik basınç uygulayarak, hayvansal gıdalarda bulunan *Listeria monocytogenes* bakterisinin doğrusal olmayan 6 farklı büyüme eğrisini 9 farklı model kullanarak tanımlanması yaparak mikroorganizmalarda kullanılabilecek modeller olabileceğini göstermiştir. Kološta ve ark. (2014) koyun ve keçi sütünden izole ettikleri beş *Lactobacillus* suşu üzerinde yaptıkları çalışmanın farklı konsantrasyonda NaCl ilaveli besiyerlerinde bakteri koloni büyüme eğrilerinin modellenmesinin spesifik büyüme oranlarını ve lag fazlarını Gompertz modeli ile hesaplamışlardır.

Bu çalışmada özellikle gıda alanında besinlerin biyoyararlılığını arttırmada, fermentasyonla elde edilen ürünlere aromatik çeşit bakımından zenginleştirmede ve yanı sıra hayvancılıkta gastrointestinal sistemin düzenlenmesinde ve benzeri birçok disiplinde yaygın kullanılan probiyotik özellikteki LAB grubunun üç farklı suşunun "*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus crispatus* ve *Lactobacillus rhamnosus*" besi ortamlarında çoğaltılarak saatlik koloni büyümelerinin modifiye edilmiş Gompertz modeli ile modellenmesi ve bu suşların koloni büyüme, maksimum bakteri büyüme hızı ve maksimum büyüme hızına ulaştığı süreleri araştırılmıştır. Bununla birlikte, Gompertz modelinin parametreleri kullanılarak hangi bakteri türünün ortamda daha baskın olabileceği belirlenmeye çalışılmıştır.

## Materyal ve Metot

### Materyal

Çalışmada *L. acidophilus*, *L. crispatus* ve *L. rhamnosus* LAB suşları kullanılmıştır.

### Bakteriyel Besi Yeri, LAB İzolasyonu ve Seyreltme

*L. crispatus* suşları MRS (De Man Rogosa and Sharpe) Agar besi yerlerinde büyütüldü (De

Man ve ark., 1960). *L. rhamnosus* ve *L. acidophilus* suşları GM17 besi yerinde büyütülmüştür (Terzaghi ve Sandine, 1975). LAB, GM17 ve MRS besi ortamında geliştirildiler. GM17 ve MRS besi ortamları otoklav (Nüve; OT4060) ile 110°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. *L. crispatus* suşları için MRS besi ortamında ve 37°C'de, *L. rhamnosus* ve *L. acidophilus* suşları için GM17 besi ortamında ise 30°C'de inkübe (Nüve; EN110) edildi. 50 ml'lik sıvı GM17 ve sıvı MRS besi yerlerine fermente ürünlerden; silaj örneklerinden 5 gr., sucuktan 20 gr., ravandadan 500 µl miktarlarda alınarak inoküle edildi. GM17 için 30°C ve MRS için 37°C de inkübasyona bırakılmıştır. Bu inkübasyon koşulları altında 24 saat geçirtildikten sonra mikrobiyal aktivitenin olduğu gözlenmiştir. Bu stok kültürlerden 100 µl alınarak 900 µl sterildistile su ilave edilip mikroorganizmaların homojen dağılımı sağlanarak 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-6</sup> 'ya kadar seyreltmeler yapılmıştır. Yapılan seyreltme işlemi ve katı besi yerlerine inokülasyonları yapıldı. MRS agar ve GM17 agar petrilere inoküle edilerek 30°C ve 37°C inkübasyona bırakılmıştır.

### Kimyasal ve Moleküler Tanımlamalar

#### Gram Boyama ve Katalaz Testi

İzole edilen muhtemel LAB'lar Gram (1884) tekniği ile boyanmış, günümüzde kullanılan boyalar kullanılarak modifiye edilmiştir. Katalaz testi için katı besi yerinde büyütülen mikroorganizma kolonilerine %30'luk hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) muamele edilmiştir (Hammes ve Vogel, 1995).

### Koloni Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

*Lactobacillus* cinsi bakteri suşlarını moleküler genetik bakımdan tanımlama amacıyla koloni PZR yapılmıştır. Seçici petrilere 24 saat inkübe edilmiş olan koloniler öze yardımıyla seçilerek 10µl dH<sub>2</sub>O içerisine çözdürülmüştür. PZR işlemi yapılmıştır. Kalıp DNA yerine 1µl koloni kullanılmıştır. PZR ile pozitif sonuç veren kolonileri, stoklanmak için sonraki çalışmalarda kullanılması amacıyla sıvı besi yerine alınmıştır.

