



**YOĞURT KAYNAKLI LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN STARTER KÜLTÜR
VE EKZOPOLİSAKKARİT ÜRETİM
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Seda YILDIZ

**Yüksek Lisans Tezi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Prof. Dr. Bülent ÇETİN
2019
Her hakkı saklıdır**

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**YOĞURT KAYNAKLI LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN
STARTER KÜLTÜR VE EKZOPOLİSAKKARİT ÜRETİM
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Seda YILDIZ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ERZURUM
2019**

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

**YOĞURT KAYNAKLI LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN STARTER
KÜLTÜR VE EKZOPOLİSAKKARİT ÜRETİM ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

Prof. Dr. Bülent ÇETİN danışmanlığında, Seda YILDIZ tarafından hazırlanan bu çalışma 05/08/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak ~~oybirliği/oy çokluğu~~ (3./3) ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Mustafa ŞENGÜL

İmza : M. Şengül

Üye : Prof. Dr. Bülent ÇETİN

İmza : B. Çetin

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Yunus Emre TUNÇİL

İmza : Y. E. Tunçil

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulunun 23.../08.../2019... tarih ve 33.../69... nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet KARAKAN Y.
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YOĞURT KAYNAKLI LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN STARTER KÜLTÜR VE EKZOPOLİSAKKARİT ÜRETİM ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Seda YILDIZ

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Bülent ÇETİN

Laktik asit bakterileri, başta yoğurt olmak üzere birçok gıdanın fermentasyonunda starter olarak önemli rol almaktadır. Starter kültür olarak kullanılabilmesi için karbonhidrat metabolizmalarının, asit üretme yeteneklerinin, gelişme koşullarının, tuza dayanıklılıklarının, EPS üretimi ve aroma bileşikleri oluşturma özelliklerinin araştırılması gerekmektedir. Yapılan çalışmada daha önceden yoğurt örneklerinden izole edilmiş ve genetik olarak tanı testleri gerçekleştirilmiş 99 adet suşun starter kültür özellikleri incelenmiştir. Bu amaçla suşların farklı sıcaklık, pH, farklı tuz konsantrasyonlarında gelişime, asit üretme, arginin hidrolizi, glukozdan gaz oluşturma yetenekleri ve EPS üretim kabiliyetleri test edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda 10°C’de gelişim görülmemişken 15°C’de 6 suşun zayıf geliştiği, 45°C’de ise tüm suşlarda gelişim olduğu tespit edilmiştir. Tüm suşların %15,2’sinin pH 3,9’da, tümünün pH 5’te geliştiği, diğer taraftan pH 2,5, 8,5 ve 9,6’da ise hiçbirinin gelişmediği gözlemlenmiştir. Kullanılan suşların %13,3’ünün farklı tuz konsantrasyonlarında gelişebildiği belirlenmiştir. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının asit üretim miktarları ve pH değerlerinin 48 saatin sonunda 0.88-1.53 % Laktik asit (% L.A.), pH değerinin ise 3.63-5.08 arasında değiştiği saptanmıştır. *Str. thermophilus* suşlarının asit üretim miktarları ve pH değerlerinin 48 saat sonunda asit üretim miktarlarının 0.37-1.30 % L.A., pH değişimlerinin ise 3.89-6.89 arasında olduğu bulunmuştur. Kullanılan suşların %28,3’ünün EPS üretebilme yeteneğine sahip olduğu ortaya konulmuştur.

2019, 69 sayfa

Anahtar Kelimeler: yoğurt, starter, laktik asit bakterileri

ABSTRACT

Master's Thesis

INVESTIGATION OF STARTER CULTURE AND EXOPOLYSACCHARIDE PRODUCTION CHARACTERISTICS OF YOGHURT DERIVED LACTIC ACID BACTERIA

Seda YILDIZ

Atatürk University
Graduate School of Naturel and Applied Sciences
Department and Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Bülent ÇETİN

Lactic acid bacteria play an important role as a starter culture in fermentation of many foods, especially yoghurt. In order to be used as a starter culture, the carbohydrate metabolism of lactic acid bacteria, their ability to produce acid, their resistance to salt and contribution to the aroma compounds should be investigated. Moreover lactic acid bacteria that are chosen to be used in yoghurt production should be tested for their ability to produce during fermentation, because exopolysaccharides have ability to improve viscosity, texture and to prevent syneresis by increasing water retention. In this study, starter culture characteristics and EPS production abilities of genetically identified 99 strains isolated from yoghurt samples were investigated. For this purpose, 99 strains were tested at different temperatures, pH, salt levels, acid production, arginine hydrolysis, gas production from glucose and EPS production capabilities. Our results revealed, that none of the strains grew at 10°C and only 6 strains grew at 15°C, whereas all strains had ability to grow at 45°C. 15.2% of the strains grew at pH 3.9, however, all strains grew at pH 5, showing no growth at pH 2.5, pH 8.5 and pH 9.6. It was determined that 13.3% of the strains used were able to tolerate different salt concentrations. Lactic acid production amounts and pH value of *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains at the end of 48 hours were found as 0.88-1.53 L.A.% and 3.63-5.08 respectively. Acid production amounts and pH values for *Str. thermophilus* strains were detected between 0.37-1.30 L.A. % and 3.89-6.89 at the end of 48 hours. It was found that 28.3% of the strains used have capable of producing EPS.

2019, 69 pages

Keywords: yoghurt, starter, lactic acid bacteria

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin hazırlık aşamasında, verilerinin toplanması, planlanması ve bu verilerle analizler yapılması ve sonuçlandırılması sürecinde maddi ve manevi her yönden katkılarını esirgemeyen çok kıymetli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Bülent ÇETİN'e,

Her daim yanımda olan çok kıymetli eşim ve oğluma,

Tez çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan değerli Arş. Gör. Haktan AKTAŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Seda YILDIZ

Ağustos, 2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. Laktik Asit Bakterileri.....	5
1.1.1. <i>Lactobacillus</i> cinsi bakteriler	8
1.1.2. <i>Streptococcus</i> cinsi bakteriler.....	10
1.2. Yoğurtta Starter Kültür Olarak Kullanılan Laktik Asit Bakterileri.....	12
1.2.1. <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	12
1.2.2. <i>Str. thermophilus</i>	14
1.2.3. <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ve <i>Str. thermophilus</i> 'un birlikte gelişmesi	16
1.3. EPS'lerin Genel Özellikleri ve EPS Üreten Laktik Asit Bakterileri	18
1.3.1. EPS üretimini etkileyen faktörler	21
1.3.2. EPS'lerin gıda teknolojisi açısından önemi.....	21
1.4. Real-Time PCR Yöntemi ile Analiz.....	23
2. KAYNAK ÖZETİ.....	25
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	33
3.1. Materyal.....	33
3.2. Yöntem	33
3.2.1. İzolatların aktivasyonu ve saflıklarının kontrolü.....	33
3.2.2. İzolatların makroskopik ve mikroskopik incelemesi.....	33
3.2.3. Arginin hidrolizi	34
3.2.4. Glikozdan gaz oluşumu	34
3.2.5. Farklı sıcaklıklarda gelişme yetenekleri.....	35
3.2.6. Farklı pH değerlerinde gelişme yetenekleri	36

3.2.7. Farklı tuz konsantrasyonlarındaki gelişme yetenekleri	37
3.2.8. Laktik asit bakterilerinin asit üretme yetenekleri ve hız belirlenmesi.....	37
3.2.9. EPS üretiminin Real-Time PCR yöntemi ile belirlenmesi	38
3.2.9.a. İzolatlardan DNA izolasyonu	38
3.2.9.b. RT-PCR tekniği.....	39
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	40
4.1. Biyokimyasal Özellikler	40
4.2. LAB'lerinin Asit Üretme Yetenekleri	49
4.3. EPS Üretme Yeteneği.....	54
5. SONUÇ	59
KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİŞ	70

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

μL	Mikrolitre
μm	Mikrometre
g	Gram
L	Litre
m	Metre
mg	Miligram
mL	Mililitre
°C	Santigrat Derece
pH	Asitlik Bazlık Birimi (Power of hydrogen)
s	Saniye

Kısaltmalar

EPS	Ekzopolisakkarit
FDA	Food And Drug Administration
GRAS	Generally Recognized As Safe
HCl	Hidroklorik Asit
HePs	Heteropolisakkarit
HoPs	Homopolisakkarit
LAB	Laktik Asit Bakterileri
NaCl	Sodyum Klorür
NaOH	Sodyum Hidroksit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> 'un elektron mikroskopundaki görüntüsü	13
Şekil 1.2. <i>Str. thermophilus</i> 'un elektron mikroskopundaki görüntüsü	15
Şekil 3.1. Farklı sıcaklık derecelerinde gelişme yeteneği testinde kullanılan plate.....	35
Şekil 3.2. Farklı pH değerlerinde gelişme yeteneği testinde kullanılan plate.....	36
Şekil 4.1. Glukozdan gaz oluşumu test sonuçları	46
Şekil 4.2. Arginin hidrolizi testi yapılan ve pozitif sonuç veren 26M2 (solda) ve negatif sonuç veren 50M1 (sağda) suşları	46
Şekil 4.3. İzolatların EPS üretim yeteneklerine ait qPCR ile tespit edilmeye çalışılan temsili pikler.....	54

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Yoğurdun bileşimi	3
Çizelge 1.2. <i>Lactobacilus</i> türlerinin gruplandırılması	9
Çizelge 1.3. LAB'leri tarafından üretilen homopolisakkaritler	19
Çizelge 1.4. Ekzopolisakkarit üretebilen laktik asit bakterileri	20
Çizelge 4.1. <i>Str. thermophilus</i> suşlarının morfolojik ve biyokimyasal özellikleri	41
Çizelge 4.2. <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> suşlarına ait morfolojik ve biyokimyasal özellikler	44
Çizelge 4.3. <i>Str. thermophilus</i> suşlarının farklı inkübasyon sürelerinde asit üretim miktarları.....	50
Çizelge 4.4. <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> suşlarının farklı inkübasyon sürelerine ait asit üretim miktarları	52
Çizelge 4.5. <i>Str. thermophilus</i> suşlarının EPS üretme yetenekleri	55
Çizelge 4.6. <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> suşlarının EPS üretme yetenekleri.....	56

1. GİRİŞ

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği (2009)'ne göre yoğurt; fermentasyonda *Streptococcus thermophilus* (*Str. thermophilus*) ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* (*Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)'un simbiyotik kültürlerinin kullanıldığı fermente bir süt ürünü olarak tanımlanmaktadır.