### PZR Koşulları

PZR amplifikasyonu 95°C'de 4 dakika tutularak ilk ayrıştırma ile başlatılmış daha sonra 35 döngü olmak üzere 94°C'de 1 dakika tutularak denatürasyon, türe özgü tasarlanmış spesifik primerler için uygun yapışma sıcaklıklarında 1 dakika tutularak uygun sentez zamanı boyunca gerçekleştirilmiştir. Türe özgü tasarlanmış spesifik primerlerin uygun sıcaklıkları ve PZR koşulları dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir.

### Bakteri Büyümesi (A600)

Saflaştırılmış olan *L. crispatus* suşları 5 ml' lik sıvı MRS besi yerine, *L. acidophilus* ve *L. rhamnosus* suşlarının ise 5 ml' lik sıvı GM17 besi yerine, katı besi yerlerindeki kolonilerinden öze yardımı ile alınarak kolonileri yeterli büyüklüğe getirmek üzere ekimleri yapılarak inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon şartları MRS besi yeri için 37°C, GM17 için 30°C olarak belirlenmiştir. Bu şartlarda 4 saatlik inkübasyonun ardından 5 ml' lik besi yerlerin 200 µl alınarak 50 ml' lik sıvı MRS ve GM17 besi yerlerine ekimleri yapıp aynı inkübasyon şartlarına bırakılmıştır. Spektrofotometride 96 saatlik bakteri büyüme ölçümleri 600 λ dalga boyunda gerçekleştirildi. Ölçümleri ilk 10 saati birer saat arayla yapıp sonraki ölçümleri 20., 24., 48. ve 96. saatlerde gerçekleştirilmiştir.

### Modifiye Edilmiş Gompertz Model

Bu çalışmada Zwietering ve ark. (1990) tarafından bakterilerin büyümesini tanımlamak için modifiye edilmiş Gompertz modeli kullanılmıştır. Modifiye edilmiş Gompertz modeli,

$$Y = A \exp \left\{ - \exp \left[ \frac{\mu \exp(1)}{A} (\lambda - t) + 1 \right] \right\}$$

şekindedir. Burada, A: maksimum bakteri büyümesini,  $\mu$ : Maksimum büyüme hızı,  $\lambda$ :maksimum büyüme hızına ulaştığı süreyi ve t: inkübasyon zamanını göstermektedir. Saatlik dilimlerdeki bakteri büyüme farklılıklarını belirlemek için Tek yönlü Varyans Analizi SPSS15.0 programı yardımıyla yapılmıştır (SPSS 2002). Gruplar arası farklılıklar için Tukey ikili karşılaştırma testi kullanılmıştır (Pearse ve Hartley, 1966). Modifiye edilmiş Gompertz modeli bu verilere uyarlanması Levenberg-Marquardt algoritmasını kullanan GraphPad5.0 programı ile yapılmıştır (Motoulsky ve Ransnas, 1987; GraphPad, 2007). Sonuçlar ortalama ve standart sapma olarak verilmiştir. P değeri <0.05 istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir.

### Sonuçlar ve Tartışma

Zwietering et al. (1990) yapmış olduğu çalışmasında bakteri büyümesinin modellenmesinde beş farklı modeli amaca yönelik olarak modifiye etmiş bu modeller içinde en iyi uyumu Gompertz modeli göstermiştir. Bu çalışmada Zwietering ve ark. (1990) yılında önerdiği ve modifiye ettiği Gompertz modeli bakteri büyümesi tanımlamak için kullanılmıştır.

Üç farklı bakteri suşuna ait zamana bağlı bakteri artışı ve modifiye edilmiş Gompertz modelinden elde edilen parametre tahminleri Çizelge 1'de verilmiştir. *L. crispatus* bakteri suşu *L. acidophilus* ve *L. rhamnosus* türü bakteri suşlarına göre farklı zaman dilimlerindeki bakteri artış miktarı önemli bulunmuştur (P<0.05; P<0.01; P<0.001).

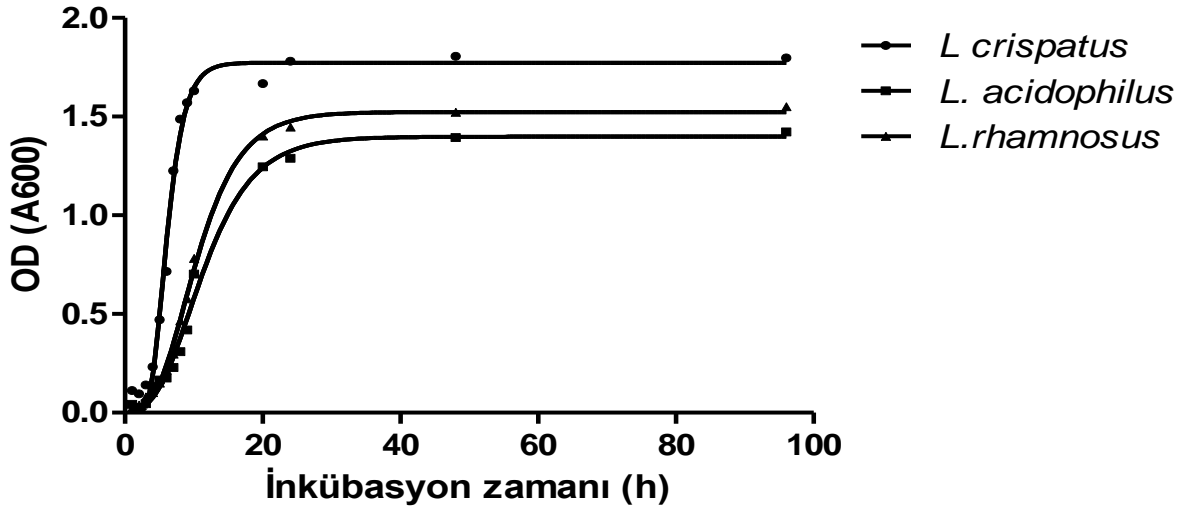
Çizelge 1 ve Şekil 1'de, modifiye edilmiş Gompertz modeli sonucunda *L. crispatus* (A= 1.773) bakteri suşunun maksimum büyüme miktarı sırasıyla, *L. rhamnosus* (A=1.524) ve *L. acidophilus* (A=1.397) bakteri suşlarından daha fazla olduğu belirlenmiştir (P<0.05). Bununla birlikte, *L. crispatus* türü suşunun maksimum büyüme hızı diğer bakteri suşlarına göre daha yüksek bulunmuştur (P<0.05). Maksimum hıza ulaşma süresi daha kısa olmasına rağmen, bu hızlar arasında önemli bir farklılık bulunamamıştır (P>0.05). Bu sonuca bakıldığında *L. crispatus* bakteri suşunun diğer bakteri suşlarına nazaran ortamda daha baskın olacağı düşünüldü. *L. acidophilus* (R<sup>2</sup>= 0.9911) ve *L. rhamnosus* (R<sup>2</sup>= 0.9972) suşları Gompertz modeline *L. crispatus* (R<sup>2</sup>= 0.9868) suşuna göre daha iyi uyum göstermiştir (P<0.05).

Zwietering ve ark. (1990) yılında bir bakterinin büyüme modeli ile modellenmesi ile başlangıç zamanındaki bakteri sayısı, en yüksek bakteri yoğunluğuna ulaştığı süre ve sonunda en yüksek ulaşabileceği bakteri yoğunluğun bilinmesinin önemini vurgulamıştır. Bununla birlikte, Mytilinaios ve ark. (2012) yapmış oldukları çalışmada mikrobiyolojide koloni büyümesi tahmininin önemini vurgulamışlardır. Aynı araştırmacılar Gompertz, Lojistik gibi modelleri kullanarak büyüme eğrileri oluşturulmuş suşların standart bir OD değer üzerinden daha spesifik büyüme eğrisi modeli oluşturulabileceğini ortaya koymuşlardır. Bir diğer çalışmada Gil ve ark. (2006) gıda üretiminde fermantasyonda kullanılan çeşitli sıcaklık ve zaman koşullarının bakteri suşları üzerindeki inaktivasyon davranışlarını modifiye Gompertz modeli kullanılarak belirlenebileceğini göstermişlerdir. Lu ve ark. (2007) farklı sıcaklıklar altında yaş sebze depolamada bakterilerin sebep olduğu kayıpların azaltılmasına yönelik yapmış oldukları bir çalışmada düşük sıcaklıkta bakterilerin lag fazının daha uzun olduğunu ve bunun da yaş sebzelerin raf ömürlerini uzatabileceğini en iyi modifiye edilmiş Gompertz modeli ile tahminlemeyi başardıklarını bildirmişlerdir.