Yoğurt, insan beslenmesinde kullanılmasının yanında insan sağlığına yararlı etkilerinin olması nedeniyle dünyada geniş çapta tüketici kabul edilebilirliğine sahip en popüler fermente süt ürünlerinden biridir (Weerathilake *et al.* 2014). Dünyada yoğurt üretiminin nasıl keşfedildiği henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bunun yanında arkeolojik çalışmalar, yoğurt üretiminin insanların gıda toplayıcısı konumundan gıda üreticisi durumuna geçtikleri dönemden (M.Ö. 5000-10000 arası) beri bilindiğini göstermektedir. Mezopotamya'da keçinin ilk olarak evcilleştirilmeye başlandığı dönemlerde (M.Ö. 5000) yoğurt üretiminin de gerçekleştirildiği bildirilmektedir (Özer 2006).

Neolitik dönemlerde, göçebe yaşayan kavimlerin hayvan derisinden elde edilen tulumlarda veya toprak kaplarda sakladıkları bildirilen sütlerin ortam sıcaklığının yükselmesi ile kendiliğinden fermente olduğu ve yoğurda benzer bir ürünün meydana geldiği bilgisi günümüz fermente süt ürünlerinin başlangıç noktası olarak görülmektedir. Açık kaplarda ateş üzerinde pişirilen süten daha aromatik ve viskoz bir ürünün oluşması ve meydana gelen bu ürünün kullanım süresinin uzun olması fermente süt ürünlerinin gelişimine yön vermiştir (Kosikowski 1977; Kocaadam ve Acar-Tek 2016).

Kaşgarlı Mahmut'a ait Divan-ı Lügat-ı Türk ve Yusuf Has Hacip'in eseri olan Kutadgu Bilig kitaplarında Orta Çağda yaşayan Türkler tarafından yoğurt kullandığından söz edilmektedir (Fisberg and Machado 2015). Bu ürün için 8. yüzyılda ilk olarak "yoghurut" ifadesi kullanılmış, daha sonra 11. yüzyılda bu ifade değişerek bugünkü ismi olan "yoğurt" adıyla anılmaya başlanmıştır (Parajapati and Nair 2008). Yoğurt kelimesinin,

Orta Asya Türkçesinde katılaşımlı veya koyulaşımlı anlamında olan “yoğun” sözcüğünden türediği kabul görmektedir (Kocaadam ve Acar-Tek 2016).

Avrupa’nın yoğurt ile tanışması, Kanuni Sultan Süleyman tarafından, Fransız Kralı I. Fransuva’yı tedavi etmek amacıyla gönderilen Türk doktoru sayesinde olmuştur. Amerika kıtasına geçişi ise Avrupa’dan birkaç yüzyıl geç olmuştur (Özer 2006).

Yoğurdun Avrupa’ya yayılması ise Selanikli bir ailenin üyesi ve doktor olan Izak Karasu sayesinde olmuştur. Balkan Savaşları sırasında Barcelona’ya taşınmış ve ismini Isac CARASSO olarak değiştirmiş olup, İspanya’da çocuklarda görülen diyare salgınına Selanik’te uygulandığı gibi yoğurt kullanarak tedavi etmiş ve bu olaydan sonra yoğurt ilaç olarak satılmaya başlanmıştır. 1919 yılında Isac Carasso mahzende yoğurt üretmek amacıyla küçük bir atölye kurmuştur. Oğlu Daniel Carasso ise Paris’te Danone adında yeni bir şirket kurmuş olup, bu Avrupa’da yoğurt üretmek amacıyla yapılan ilk girişim olmuştur (Yıldırım vd 2014).

İkinci Dünya Savaşı’ndan sonra, özellikle 1950 sonrasında, yoğurt üretim teknolojisi hızlı bir şekilde ilerlemiştir. Yoğurt ve diğer fermente süt ürünlerinin sağlığa yararları konusunda bilgi düzeylerinde artışa paralel olarak 1980-1990’lı yıllarda yoğurt tüketiminde artış görülmüştür. Son yıllarda, fermente süt ürünlerinin tüketimi özellikle yoğurt tüketimi büyük ölçüde artmıştır. Meyveli ve probiyotik yoğurtların üretimi, yoğurdun daha geniş kitlelere hitap etmesini sağlamıştır (Water and Naiyanetr 2008).

Yoğurt binlerce yıldır katyk (Ermenistan), dahi (Hindistan), zabadi (Mısır), mast (İran), leben raib (Suudi Arabistan), laben (Irak ve Lübnan), roba (Sudan), iogurte (Brezilya), cuajada (İspanya), coalhado (Portekiz), dovga (Azerbaycan), matsoni (Gürcistan, Rusya, Japonya), Tiaourti (Yunanistan), cieddu (İtalya) ve diğer Dünya ülkelerinde ise Yoghurt, Yogurt, Yaourt, Yourt, Yaourti, Yahourth, Yogur, aghourt gibi pek çok isimle anılmaktadır (Tamime and Deeth 1979; Fisberg and Machado 2015).

Yoğurt üretiminin temelini anlaşılmaması ve ilkel fakat sürekli yoğurt üretimine geçişin sağlanması ile yoğurdun insan sağlığı üzerine faydaları da anlaşılmaya başlanmıştır (Özer 2006). Elie Metchnikoff'un yoğurt bakterilerinin insan ve diğer hayvanlar üzerinde faydalı etkileri üzerine yaptığı çalışma (1845-1916) yoğurt ile ilgili yapılan araştırmaların dönüm noktası olmuştur. Elie Metchnikoff, yoğurdun cilt kuruluğundan damar tıkanıklığına kadar birçok hastalıkla mücadelede etkili bir araç olduğuna inanmıştır (Deeth and Tamime 1981). Metchnikoff, Bulgaristan'ın köylerinde yaşayanların yoğurt tüketiminin çok fazla olduğunu ve bu insanların ortalama yaşam süresinin çok üzerinde bir ömre sahip olduğunu saptamıştır. Ancak, yaptığı çalışmalarda fermente süt ürünlerinin tüketimi ile uzun yaşam arasındaki ilişkiyi bilimsel temellere oturtamamıştır (Özer 2006). Metchnikoff'un çalışmaları günümüzde beslenme değeri son derece yüksek bir gıda ve yararlı bir terapötik ajan olarak ünlenmiş olan yoğurdun etkilerinin incelenmesine ivme kazandırmıştır (Deeth and Tamime 1981).

Yoğurt kimyasal bileşim açısından süte benzemekle birlikte, yoğurt üretimi esnasında süte uygulanan işlemler, ilave edilen maddeler ve bakteriyel fermentasyonda oluşan değişimler nedeniyle sütin bileşiminden farklılıklar göstermektedir (Çakıroğlu 2003). Birkaç istisna dışında süt ve yoğurt benzer vitamin ve mineral içeriklerine sahiptir. Fermentasyon sırasında B₁₂ ve C vitaminleri tüketilerek folik asit oluşturulur. Süt ve yoğurdun içerdiği diğer vitaminler arasındaki farklar küçük olup fermentasyonda kullanılan bakteri türüne göre değişmektedir. Genel olarak yoğurt, süttten daha az laktoz ve daha fazla laktik asit, galaktoz, peptit, serbest amino asit ve serbest yağ asidi içeriğine sahiptir. Yoğurdun bileşimi Çizelge 1.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. Yoğurdun bileşimi (Erkaya 2009)

Yoğurt Bileşimi	Miktar (%)
Su	85-90
Kuru madde	12-13
Yağ	3-5
Protein	3-4
Karbonhidrat	3-4
Mineral madde	0,6-0,8
Asitlik	0,9-1,10

Yoğurt yapısında protein, karbonhidrat ve lipid bulunan, kuru madde içeriği yüksek, bunun yanında; büyüme için gerekli olan protein, kalsiyum, potasyum, fosfor, magnezyum, çinko ve B vitaminleri bakımından da oldukça zengin olan yoğurt fonksiyonel bir gıda olarak değerlendirilmekle birlikte insanların günlük beslenmesinde de önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir (Weerathilake *et al.* 2014; Kızılaslan ve Solak 2016).

Yoğurt, biyolojik değeri yüksek proteinleri içerir ve bunun yanında bu ürünün sindirilebilirliği süte oranla 2 kat daha fazladır. Yoğurdun bu özelliği; süte uygulanan ısıtma işlemi, fermentasyonda oluşan yüksek asitlik ve sindirim enzimlerinin kazein pıhtısına daha kolay etki etmesi, *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus*'un sahip olduğu enzimler tarafından proteinlerin fermentasyon esnasında parçalanması, serbest aminoasitlerin, suda eriyebilir proteinlerin ve protein yapısında olmayan azotlu maddelerin miktarının artması ile ortaya çıkmaktadır (Deeth and Tamime 1981).

Yoğurt üretiminde süte bulunan laktozun yaklaşık %30-35'i fermentasyona uğrayarak laktik aside dönüşür ve laktozun miktarı düşer. Bunun yanında süte oranla yoğurdun karbonhidratlarının sindirilebilirliği artar ve laktoz intoleransı olan bireyler tarafından yoğurdun daha çok tercih edilmesinin sebeplerinden birisidir (Çakıroğlu 2003).

İçeriğinde D vitamini ve kalsiyum bulundurması sebebiyle yoğurdun kemikleri güçlendirici ve kemik sağlığını koruyucu etkisi mevcuttur (Karakaş ve Törnük 2016). Yoğurdun gıda kaynaklı alerjilerin ve gıda intoleranslarının oluşmasının önüne geçebilme, osteoartrit ve romatoid artritinin birçok semptomunu ortadan kaldırabilme gibi faydaları olduğu belirtilmiştir. Bununla beraber farklı türde diyarelerin tedavisinde, diyabetin kontrol altında tutulmasında, kan basıncının ve serum kolesterol miktarının düşürülmesinde yoğurdun aktif rol oynadığı bildirilmektedir (Kızılaslan ve Solak 2016)

Yoğurt sağlıklı bir kolonu besler, hatta kolon kanseri riskini azaltan bağırsaklara faydalı bakteri kültürlerini içerir. Diğer gıdaların biyolojik değerini artırır ve bağışıklığı kuvvetlendirici etkisi bulunmaktadır. Bu faydalarının yanında, bağırsak enfeksiyonlarını

iyileştirmeye yardım etme, kolestrolü düşürme ve vücut yağının azalmasına yardım etme gibi fonksiyonları da bulunmaktadır (Yıldırım vd 2014).

1.1. Laktik Asit Bakterileri

19. yüzyıl sonlarına doğru sütte fermentasyona yol açan ve pıhtılaşma oluşturan bakteriler ilk defa laktik asit bakterileri (LAB) olarak adlandırılmış ve daha sonra Lactobacillaceae familyası içinde sınıflandırılmışlardır (Çon ve Gökalp 2000). LAB, belirli morfolojik, metabolik ve fizyolojik özellikleri benzer gram pozitif bakteri grubudur (Axelsson 2004).

Bu grubun üyeleri; karbonhidrat fermentasyonu sonucunda son ürün olarak laktik asit oluşturan, gram pozitif, *Sporolactobacillus inulinus* haricinde spor oluşturmayan, mikroaerofilik veya anaerobik, genellikle hareketsiz, katalaz negatif, sitokromdan yoksun, morfolojik olarak kok veya çubuk formunda bulunan mikroorganizmalardır (Axelsson 2004; İşleroğlu vd 2008; Wright and Axelsson 2012). LAB'lerinin "hem" grupları bulunmamakla birlikte, havanın oksijeninde gelişip üreyebilirler. Başka bir ifadeyle katalaz enzimleri olmaksızın aerob şartlarda gelişebilen nadir bakteriler arasındadır (Halkman 1991). LAB'leri gelişebilmek için amino asitlere, B grubu vitaminleri ile pürin ve pirimidin bazlarına ihtiyaç göstermektedir. Genellikle mezofilik olan LAB'lerinin bazı türleri 5°C'nin altında, bazı türleri ise 45°C gibi yüksek sıcaklıklarda gelişim gösterebilmektedir. Ayrıca çoğunlukla pH 4,0-4,5 aralığında gelişirlerken 3,2 gibi düşük veya 9,6 gibi yüksek pH'larda gelişebilen türleri de bulunmaktadır. Bazı türleri düşük proteolitik ve lipolitik aktiviteye sahiptir (Caplice and Fitzgerald 1999).

LAB'lerinin taksonomik olarak bilinen 20 cinsi bulunmaktadır. Bu cinslerden ana LAB olarak bilinenler arasında *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weissella* yer almaktadır (Axelsson 2004).

LAB'leri genellikle kemoorganotrofikler ve karbonhidrat metabolizması sonucunda büyük oranda laktik asit üretirler (Klein *et al.* 1998). LAB'leri glukoz metabolizmasının son ürününe bağlı olarak homofermentatif ve heterofermentatif olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar. Homolaktik fermentasyon ya da homofermentatif LAB'leri, glukozu Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) yolu ile parçalayarak fermentasyon sonucu laktik asit üretirler. Ayrıca az miktarda asetik asit, formik asit ve etanol de oluşturabilirler. Heterolaktik ya da heterofermentatif LAB'leri ise; glukozu Hegzos Mona Fosfat (HMF) yolu ile parçalayarak %50 laktik asit üretip bunun yanında etanol, asetik asit, CO₂, gliserol, mannitol ve früktoz oluştururlar. Fermentasyon çeşidi, LAB'leri için önemli bir taksonomik kriterdir. Tüm türlerden *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus* ve bazı laktobasiller homofermentatif iken *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Carnobacterium*, *Lactosphaera* ve laktobasillerin bir kısmı ise heterofermentatif grupta yer almaktadır (Drinan 1976; Jay *et al.* 2005).

Doğal ortamları başta süt ve süt ürünleri olmak üzere işlenmemiş, taze ya da çürümüş bitkilerde, insan ve hayvanların mukozasında da bulunabilmektedir. LAB; tabiatla yaygın olarak bulunmaları, çeşitli gıda maddelerinde sıkça karşılaşılan bozulmalara sebep olmaları ve bazı gıdaların (fermente et, süt, sebze, meyve ve tahıl vb.) üretim ve olgunlaştırılmasında kullanılmaları nedeniyle gıda teknolojisinde de önemli role sahiptir (Çon ve Gökalp 2000). Süt, sebze ve et gibi çok çeşitli ürünlerin korunması, duyuşal özelliklerinin geliştirilmesi ve besin değeriinin korunması amacıyla dünya genelinde LAB'leri kullanılmaktadır (Ruas-Madiedo *et al.* 2002). Bunun yanında şarap, kahve, hayvan yemi (silaj), kakao, ekmek hamuru ve çok sayıda doğal yiyeceğin fermentasyonunda kritik rol oynadıkları da saptanmıştır (Makarova *et al.* 2006).

Farklı lezzetler, doku ve sağlığı olumlu etkileyecek özelliklere sahip birçok süt ürünü farklı teknolojiler ve starter kültür kullanılarak elde edilebilir. Starter kültürlerin en önemli özellikleri hızlı asitlendirme, sütün mikrobiyal olarak korunması, özel aromaları oluşturma, tekstürü geliştirme kapasitesi ve sağlık yararlarıdır. Bakteriyal gelişme sırasında laktozun fermentasyonu sütün asitlenmesine neden olur ve böylece sütü bozulma yapan ve patojen mikroorganizmalara karşı korur. Asitleşmenin bir başka etkisi

ise; negatif yüklerin süt proteinleri üzerindeki nötralizasyonu ve pıhtılaşmayla sonuçlanmasıdır. Asit oluşumu ayrıca; peynir ve yoğurt gibi fermente ürünlere hoş, taze ve hafif asit tadı verir (Ruas-Madiedo *et al.* 2002).

Gıda endüstrisinde gerek starter gerekse probiyotik kültür olarak yoğun bir şekilde kullanılmakta olan LAB'leri, FDA (Food and Drug Administration) tarafından GRAS (Generally Recognized as Safe, genellikle güvenli olarak tanımlanan) olarak kabul edilmektedir (Turhan ve Enginkaya 2016). Probiyotik olarak kullanılan suşlar genellikle, *Lactobacillus*, *Enterococcus* ve *Bifidobacterium* cinslerine aittir (Klein *et al.* 1998). LAB'leri, ayrıca koruyucu kültürlerin özelliklerini taşırlar. Gıdalarda; sadece gıda kaynaklı patojen ve bozulma etmeni mikroorganizmaları inhibe etmek ve/veya raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılan ve gıdanın duyuşal özelliklerinde herhangi bir değişime neden olmayan antimikrobiyal kültürler "koruyucu kültürler" denir (İşleroğlu vd 2008). LAB'nin antimikrobiyal etkisi karbonhidrat mekanizmaları sonucu ürettikleri laktik asit ve asetik asit gibi organik asitler, diasetil, hidrojen peroksit, CO₂, alkol ve bakteriyosin veya bakteriyosin benzeri metabolitlerden kaynaklanmaktadır (Çon ve Gökalp 2000).

Antagonistik bileşiklerin sentezlemeleri, gıdalarda aromayı geliştirilmeleri, bakteriyofaj dirençliliği ve probiyotik özellikleri gibi LAB'lerinin son derece önemli özelliklerinin yanı sıra son yıllarda hem gıdaların birçok özelliğini düzeltmesi hem de insan sağlığına olan faydalı etkileri göz önüne alındığında LAB'leri tarafından üretilen Ekzopolisakkarit (EPS)'ler dikkati çekmektedir (Zehir 2017).

Farklı tür LAB'lerinin sınıflandırılmasında büyük ölçüde morfolojik, farklı sıcaklık (10-45°C), farklı pH değerlerinde ve yüksek tuz konsantrasyonunda gelişme yeteneğine, üretilen laktik asit konfigürasyonuna, asit ve alkali toleransı, glukoz fermentasyon tarzına, arginin parçalanması gibi özelliklerin incelenmesini içeren fenotipik özelliklere dayanmaktadır (Axelsson 2004).

1.1.1. *Lactobacillus* cinsi bakteriler

Lactobacillus, LAB'lerinin en önemli cinslerinden biridir. 80'den fazla *Lactobacillus* türü bulunmakta, bunların yaklaşık 19 tanesi süt ürünlerinde kullanılmaktadır. Peynir, yoğurt, fermente süt gibi çiğ süt ve süt ürünlerinde doğal olarak bulunabileceği gibi, teknolojik nedenlerle veya tüketiciye sağlık yararı sağlamak amacıyla ilave edilebilmektedirler (Coueret *et al.* 2003).

Lactobacillus cinsinin üyeleri; spor oluşturmayan, hareketsiz, fermentatif, anaerobik veya aerotolerans, asidik ya da asidofiliktir. Karmaşık besinsel gereksinimlere (örneğin; karbonhidrat, aminoasitler, peptitler, yağ asidi esterleri, tuzlar, nükleik asit türevleri ve vitaminler gibi) sahiptir (Hammes and Vogel 1995). Hücrelerin şekli çok kısa çubuktan (neredeyse kokoid) çok uzun çubuğa kadar değişir, ince ya da orta derecede kalın, çoğunlukla eğri, tek hücre ya da kısa veyahut uzun zincirler şeklinde görülebilmektedir. 2-53 °C arasında gelişebilirken optimal gelişme sıcaklıkları 30-40°C arasındadır. pH 3-8 aralığında gelişebilmektedirler (Pot *et al.* 2014).

Carr *et al.* (2002) tarafından bildirildiğine göre Orla-Jensen'in 1919 yılında yaptığı orijinal sınıflandırmada Laktobasiller glukoz fermentasyonu sırasında oluşturdukları laktik asit miktarına dayanarak Betabacteria, Streptobacteria ve Thermobacteria olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Betabacteria grubu (*Lb. sanfrancisco*, *Lb. fermentum*, *Lb. reuteri* vd.) heterofermentatif ve glukozdan CO₂ oluşturabilmektedir ayrıca arginini de hidrolize edebilme yeteneğine sahiptir. Streptobacteria (*Lb. plantarum*, *Lb. sake*, *Lb. casei* vb.) grubu heterofermentatif fakat glukozdan CO₂ üretemez. Thermobacteria grubu (*Lb. delbrueckii*, *Lb. acidiphilus*, *Lb. bulgaricus* vb.) ise homofermentatiftir ve diğerlerinden farklı olarak arginini hidrolize edemezler (Schillinger and Lücke 1987; Priest 1996; Carr *et al.* 2002; Jay et al 2005). Günümüzde Thermobacteria Grup I olarak kullanılmaktadır ve Grup I glukozu fermente ederek laktik asit üreten pentoz ve glukonatı fermente edemeyen obligat homofermentatif laktobasillerden (*Lb. acidophilus*, *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii* vb.) oluşur. Grup 2 fakültatif heterofermentatif, hekzосу fermente edebilen, glukanattan gaz oluşturabilen fakat glukozdan oluşturamayan

laktobasilleri (*Lb. casei* ve *Lb. plantarum* vb) içerir. Grup 3 ise obligat heterofermentatif, heksoz fermentasyonu sonucu laktik asit, asetik asit ve/veya etanol ve CO₂ oluşturabilen laktobasillerdir (*Lb. sanfrancisco*) (Stiles and Holzapfel 1997). *Lactobacillus* türlerinin sınıflandırması Çizelge 1.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 1.2. *Lactobacillus* türlerinin gruplandırılması (Ray and Bhunia 2016)