**Çizelge 1.** Besi yerlerinde inkübe edilen *L. crispatus*, *L. acidophilus* ve *L. rhamnosus* suşlarının zamana bağlı artış yoğunluğu

İnkübasyon süresi (h)	<i>L. crispatus</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>L.rhamnosus</i>	Significance
1	0.113a ± 0.015	0.043b ± 0.013	0.024b ± 0.014	*
2	0.096a ± 0.002	0.025b ± 0.003	0.040b ± 0.016	**
3	0.140a ± 0.014	0.045b ± 0.017	0.081ab ± 0.014	*
4	0.233a ± 0.001	0.134b ± 0.021	0.102b ± 0.005	**
5	0.471a ± 0.009	0.166b ± 0.019	0.150b ± 0.004	***
6	0.715a ± 0.048	0.176b ± 0.031	0.216b ± 0.004	***
7	1.225a ± 0.009	0.229c ± 0.021	0.298b ± 0.008	***
8	1.487a ± 0.003	0.309c ± 0.017	0.465b ± 0.009	***
9	1.571a ± 0.011	0.420c ± 0.004	0.578b ± 0.017	***
10	1.631a ± 0.019	0.703b ± 0.001	0.783b ± 0.029	***
20	1.667a ± 0.026	1.246c ± 0.025	1.403b ± 0.015	***
24	1.781a ± 0.046	1.289c ± 0.028	1.447b ± 0.010	***
48	1.806a ± 0.043	1.394c ± 0.005	1.522b ± 0.016	***
96	1.797a ± 0.033	1.422c ± 0.013	1.551b ± 0.010	***
Gompertz modeli ile tahmin edilen parametreler				
A	1.773a ± 0.032	1.397c ± 0.015	1.524b ± 0.010	***
μ	0.374a ± 0.007	0.105b ± 0.009	0.129b ± 0.008	***
λ	3.717 ± 0.071	4.407 ± 0.474	4.337 ± 0.175	ns
Uyum iyiliği				
R <sup>2</sup>	0.9868b ± 0.003	0.9911ab ± 0.0005	0.9972a ± 0.0003	*

a.b.c: Aynı satırdaki farklı harfler grup farklılıklarını gösterir ( $P < 0.05$ ). ns:  $P > 0.05$ ; \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; \*\*\*:  $P < 0.001$ ; A: maksimum büyüme miktarı; μ: maksimum büyüme hızı; λ: Maksimum büyüme hızına ulaştığı süre

**Şekil 1.** Gompertz modeli kullanarak üç farklı bakteri suşunun farklı zamanlardaki bakteri artış grafiği

Bu çalışmanın sonucunda *L. crispatus* bakteri suşunun *L. acidophilus* ve *L. rhamnosus* bakteri suşlarına göre ortamda daha baskın olduğu belirlenmiştir. Eğer ortamda bakterinin hızlı bir büyüme ve daha fazla yoğunlukta bir bakteri arzu ediliyorsa bu bakterilerden *L. crispatus* bakteri türü seçilmelidir.

Özellikle gıda ve yem sanayinde fermente ürünlerin üretiminde kullanılan suşların büyüme eğrilerinin tahminlenmesi çalışmaları ile elde edilen verilerin, üretilecek ürünün kalitesinin belirlenmesinin, yeterli işleme kapasitesinin ve güvenilirliğinin dizayn edilmesinde imkanlar sunması beklenebilir.