Özellikler	Grup I (Thermobacteria)	Grup II (Streptobacterium)	Grup III (Betabacterium)
Karbonhidrat Fermentasyonu	Kuvvetli homofermentatif	Fakültatif Heterofermentatif	Kuvvetli heterofermentatif
Karbonhidrat fermentasyonu sonucu oluşan ürünler	Laktat	Laktat ya da Laktat, asetat, etanol, CO ₂ , format	Laktat, asetat, etanol ve CO ₂
Pentoz fermentasyonu	-	+	+
Temsil eden türler	<i>Lb. delbrueckii</i> subps. <i>delbrueckii</i> <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> <i>Lb. delbrueckii</i> subps. <i>lactis</i> <i>Lb. leichmannii</i> <i>Lb. acidophilus</i> <i>Lb. helveticus</i>	<i>Lb. casei</i> ssp. <i>casei</i> <i>Lb. casei</i> ssp. <i>ramnosus</i> <i>Lb. casei</i> ssp. <i>pseudoplanatarum</i> <i>Lb. plantarum</i> <i>Lb. curvatus</i> <i>Lb. sake</i>	<i>Lb. fermentum</i> <i>Lb. divergens</i> <i>Lb. kefir</i> <i>Lb. confuses</i> <i>Lb. brevis</i> <i>Lb. sanfrancisco</i> <i>Lb. reuteri</i>

Büyük çoğunluğu glikoz, galaktoz, mannoz, sakkaroz, arabinoz, maltoz, laktoz, salisin ve rafinozu kullanarak; bir kısmı da sorbitol, mannitol, dekstrin, gliserol ve ksilozu kullanarak asit oluşturabilmektedir. Ramnoz, nişasta ve inülini, çoğunlukla, fermente edememektedirler. %5,5 tuz konsantrasyonunda gelişebilmektedirler. Termal ölüm

sıcaklığı 65-75°C'de 15 dakikadır. Süt, peynir, tereyağı, kefir, fermente patates, mısır, salatalık turşusu, domates turşusu vb. gıdalardan izole edilebilmektedir (Pederson 1938).

Tabiatı yaygın olarak, bitkiler, sebzeler, hububat, tohumlar, işlenmiş ve çiğ süt, süt ürünleri, işlenmiş ve çiğ et, et ürünleri ve fermente sebzelerde bazı türleri ise insan ve hayvanları sindirim sisteminde bulunabilmektedir (Ray and Bhunia 2016).

Çok sayıda türden sadece bir kısmı kontrollü fermentasyonda kullanılırken; diğerlerinin gıdaların doğal fermentasyonla üretilmesinde rol aldığı bilinmektedir. Yoğurt ve peynir gibi süt ürünlerinin fermentasyonunda *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* starter kültür olarak kullanılırken *Lb. acidophilus* ve *Lb. reuteri* yararlı bağırsak mikroorganizması olarak bilinmektedir. Ayrıca *Lb. acidophilus* ve *Lb. casei* ssp. *casei* de birçok fermente süt ürünlerinin üretiminde starter olarak görev yapmaktadır. *Lb. plantarum* ve *Lb. curvatus* birçok sebze ve et ürününün fermentasyonunda kullanılmaktadır. *Lb. kefir* etnik fermente ekşi bir süt ürünü olan kefirin fermentasyonunda önemlidir (Sağdıç ve Arıcı 2011; Ray and Bhunia 2016).

1.1.2. *Streptococcus* cinsi bakteriler

du Toit *et al.* 2014 tarafından bildirildiğine göre ilk kez yaralarla ilişkili Streptokokları Billroth 1874 yılında rapor etmiş ve *Streptococcus* jenerik ismi ilk kez Rosenbach tarafından 1884 yılında yara enfeksiyonları ile ilişkili zincir oluşturan kok şekilli bakterileri tanımlamak için kullanılmıştır ve ilk olarak *Str. pyogenes* türü belirlenmiştir. Daha sonraki yıllarda mastitis olan ineklerden ve zatürre olan insanlardan izole edilmiştir. Bilinen türlerinin bazıları insan ve hayvanlarda patojendir (Sun *et al.* 2014).

Streptococcus cinsi bakteriler genellikle sıvı besiyerinde geliştiklerinde zincirler ya da çiftler olarak düzenlenmiş, gram pozitif, küresel veya oval hücrelerden oluşur. Bu koklar fakültatif anaerob, spor oluşturmayan, katalaz negatif, homofermentatifler (Hardie and Whitley 1995). Streptokoklar kompleks besinlere gereksinim duyarlar ve hayvanların dokuları ve bağırsak yolları, süt, süt ürünleri, bitkisel materyaller ve diğer gıdalar dahil

olmak üzere iyi bir karbonhidrat ve protein kaynağı olan ortamlarda gelişirler (Stiles and Holzapfel 1997). Bazen gelişmeleri için ilave CO₂'ye ihtiyaç gösterirler. Ayrıca pH'daki ani düşüş bu bakterileri inhibe etmektedir. Optimal gelişme sıcaklıkları 37°C'dir ve gelişebildikleri maximum ve minimum sıcaklıklar oldukça farklılık gösterir (Sun *et al.* 2014).

Bugüne kadar 60'dan fazla *Streptococcus* türü keşfedilmiştir. Bilinen türlerin bazılarını; *Str. agalactiae*, *Str. anginosus*, *Str. constellatus* ssp. *pharynges*, *Str. dysgalactiae* ssp. *equisimilis*, *Str. equi* ssp. *equi*, *Str. equi* ssp. *zooepidemicus*, *Str. gordonii*, *Str. gallolyticus* ssp. *gallolyticus*, *Str. infantarius* ssp. *infantarius*, *Str. iniae*, *Str. intermedius*, *Str. lutetiensis*, *Str. macedonicus*, *Str. mitis*, *Str. mutans*, *Str. oralis*, *Str. oligofermentans*, *Str. parasanguinis*, *Str. parauberis*, *Str. pasteurianus*, *Str. pneumoniae*, *Str. pyogenes*, *Str. salivarius*, *Str. sanguinis*, *Str. suis*, *Str. thermophilus*, *Str. uberis* oluşturmaktadır (Sun *et al.* 2014).

Sherman sınıflandırmasına göre Streptokoklar laktik, viridans, phyogenik ve enterokok (fekal) olmak üzere 4 gruba ayrılır. Bu gruplandırma 10-45°C'de gelişme, 60°C'de 30 dakika hayatta kalabilme, pH 9,6'da gelişebilme, %0,1 metilen mavisinde ve %6,5 tuz konsantrasyonunda yaşayabilme, peptondan amonyak üretebilme yeteneklerine dayanmaktadır (Whiley and Beighton 1998).

Viridans grup; *Str. salivarius*, *Str. equinus*, *Str. bovis* ve *Str. thermophilus* gibi türleri içermektedir. *Str. thermophilus*, yoğurt ve peynir gibi fermente süt ürünlerinin üretiminde fermentasyondan sorumlu starter mikroorganizmalardan bir tanesidir. Yüksek sıcaklıklarda üreyebilir, ancak termofil değil termoduriktir. Pastörizasyon sıcaklığından etkilenmeyebilir. Bu nedenle pastörize sütlerde *Str. thermophilus*'a rastlanabilmektedir (Halkman 1991; Stiles and Holzapfel 1997; du Toit *et al.* 2014).

Str. faecalis ve *Str. durans* (faecium) enterokok grubunun üyeleridir. Hayvan ve insan dışkısında bulunur. Bu sebeple son zamanlarda süt ürünlerinde fekal kontaminasyon indikatörü olarak önemi artmıştır (Halkman 1991).

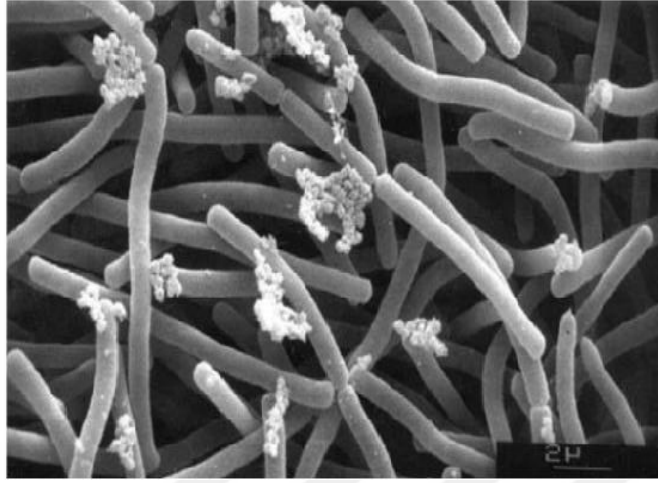
Phyogenik (irin oluşturan) türler insan ve hayvan patojeni olan türleri içerir. Bunlar *Str. pyogenes*, *Str. mastiditis*, *Str. equi* gibi türlerdir (Whiley and Beighton 1998).

Laktik grup Streptokokları ise; *Str. lactis*, *Str. cremoris* ve *Str. diacetylactis*'i kapsamaktadır. Optimum üreme sıcaklıkları 28°C'dir. *Str. lactis* ve *Str. cremoris* birçok peynirin; *Str. diacetylactis* ve *Str. cremoris* tereyağ üretiminde starter kültür olarak kullanılmaktadır. *Str. diacetylactis*, *Str. lactis*'in tüm özelliklerini taşır, *Str. lactis*'ten tek farkı ise sitratı fermente ederek CO₂, asetoin ve diasetil oluşturmastır. Diasetil tereyağının hoş kokusunu veren maddedir (Halkman 1991).

1.2. Yoğurtta Starter Kültür Olarak Kullanılan Laktik Asit Bakterileri

1.2.1. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

Lb. delbrueckii subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii* cinsinin bir üyesidir. Bu grup, daha önceleri *Lb. delbrueckii*, *Lb. leichmani*, *Lb. lactis* ve *Lb. bulgaricus* olmak üzere benzer fenotipleri olan dört türden oluşmaktaydı. Bunun yanında, %80'in üzerinde DNA homolojisi, onların üç alt türe sahip tek bir tür olarak yeniden sınıflandırılmasını sağlamıştır. Bunlardan biri *Lb. lactis* ve *Lb. leichmanii*'yi içeren *Lb. delbrueckii* ssp. *lactis*'tir. Kalan iki tür ise; *Lb. delbrueckii* subsp. *delbrueckii* ve *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'tur (Limsowtin et al 2002). *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un elektron mikroskopundaki görüntüsü Şekil 1.1'de verilmiştir.



Şekil 1.1. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un elektron mikroskopundaki görüntüsü (Tamime and Robinson 2007)

L. delbrueckii subsp. *bulgaricus*'un genel karakteristik özellikleri;

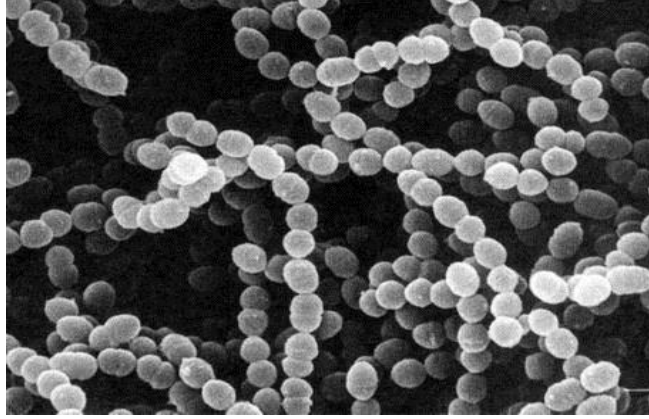
- 0,5-0,8'den 2-9 μm 'ye kadar değişebilen uzunlukta, yuvarlak uçlu çubuk şeklindedir.
- Tekli, ikili veya zincir formda bulunabilen çubuk şeklinde, gram pozitif, haraketsizdir ve spor oluşturmaz.
- Homofermentatiftir, son ürün olarak D (-) laktik asit üretir.
- Katalaz negatiftir.
- Sitokrom bulundurmaz.
- Anaerobiktir.
- Gelişme sıcaklığı minimum 22°C, maksimum ise 50-55°C ve optimum 45°C'dir.
- Optimum gelişme pH'sı 5,2-5,5 arasındadır.
- Laktoz, früktoz ve glukozu fermente eder.
- Arginini kullanamaz (Zourari *et al.* 1992; Yılmaz ve Temiz 2003; Özer 2006).

Lb. bulgaricus'un bazı suşları ekzopolisakkarit sentezleme yeteneğine sahiptir (EPS⁺ suşlar). Gelişimleri için niasin ve pantotanik asite gereksinim göstermektedir (Hammes and Vogel 1995). Proteolitik aktivitesi *Str. thermophilus*'a göre daha yüksektir ve bu

bakterinin ihtiyaç duyduğu esansiyel amino asitleri üretme yeteneğine sahiptir (Rajagopal and Sandine 1990). Laktobasillerin proteolitik sistemleri, farklı hücresel lokasyona sahip proteinaz ve peptidaz enzimlerini içermektedir. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un proteinazları hücre duvarında bulunur, sıcaklık ve büyüme evresine göre düzenlenir. Büyüme sırasında ana aminoasit kaynağı kazeindir. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un yüksek proteolitik aktivitesi yoğurt için önemlidir. Çünkü bu bakteri tarafından üretilen peptidler *Str. thermophilus*'un gelişmesi için elzemdir. Proteinaz aktivitesi yüksek olmasına karşın peptidaz aktivitesi sınırlıdır (Robinson 2002).

1.2.2. *Str. thermophilus*

Bu bakteri ilk kez Orla-Jensen tarafından 1919'da bir laktik streptokok olarak tanımlanmıştır (Farrow and Collins 1984). *Streptococcus* cinsi içindeki tek starter süt streptokokudur. DNA-DNA homolojisi ve membran yağ asidi çalışmalarına göre araştırmacılar, Orla-Jensen (1931) tarafından rapor edilen *Str. thermophilus*'un taksonomik durumu, bu organizma ve *Str. salivarius* arasındaki yakın ilişki nedeniyle tartışma konusu olmuş ve *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* olarak yeniden sınıflandırmayı düşünmüşlerdir. Bunun yanında; *Str. thermophilus* ve *Str. salivarius* aynı ekolojik niş içinde yer almaz ve çok sayıda fizyolojik farklılığa sahiptir. 1987 yılında *Str. thermophilus*, daha karmaşık homoloji çalışmaları ve büyük fenotipik farklılıklar nedeni ile tekrar tür seviyesine indirilmiştir (Tamime and Robinson 1999; Zirnstein and Hutkins 1999). *Str. Thermophilus*'un elektron mikroskopundaki görüntüsü Şekil 1.2'de verilmiştir.



Şekil 1.2. *Str. thermophilus*'un elektron mikroskobundaki görüntüsü (Durso and Hotkins 2003)

S. thermophilus'un genel karakteristikleri;

- Gram pozitifdir.
- 0,7-0,9 μm çapında genellikle diplokok şeklinde olup, asitliği artmış kültürlerde zincirler halinde bulunur.
- Homofermentatiftir, son ürün olarak L (+) laktik asit oluşturur.
- Fakültatif anaerobiktir.
- Katalaz negatiftir.
- Sitokrom bulundurmaz.
- Gelişme sıcaklığı minimum 20-25°C ve maksimum 50-52°C ve optimum 40-45°C'dir. 15°C'de gelişme göstermezken 45°C'de gelişebilmektedir.
- pH 9,6'da ve %0,1 metilen mavisi çözeltisinde gelişme göstermez.
- %2 tuzlu ortamda geliştiği halde daha yüksek tuz konsantrasyonlarında yaşayamaz.
- Arginin aminoasitinden amonyak oluşturmaz.
- Rafinoz, ksiloz ve arabinozdan asit üretmezken; laktoz, sukroz, glukoz ve früktozdan asit üretebilmektedir.
- Diğer laktik bakterilere oranla antibiyotiklere oldukça duyarlıdır.
- Optimum pH'sı 5,5'tir. Son gelişme pH'sı glukoz buyyonda 4,0-4,5'tir (Kılıç 2010).

Bazı suşları EPS üretir. Genellikle meyveli ve aromalı yoğurtlar, ayran ve diğer süt içeren içecekler hazırlanırken EPS oluşturan *Str. thermophilus* suşları kullanılmaktadır. EPS'ler suda çözünürler. Bu sebeple meyveli ve aromalı yoğurtlarda viskoz yapı ve ayıranda daha fazla akıcı yapı sağlanması amacıyla kültür bakterilerinin belli oranda EPS üreten suşları tercih edilmektedir (Kılıç 2010).

Gelişmeleri için B vitaminleri ve bazı aminoasitlere gereksinim gösterir. Genelde proteolitik ve lipolitik aktivitesi düşüktür. B₁, B₂, B₁₂, nikotinamid, pridoksal ve folik asit gibi kompleks B vitaminleri gelişmeleri için çok önemli ve gereklidir. İhtiyaç duyduğu aminoasitler ise; glutamik asit, histidin, sistein, metiyonin, valin, lösin, izolösin, triptofan, arginin ve tirozindir (Tamime and Robinson 1999; Kılıç 2010).

Sütte doğal olarak bulunan serbest aminoasitler gelişimleri için yeterli değildir. Gerekli olan serbest aminoasitler, ısıl işlem sırasında ya da *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un proteolitik aktivitesi sonucu amino amino asitler tarafından sağlanmaktadır (Pearce and Flint 1999).

1.2.3. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Str. thermophilus*'un birlikte gelişmesi

Binlerce yıldır yoğurt üretiminde *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Str. thermophilus*'un karışık kültürleri kullanılmaktadır. Bu iki bakteri sütte simbiyotik olarak gelişir ve bu ilişki iki tür arasındaki metabolik uyuma dayanır (Halkman 1991; Robinson 2002). Bu iki türün simbiyotik ilişkisi “protokooperasyon” adıyla da anılmaktadır (Sieuwerds *et al.* 2008).

Yoğurt kültürü süte ilave edildiğinde, ortamın asitliğinin düşük olması nedeniyle *Str. thermophilus*, başlangıçta *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'tan daha hızlı gelişir ve laktik asit üretmeye başlar. Bunun yanında üre, formik asit ve CO₂'yi oluşturur (Shah 2003; Kılıç 2010). *Str. thermophilus* tarafından üretilen formik asit *Lb. bulgaricus*'un gelişimine destek olmaktadır (Zourzri *et al.* 1992; Settachaimongkon *et al.* 2014). Formik asite ek olarak, *Str. thermophilus* tarafından üretilen bazı bileşenler de *Lb. bulgaricus*'un

gelişimini desteklemektedir. *Lb. bulgaricus*'un gelişimini destekleyen önemli diğer bir faktör de *Str. thermophilus*'un üre metabolizması sonucu açığa çıkan CO₂'dir (Routray and Mishra 2011). *Lb. bulgaricus*'un optimum seviyede laktik asit üretimi için ihtiyaç duyulan CO₂ konsantrasyonu 30 mg/kg'ın üzerindedir. *Str. thermophilus*, *Lb. bulgaricus*'un laktik asit üretimi için ihtiyaç duyduğu miktardan daha fazla CO₂ üretebilme yeteneğine sahiptir (Tinson *et al.* 1982).

Ortamın asitliği *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un gelişimi için uygun hale gelince bu bakteri gelişme ve çoğalmaya başlar (Kılıç 2010). Bununla birlikte basillerin metabolik faaliyetleri de *Str. thermophilus*'un gelişimini destekler. *Str. thermophilus*, gelişmiş bir proteolitik aktiviteye sahip olmadığından gelişimi için gerekli amino asit ve peptidleri üretememektedir (Sieuwerts *et al.* 2008). Buna karşın *Lb. bulgaricus*, *Str. thermophilus*'un gereksinim duyduğu valin başta olmak üzere esansiyel amino asitleri üretmek için süt proteinlerini hidrolize eden hücre dışı proteazlar salgılar (Shah 2003). *Str. thermophilus*'un bazı suşları gelişebilmek için valin, glisin ve histidine ihtiyaç göstermektedir. Bunların dışında sütün doğal yapısında bulunan di- ve oligopeptidler *Str. thermophilus* tarafından gelişimini desteklemek amacıyla kullanılabilir (Nakamura *et al.* 1991).

Simbiyotik gelişme için en uygun gelişme sıcaklığı 42°C'dir. *Str. thermophilus*'un optimum gelişme sıcaklığı 37°C iken, *L. bulgaricus*'un optimum gelişme sıcaklığı 45°C'dir. İnkübasyon sıcaklığı 42°C'nin üzerine çıkınca laktobasillerin gelişmesi teşvik edilirken, bu sıcaklığın altında streptokokların gelişimi hızlanmaktadır. İnkübasyon sıcaklığının değişimi kok/basil oranında sapmalara neden olmaktadır. Optimum yoğurt aroması için bu oranın 1:1 olması gerekmektedir (Shah 2003).