**Kaynaklar**

- Alexandrov, G. A., 2008. Forest growth in the light of the thermodynamic theory of ecological 466 systems. *Ecological Modelling*, 216: 102 – 106.
- Buzrul, S., 2014. Hayvansal gıdalarda bulunan *Listeria monocytogenes*'in yüksek hidrostatik basınç altında yaşam eğrilerinin tanımlanması üzerine bir derleme. *Kafkas Üniversitesini Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20 (2): 321-327
- Corbo, M. R., Del Nobile, M. A., Sinigaglia, M., 2006. A novel approach for calculating shelf life of minimally processed vegetables. *International Journal of Food Microbiology*, 106: 69-73
- De Man, J.D., Rogosa, M., A. Sharpe, M.E., 1960. A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, 23; 130-135.
- Frece, J., Kos, B., Svetec, I. K., Zgaga, Z., Mrsa, V., Suskovic, J., 2005. Importance of S-layer proteins in probiotic activity of *Lactobacillus acidophilus* M92. *Journal of Applied Microbiology*, 98: 285–292.
- Fujikawa, H., 2011. Application Of New Logistic model to microbial growth prediction in food. *Biocontrol Science*, 16 (2): 47-54
- Gil, M. M., Brandão, T. R. S., Silva, C. L. M., 2006. A modified Gompertz model to predict microbial inactivation under time-varying temperature conditions. *Journal Of Food Engineering*, 76 (1): 89–94
- Gram, H. C. J., 1884. Über die Isolierungsfärbung der schizomyeten in schnitt- und trockenpräparaten, *Fortschritte der Medizin*, 2: 185–189.
- GraphPad 5, 2007. Prism 5 Statistics Guide. GraphPad Software Inc. San Diego. CA.
- Grill, J. P., Manginot-Dtirr, C., Schneider, F., Ballongue, J., 1995. Bifidobacteria and Probiotic Effects: action of bifidobacterium species on conjugated bile salts. *Current Microbiology*, 31: 23-27.
- Hammes, W.P., Vogel, R.F., 1995. *The genus Lactobacillus. In The Genera of Lactic Acid Bacteria*. Wood B. J. B. and Holzapfel W. H. (Eds), Chapman&Hall, London, 19-54s.
- Kološta, M., Slottová, A., Drončovský, M., Klapáčová, L., Kmeť, V., Bujňáková, D., Lauková, A., Greif, G., Greifová, M., Tomáška, M., 2014. Characterisation of lactobacilli from ewe's and goat's a milk for their further processing re-utilisation. *PotravinarstvoScientificJournalforFoodIndustry*, 8 (1): 130-134.
- Kim J. W. ve Rajagopal S. N., 2001. Antibacterial activities of *Lactobacillus crispatus* ATCC 33820 and *Lactobacillus gasserii* ATCC 33323. *Journal of Microbiology*, 39: 146–148.
- Li, M. Y., Sun, X. M., Zhao, G. M., Huang, X. Q., Zhang, J. W., Tian, W. and Zhang, Q. H., 2013. Comparison of mathematical models of lactic acid bacteria growth in vacuum-packaged raw beef stored at different temperatures. *Journal of Food Science*, 78: 600–604.
- Lu, Z., Zhang, L., Lu, F., Bie, X., Yu, Z., 2007. Model of microbial growth on fresh-cut lettuce treated with chlorinated water during storage under different temperatures. *Journal of Food Process Engineering*, 29: 106–118.
- Mestecky et al., J., 2005. *Mucosal Immunology*, "Alınmıştır: Elsevier Academic Press. (3.ed), USA, 2064 s.
- Motulsky, H. J., Ransnas, L. A., 1987. Fitting curves to data using non-linear regression: a practical and non-mathematical review. *Faseb Journal*, 1, 365–374.
- Mytilinaios, I., Salih, M., Schofield, H. K., Lambert, R. J. W., 2012. Growth curve prediction from optical density data. *International Journal of Food Microbiology*, 154 (3): 169–176
- Pearse, E. S. ve Hartley, H. O., 1966. *Biometrikatables for statisticians*. "Alınmıştır: Cambridge University Press, UK, 1-270.
- SPSS, 2002. Statistical Package for Social Sciences (SPSS 11.5 for windows). Chicago, IL, USA.
- Terzaghi, B. E. ve Sandine, W. E., 1975. Improved medium for lactic, streptococci and their bacteriophages. *Applied Microbiology*, 29: 807–813.
- Tuomola, E. M., Salminen S. J., 1998. Adhesion of some probiotic and dairy *Lactobacillus* strains to Caco-2 cell cultures. *International Journal of Food Microbiology*, 41: 45–51.
- Zwitering, M. H., Jongenburger, I., Rombouts, F. M., Van't, R. K., 1990. Modelling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology*, 56 (6): 1875–1981.