Kazein pıhtılaşması pH 4,4'te tamamlanır ve böylece yoğurt pıhtısı son şeklini alır. Yoğurdun istenilen özelliklere sahip olabilmesi için bu iki bakteri türünün kültürdeki oranları, özellikleri, süte aşılama miktarları, inkübasyon süresi ile inkübasyon sıcaklığı önemli rol oynamaktadır (Kılıç 2010).

1.3. EPS'lerin Genel Özellikleri ve EPS Üreten Laktik Asit Bakterileri

EPS'ler; D-glikoz, D-galaktoz, L-ramnoz ya da nadiren N-asetilglikozamin, N-asetilgalaktozamin ve glukoronik asit içeren birimlerin tekrarlanması ile oluşan yapılardır (Duboc and Mollet 2001). EPS'ler mikroorganizmalar tarafından salgılanan yüksek molekül ağırlığına sahip, geri dönüşebilen ve çevre dostu olan doğal bileşiklerdir. Mikroorganizmalar tarafından sentezlenen EPS'ler hücre içi, hücre duvarı ve hücre dışı olarak farklı çeşitler gösterebilmektedir. Mikrobiyal polisakkaritler; 1) hücre için karbon ve enerji depolama işlevinden sorumlu olan intraselüler polisakkaritler, 2) hücre duvarının ayrılmaz bileşeni olan lipopolisakkarit ve teoik asit gibi hücre yapılarının bileşeni olan yapısal polisakkaritler ve 3) EPS'ler olarak adlandırılan ekstraselüler polisakkaritler olmak üzere üç gruba ayrılır (Iyer *et al.* 2005). Bu maddeler mikroorganizmaları su kaybına, fagositoza, fajlara, antibiyotiklere, toksik maddelere ve ozmotik strese karşı korumakla görevlidirler (Ruas-Madiedo *et al.* 2002). EPS'lerin diğer önemli özellikleri; bakterinin yüzeye tutunmasında yapıştırıcı (slime) fonksiyona sahip olması ve biyofilm oluşturmada etkili olmasıdır. Tüm bu özellikler EPS üreten bir bakteriye bulunduğu ortamda stabil olarak kalabilme ve baskın olarak büyüme özelliği kazandırmaktadır (Stiles and Holzapfel 1997).

Mikrobiyal kaynaklardan elde edilen EPS'ler homopolisakkaritler (selüloz, dekstran, mutan, alternan, pullulan, levan ve curdlan) ve heteropolisakkaritler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Homopolisakkaritler (HoPS) tek tip monosakkaritlerden meydana gelirken heteropolisakkaritler (HePS), oligosakkaritlerin çoklu kopyalarından oluşmaktadır (Welman and Maddox 2003).

HoPS'ler; dört gruba ayrılmaktadır. Bunlar; α -D-glukanlar, β -D-glukanlar, fruktanlar ve poligalaktanlar'dır. HoPS'lerden α -D-glukanlar (yani dekstranlar), *Leu. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Leu. mesenteroides* subsp. *dextranicum*, *Str. mutans* ve *Str. sobrinus*; β -D-glukanlar *Streptococcus* spp. ve *Pediococcus* spp.; fruktanlar ise *Str. salivarius* tarafından üretilirler (De Vuyst and Degeest 1999). HePS'ler ise mezofilik (*Lac. lactis*, *Lb. sakei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. casei* vb.) ve termofilik (*Lb. acidophilus*, *Lb.*

delbrueckii subsp. *bulgaricus*, *Lb. helveticus*, *Str. thermophilus* vb.) LAB'leri tarafından üretilmektedir (Vanningelgem *et al.* 2004). LAB'leri tarafından üretilen homopolisakkaritler Çizelge 1.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 1.3. LAB'leri tarafından üretilen homopolisakkaritler (Ruas-Madiedo *et al.* 2002)

Ekzopolisakkarit	Bakteri
<u>α-D-glukanlar</u>	
Dekstran	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>mesenteroides</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>dextranicum</i>
Mutan	<i>Streptococcus salivarius</i> <i>Streptococcus mutans</i>
Alternan	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
<u>β-D-glukanlar</u>	
	<i>Pediococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp.
<u>Fruktanlar</u>	
Levanlar	<i>Streptococcus salivarius</i>
İnülin benzerleri	<i>Streptococcus mutans</i>
<u>Poligalaktanlar</u>	
	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>Lactis</i>

EPS üreten LAB'leri Çizelge 1.4'te gösterilmektedir.

Çizelge 1.4. Ekzopolisakkarit üretebilen laktik asit bakterileri (Milci ve Yaygın 2005)

Laktik Asit Bakterileri			
<i>Lactobacillus</i> cinsi	<i>Streptococcus</i> cinsi	<i>Lactococcus</i> cinsi	<i>Leuconostoc</i> cinsi
<i>Lb. hilgardii</i>	<i>Str. mutans</i>	<i>Lac. lactis</i> subsp.	<i>Leu. mesenteroides</i>
<i>Lb. casei</i>	<i>Str. subrinus</i>	<i>lactis</i>	subsp. <i>ceremois</i>
<i>Lb. helveticus</i>	<i>Str. thermophilus</i>	<i>Lac. lactis</i> subsp.	<i>Leu. mesenteroides</i>
<i>Lb. delbrueckii</i>		<i>cremoris</i>	subsp.
subsp. <i>lactis</i>			<i>mesenteroides</i>
<i>Lb. delbrueckii</i>			
subsp. <i>bulgaricus</i>			

EPS oluşumunda; UDP-glukoz dehidrogenaz, glukozil-transferaz, galaktozil-transferaz 1 ve 2, polimeraz gibi görev yapan ve polisakkarit sentezine has olmayan birçok görev almaktadır. EPS sentezi hem hücre dışında hem de membranda gerçekleşebilmektedir (Yılmaz ve Çelik 2007).

EPS formları hücre duvarı ile birleşmiş olarak bulunabilen kapsüler veya çoğunlukla hücre duvarı dışında biriken ve kültür ortamına yayılan bağımsız salgılar şeklinde üretilen yapılardır. İn vitro çalışmalarda EPS'lerin varlığı katı besi ortamlarında mukoid koloni, sıvı besi ortamlarında ise oldukça viskoz bir görünüm ile tespit edilmektedir (Gugliandolo *et al.* 2003).

EPS'ler tekstil, petrol arıtma, madencilik, endüstriyel atık arıtma, eczacılık, kozmetik ve gıda sanayisi gibi birçok çalışma alanında kullanılmaktadır (Freitas *et al.* 2011). EPS'ler gıda sanayinde jelleştirme, kıvam artırma, emülsifiye etme, su bağlama gibi etkilerinden dolayı özellikle tercih edilmektedir (Nwodo *et al.* 2012; Surayot *et al.* 2014).

1.3.1. EPS üretimini etkileyen faktörler

Polisakkarit sentezlenmesi bakteri şuşlarının üremeleri esnasında suşa ve üreme evresinin farklı basamaklarına göre değişen koşullarda oluşabilmektedir (Yılmaz ve Yuvalı Çelik 2007). EPS üretimi ile bakteriyel üreme yakından ilişkilidir. Optimum koşullar altında EPS üretimi yüksek seviyeye ulaşmaktadır. LAB tarafından üretilen EPS'ler, besiyerine karbonhidrat, azot kaynağı, vitamin, tuz gibi maddelerin ilavesi gibi büyüme ortamı kompozisyonundan ve bunun yanında inkübasyon sıcaklığı ve süresi, oksijen seviyesi, pH gibi faktörlerden etkilenmektedir (De Vuyst and Degeest 1999; Grosu-Tudor and Zamfir 2014).

Mozzi *et al.* (1995) tarafından yapılan çalışmada, LAB'lerinin ürettiği EPS'lere sıcaklığın etkisinin incelenmiştir. Bu amaçla *Lb. acidophilus* 30°C, 37°C ve 42°C'de 24 saatlik inkübasyona bırakılmış ve bu sürenin sonunda EPS üretimleri incelenmiştir. Inkübasyon sonunda 37°C ve 42°C'de EPS üretiminin yüksek, 30°C'de ise çok daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak, EPS üretimi ile optimum gelişme sıcaklığı arasında bir korelasyon olduğunu bildirmiştir.

Stres koşulları altında EPS üretimi artmaktadır (Soyuçok vd 2016). Grosu-Tudor ve Zamfir (2014), ortama farklı konsantrasyonlarda NaCl stres faktörü olarak ilave edildiğinde EPS üretimindeki değişmeyi incelemiştir. 28°C'de NaCl (%1, %3 ve %5) varlığında tüm şuşların iyi gelişme gösterdiği gözlemlenirken, %5 NaCl konsantrasyonunda 28°C'de 24 saatlik inkübasyonun ardından *Leuc. mesenteroides* subps. *pseudomesenteroides* 406 şuşunun optimum şartlarla kıyaslandığında EPS üretiminin daha fazla olduğu, bununla birlikte biyokütle üretiminde en düşük seviyelere ulaşıldığı belirtilmiştir.

1.3.2. EPS'lerin gıda teknolojisi açısından önemi

EPS'ler; kıvam artırıcı, su bağlayıcı, jelleştirici, emülsifiye edici ve stabilize etme özellikleri nedeniyle gıda sanayinde kullanılmaktadır (Nwodo *et al.* 2012; Surayot *et al.*

2014). Ayrıca son yıllarda EPS'lerin gıdalarda yağ ve şekerlerin yerine geçebileceği üzerine araştırmaların sayısı artmıştır (Sandoval-Castilla *et al.* 2004). Süt ürünlerinde arzulanan tekstür ve stabilitenin sağlanması amacıyla bitkisel ve hayvansal kaynaklı katkı maddelerine alternatif olarak EPS kullanımı önerilebilmektedir (Oluk ve Güven 2015). LAB'leri tarafından üretilen EPS'ler Genel Olarak Güvenli (GRAS) kabul edilir ve başta süt endüstrisi olmak üzere, et ve sebze gibi birçok gıdanın fermentasyonunda büyük oranda kullanılmaktadır (Kleerebezem and Hugenholtz 2003; Welman and Maddox 2003).

EPS'ler süt endüstrisinde başlıca; katkı maddelerinin kullanımını kısıtlamak, yoğurdun viskozitesini iyileştirmek, doku ve aromayı arttırmak, sinerezisin önüne geçmek amacıyla kullanılmaktadırlar (Patel and Prajapati 2013).

EPS üreten *Str. thermophilus* ve *Lb. bulgaricus* suşları yapının düzenlenmesi, viskozite ve su tutma kapasitesinin geliştirilmesi ve serum ayrılmasını azaltmak amacı ile yoğurt üretiminde starter olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Hess *et al.* 1997; Ruas-Madiedo *et al.* 2002). Heteropolisakkaritler bunun yanında son ürünün tekstürünü, stabilitesini, tat ve aromasını da olumlu yönde değiştirecek etkiye sahiptirler (Duboc and Mollet 2001).

Pıhtıyı güçlendirmek amacıyla meyveli yoğurt üretiminde de EPS üreten suşlar kullanılabilir (Milci ve Yaygın 2005). Ayrıca EPS'lerin su tutma özelliğinin çok iyi olması sebebiyle özellikle düşük yağlı peynirlerin fonksiyonel özelliklerinin geliştirmek amacıyla peynir teknolojisinde de büyük öneme sahiptir (Broadbent *et al.* 2001). Düşük yağ içeriği bulunan peynirlerde yapı sert ve lastiğimsi bir özellik kazanmakta ve peynirin erimesi için ihtiyaç duyulan ısı artmaktadır (Low *et al.* 1998). Bu da Mozeralla benzeri peynirler için büyük bir dezavantajdır. Mozeralla peynirinin üretiminde EPS kullanıldığında peynirin fonksiyonel özellikleri düzelmekte ve peynirin verimliliğinde büyük ölçüde artış gözlemlenmektedir. Bunun yanında mukoz yapıda EPS üreten starterlerin kullanılması halinde peynir yapımı sırasında EPS'lerin bir kısmının seruma geçerek peyniraltı suyunun viskozitesini artırması peynir teknolojisinde bu bakterilerin kullanımını kısıtlamaktadır. Bununla birlikte kapsül formunda EPS içeren

starterler herhangi bir probleme neden olmamaktadır (Petersen *et al.* 2000; Broadbent *et al.* 2001).

EPS'ler teknolojik olarak çoğunlukla yoğurt ve peynir üretiminin yanı sıra kefir, ekşi hamur gibi diğer bir takım fermente ürünlerin bazı özelliklerini iyileştirilmesinde de kullanılmaktadır (Obert 1984). Dekstran *Leu. mesenteroides* tarafından üretilmekte ve fırıncılık sektöründe katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Patel and Prajapati 2013). EPS ilavesi hamurda glutenin yumuşaması, tekstürün gelişmesi, raf ömrünün uzaması ve son üründe hacim artışı gibi olumlu değişikliklere neden olmaktadır (Madhuri and Prabhakar 2014).

Renk, doku, lezzet ve koku gibi sucuğun en önemli teknolojik özellikleri fermentasyon koşulları (fermentasyon sıcaklığı ve süresi vb.)'nin yanında antimikrobiyal özellikleri ve EPS üretim özelliklerine bağlı olarak starter kültür kullanımından etkilenmektedir (Dertli vd 2016).

Teknolojik özelliklerinin yanı sıra LAB tarafından üretilen EPS'lerin insan sağlığı üzerine de faydalı etkileri bulunmaktadır (Duboc and Mollet 2001). EPS'lerin bağışıklık sistemini destekleme, kolesterolü düşürme, antiülser ve antitümör etkisinin olduğu belirtilmiştir (Soyuçok vd 2016).

1.4. Real-Time PCR Yöntemi ile Analiz

Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) tekniği, nükleik asitlerin miktarının tespit edilmesinde kullanılmaktadır (Günel 2007). PCR yönteminde verimin düşmesine neden olan reaksiyon devam ederken kimyasal maddelerin miktarında azalma olması, primerler için amplikasyonlar arasında rekabet oluşması ve döngü sayısı arttıkça polimeraz enziminin aktivitesinin yok olmaya başlaması gibi olumsuzlukları ortadan kaldırmak amacıyla RT-PCR geliştirilmiş ve yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Hücre konsantrasyonlarının çok az olması durumunda bile nicel saptama

imkânı sağlaması ve çok hızlı olması bu yöntemin diğer bir takım avantajları arasındadır (Özatay 2012).

RT-PCR, DNA ürünleri oluşumu ve DNA çoğaltımının aynı tüpte belirlenebildiği bir metoddur (Günel 2007). Bu yöntemde, amplikasyon döngülerinin herbiri için verdiği floresans ölçülmekte ve floresans miktarındaki artışı grafik haline dönüştürerek miktarın tespit edilmesi sağlanmaktadır. Böylece, RT-PCR sonucunda elde edilen DNA fragmanları PCR işlemi esnasında analiz edilmektedir. RT-PCR metodu genel olarak iki farklı temele dayanmaktadır. Birincisinde cihazın tespit edebileceği ve oluşan amplikonlara bağlandığında Sybr-Green gibi ışıma veren boyaların kullanılmasıdır. Diğer metodda ise iki tane prob kullanılmaktadır. Bunlardan bir tanesi DNA parçasının ucuna bağlanan floresan işaretli primer, diğeri ise ortasına bağlanan işaretli primerdir. Polimerizasyon işlemi işaretli primerden başlar ve bu sırada işaretli primer DNA parçasından ayrılır ve ortama atılır. İşaretli primer'in ortamda serbest kalması ile floresan parlama meydana gelir. Parlamaya hassas bir kamera ile floresandaki artış tespit edilir ve bu artışın bir eğri olarak bilgisayara aktarılması ile sonuçlar görüntülenebilmektedir (Lee *et al.* 1993; Valasek and Repa 2015). RT-PCR'daki sinyaller, meydana gelen PCR ürünlerinin miktarı ile orantılıdır. Kantitatif bilgilere DNA miktarının logaritmik bir şekilde arttığı döngüler sayesinde ulaşılır. Bu metod ile çok kısa sürelerde sonuca ulaşılabilir (Özatay 2012).

Bugün gen ifadesinin analizi, patojen mikroorganizmaların tespiti, DNA hasarlarının saptanması, mRNA'yı sayısal olarak belirleyebilme, SNP analizi, kromozom bozukluklarının tespiti gibi pek çok alanda RT-PCR kullanılabilmektedir (Günel 2007)

2. KAYNAK ÖZETİ

Sağdıç vd (2002) tarafından, farklı tereyağlarından izole edilen *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* izolatlarının 0,58- 0,97 g/100 mL, *Streptococcus* sp. izolatlarının 0,68-0,94 g/100 mL, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* izolatlarının 0,65- 1,19 g/100 mL, *Lb. casei* subsp. *casei* izolatlarının 0,35- 0,82 g/100 mL, *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* izolatlarının 0,62-0,87 g/100 mL, *Leu. pseudomesenteroide* suşlarının 0,29-0,45 g/100 mL laktik asit ürettikleri belirlenmiştir.

Ayhan vd (2005) tarafından yürütülen çalışmada, 29 çiğ süt örneğinden 30 *S. thermophilus* suşu, 70 çiğ süt örneğinden ise 24 *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşu izole edilmiş ve bu suşların ticari olarak önemli özellikleri incelenmiştir. Bu amaçla koklara 10°C ve 45°C, pH 9.6, %4,5 ve %6,5 tuz konsantrasyonlarında gelişebilme özellikleri test edilmiştir. İzolatların hepsi 45°C’de gelişirken, 10°C’de hiçbir izolatta gelişme gözlemlenmemiştir. Ayrıca, izolatlar %4,5 tuz konsantrasyonunda zayıf da olsa gelişme gösterirken, %6,5 NaCl konsantrasyonunda ve pH 9,6 değerinde gelişme olmadığı belirlenmiştir. Asit oluşturma yeteneklerinin ise ticari kok izolatlarında 3 suş hariç 0,95-1,50 g/100 mL arasında olduğu, yerli izolatlarda ise 0,35-1,0 g/100 mL arasında değiştiği belirtilmiştir. Bazı yerli izolatların ticari izolatlardan daha yüksek asit oluşturma yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Yerli ve ticari Laktobasil izolatları arasında asit oluşturma yetenekleri açısından büyük farklılıklar gözlemlenmekle birlikte, bazı ticari suşlar 1,0-1,5 g/100 mL gibi yüksek asit oluşturma yeteneği gösterirken, yerli suşların bu kadar yüksek değerler vermediği belirlenmiştir. Fakat 3 adet Laktobasil izolatının 0,80-0,90 g/100 mL asit ürettiği saptanmıştır.

Ertekin (2007) tarafından yapılan çalışmada ise, farklı gıdalardan izole edilen *Lb. plantarum* suşlarının 1. günün sonunda 1,24- 2,04 g/100 mL laktik asit üretilip pH’yı 3,45- 4,02’ye düşürdüğü, 2. günün sonunda ise 1,43- 2,06 g/mL laktik asit oluşturup pH’yı ise 3,50-3,85’e düşürdüğü belirlenmiştir. Aynı çalışmada 1. günün sonunda *Lb. helveticus* suşunun 1,01 g/100 mL, *Lb. lactis* subsp. *lactis*’in 0,83 g/100 mL, *Lb. pentosus* suşunun 1,85 g/100 mL, *Lb. brevis* suşlarının 0,65-1,30 g/100 mL, *Lb. curvatus* suşlarının 1,80-

1,93 g/100 mL, *Lb. salivarius* suşunun 1,33 g/ 100 mL, *Lb. acidophilus* suşunun ise 0,55 g/100 mL laktik asit ürettiği 2. günün sonunda ise *Lb. helveticus*'un 1,46 g/100 mL, *Lac. lactis* subsp. *lactis*'in 0,95 g/100 mL, *Lb. pentosus* suşunun 1,65 g/100 mL, *Lb. brevis* suşlarının 0,96-1,24 g /100 mL, *Lb. curvatus* suşlarının 1,52- 2,09 g/100 mL, *Lb. salivarius* suşunun 1,95 g/100 mL, *Lb. acidophilus* suşunun 0,61 g/100 mL laktik asit ürettiği belirlenmiştir.

Erkuş (2007) tarafından yürütülen ve yoğurt starter bakterilerinin fenotipik ve genotipik özelliklerinin belirlenmesine yönelik çalışmada; kullanılan 14 adet yoğurt örneğinin 13 adedi Toros Bölgesinden, 1 adedi ise Adana'dan temin edilmiştir. Toplanan yoğurt numunelerinden izole edilen yoğurt starter bakterilerine biyokimyasal tanımlama amacıyla gram boyama, farklı NaCl konsantrasyonlarında ve farklı sıcaklık değerlerinde gelişebilme ve glukozdan gaz oluşturma yetenekleri incelenmiştir. Kokların sadece 2 tanesinin %2 NaCl konsantrasyonuna karşı dirençli olduğu, %4 NaCl konsantrasyonuna karşı ise bütün kok izolatlarının hassas olduğu belirlenmiştir. Basil izolatların ise %4 ve %6,5 NaCl konsantrasyonlarında gelişme yetenekleri izlenmiştir. Sadece 1 izolatın %4 NaCl konsantrasyonuna karşı direnç gösterdiği ve hiçbir izolatın %6,5 NaCl konsantrasyonunda gelişmediği saptanmıştır. Ayrıca farklı sıcaklıklarda gelişme yetenekleri incelenmiş ve *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* izolatlarının 15°C'de gelişemeyip, 45°C'de geliştikleri; *Str. thermophilus* izolatlarının ise 10°C'de gelişme göstermeyip 45°C'de gelişebildikleri tespit edilmiştir. Bununla birlikte hiçbir izolat glukozdan gaz oluşturmamıştır.

Michaylova *et al.* (2007) yürüttüğü çalışmada, Bulgaristandaki bazı bitkilerden elde edilen 20 adet *Str. thermophilus* ve 20 adet *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* izolatlarının karakterizasyonunu belirlemeyi amaçlamışlardır. İzolatların asit oluşturma yeteneklerinin belirlenmesi amacıyla SMY medium'a %1 oranında inoküle edilmiş ve 37°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun 16 ve 40. saatlerinde 0,1 NaOH ile fenolfitaleyn indikatörlüğünde titrasyon yapılmıştır. *Str. thermophilus* izolatlarının inkübasyonun ilk 16 saatinde 0,85-1,10 g/100 mL asit ürettikleri ve pH değerlerinin 4,01-4,58 arasında değiştiği; inkübasyondan 40 saat sonra ise 0,85-1,28 g/100 mL asit ürettiği ve pH

değerlerinin 3,50-3,79 arasında olduğu bildirilmiştir. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* izolatlarının inkübasyonunun 16. saatinde ise 1,08-1,59 g/100 mL asit ürettikleri ve pH değerlerinin 3,67-4,18 arasında olduğu; 40. saatte ise 1,43-2,03 g/100 mL asit ürettikleri ve pH değerlerinin 3,50-3,79 aralığında değişim gösterdiği belirtilmiştir.

Çon ve Karasu (2009) tarafından turşu ve fermente yeşil zeytinden *Lb. plantarum* ve *Lb. pentosus* suşları izole edilmiş ve bu suşların asit üretimi laktik asit cinsinden incelenmiştir. İzole edilen *Lb. plantarum* ve *Lb. pentosus* suşlarının 1,60-1,95 g/100 mL seviyesinde laktik asit üretildiği bildirilmiştir.

Terzic-Vidojevic *et al.* (2009) tarafından yürütülen çalışmada Azerbaycan'dan toplanan geleneksel süt ürünlerinden (2 adet peynir, 3 adet yoğurt numunesinden) izole edilen LAB'lerin fenotipik ve genotipik özelliklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. İzole edilen suşların *Lb. brevis* (9), *Lb. fermentum* (1), *Lb. plantarum* (11), *Lb. paracasei* (5), *Lb. paraplantarum* (1), *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (5), *Lb. delbrueckii* (1), *Str. thermophilus* (1), *E. faecium* (8) olduğu tespit edilmiş olup 4 adet LAB izolatu tanımlanamamıştır. Fenotipik özelliklerin belirlenmesi amacıyla farklı sıcaklıklarda gelişme yeteneğinin incelendiği analizlerde tüm izolatların 30°C'de geliştiği ve 45°C'de ise *Lb. paracasei*, *Lb. paraplantarum* ve *Str. thermophilus* haricindeki izolatların geliştiği belirtilmiştir. %4 ve %6 NaCl konsantrasyonunda *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Str. thermophilus* ve tanımlanamayan LAB izolatlarında gelişme olmadığı tespit edilmiştir.

Azadnia and Khan Nazer (2009) tarafından yapılan çalışmada, İran'ın Fars vilayetindeki farklı bölgelerden toplanan içilebilir yoğurt örneklerinden izole edilen LAB'nin tanımlanması amacıyla morfolojik, kültürel, fizyolojik ve biyokimyasal testler kullanılmıştır. 18 adet içilebilir yoğurt örneğinden toplam 673 LAB izole edilmiş ve bunların 144'ünün *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* olduğu belirlenmiştir. İzole edilen *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının biyokimyasal özellikleri incelenmiş ve bu suşların glukozdan gaz oluşturmadığını ve arginini hidrolize edip NH₃ açığa çıkarmadığını tespit etmişlerdir. İzole edilen *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının 10°C ve 15°C'de gelişme göstermezken 45°C'de gelişme gösterdiği belirtilmiştir. %2

NaCl konsantrasyonunda *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşları gelişme göstermiş, fakat %3, %4 ve %6,5'te herhangi bir gelişme olmadığı bildirilmiştir. Bu suşların pH 4,5 ve 6,5'te ise geliştiği belirtilmiştir.

Ali (2011)'nin yaptığı çalışmada, Sudan Khartoun şehrinden toplanan geleneksel içilebilir yoğurt örneklerinden izole edilen 303 adet LAB arasından 94 âdetinin *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* olduğu tespit edilmiştir. İzolatların farklı sıcaklık derecelerinde, farklı tuz konsantrasyonlarında ve farklı pH değerlerinde gelişimi incelenmiştir. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının 10°C ve 15°C'de gelişme göstermediği fakat 45°C'de, pH 4,5 ve 6,5 değerlerinde gelişme gösterdiği belirtilmiştir. Suşların %2 NaCl konsantrasyonlarında gelişme gösterirken, %3, %4 ve %6,5 NaCl konsantrasyonlarında gelişme göstermediği bildirilmiştir. Ayrıca hiçbir *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* izolatının arginini parçalayamadığını belirtmiştir.

Tangüler (2010)'in yürüttüğü çalışmada, şalgam suyundan *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* cinsi bakterileri izole etmiştir. İzole edilen bakterilerin farklı pH değerlerinde gelişimi test edilmiştir. Test edilen bakterilerin hepsinin pH 4'te gelişme gösterdiği, ama hiçbir bakteride pH 9,6'da gelişme gözlemlenmediği belirtilmiştir. Çalışmada *Lb. fermentum*, *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. delbrueckii* ve *Lb. buchneri* kontrol bakterisi olarak denenmiştir. Bu bakteriler arasından yalnızca *Lb. buchneri*'nin pH 4,4'te gelişme gösteremediği, bununla birlikte pH 9,6'da ise hiçbir bakteride gelişme olmadığı belirtilmiştir.

Arslankoz (2011) yaptığı çalışmada, %3 tuz konsantrasyonunda turşu kaynaklı tüm bakteri izolatlarının gelişme gösterdiğini, %6,5 tuz konsantrasyonunda en iyi gelişmeyi *Lb. plantarum* türlerinin gösterdiğini, 3 bakterinin gelişmediğini; %10 tuz konsantrasyonunda en iyi gelişmeyi *P. ethanolidurans* ve *Lb. plantarum* türlerinin gösterdiğini, 12 bakterinin gelişmediğini; %12 tuz konsantrasyonunda ise *P. ethanolidurans* ve *Lb. namurensis*'in zayıf gelişme gösterdiğini belirtmiştir.

Ertekin ve on (2014) tarafından yapılan çalışmada, farklı kaynaklardan izole edilen LAB'lerinin endüstriyel ve probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla peynir, sucuk, ekşi hamur ve turşudan izole edilmiş 26 adet LAB ile 6 adet standart suş kullanılmıştır. Yapılan morfolojik testler sonucunda 9 tanesinin kok, 23 tanesinin basil olduğu tespit edilmiştir. *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. curvatus* türlerinin bir kısmının ve *Lb. paracasei* ve *Lb. lactis*'in pH 3'te geliştiği diğer türlerin gelişmediği; pH 3,5'te *Lac. lactis* subsp. *lactis* ve *Lb. helveticus* dışında hepsinin geliştiği; pH 9.6'da ise tüm türlerin gelişme gösterdiği belirtilmiştir. İzole edilen tüm suşların %6,5 NaCl konsantrasyonunda gelişebildiği, %8'de 2 suşun gelişme göstermediği, %9'da ise 3 adet suşta gelişme gözlemlenmediği bildirilmiştir. İzolatların asit üretme yeteneklerinin ortalama %1,81 g/mL olduğu belirtilmiştir.

Gündoğdu (2016) tarafından çiğ süt örneklerinden izole edilen LAB'lerinin, pH 3,9 ve pH 9,6'da üreme yetenekleri incelenmiş ve pH 3,9'da *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* ve *Aerococcus viridans* türleri iyi gelişme gösterirken; *Enterococcus faecalis*, *Lac. lactis* ssp. *cremoris* ve *Leuconostoc* türlerinin ya zayıf gelişme gösterdiği ya da hiç gelişme göstermediği belirtilmiştir. pH 9,6'da ise *Lb. plantarum* suşları iyi gelişme gösterirken, bazı *Lb. paracasei* türleri ile birlikte bazı *Leuconostoc* türlerinin ya zayıf gelişme gösterdiği ya da hiç gelişme göstermediği bildirilmiştir.

Tokatlı vd (2017) geleneksek turşulardan izole ettikleri LAB'leri arasında, %3 ve %6.5 tuz konsantrasyonunda hepsinin geliştiğini, %10 tuz konsantrasyonunda *E. casseliflavus*, *Lb. brevis* suşlarının bir kısmının, *Lb. buchneri* suşlarının, *Lb. namurensis* suşunun ve *Lb. parabrevis*'in gelişme göstermediğini; %12 tuz konsantrasyonunda ise *P. ethanolidurans* dışında hiçbir türün gelişmediğini belirtmiştir.

Degeest and De Vuyst (2000), EPS üretebilen beş farklı *Str. thermophilus* suşuyla yoğurt üretimi gerçekleştirmişlerdir. Araştırmada EPS miktarı, moleküler ağırlıkları ve şeker kompozisyonları ile elde edilen yoğurt örneklerinin tekstürel karakteristikleri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Yoğurtta EPS miktarı ve viskozite olarak en yüksek değerleri *Str.*

thermophilus LY03 ve *Str. thermophilus* CH101 suşları oluştururken, *Str. thermophilus* ST 111 ve *Str. thermophilus* STD suşlarının ise oldukça fazla miktarda EPS oluşturmalarına rağmen, belirgin bir viskozite değişimi sergilemediklerini bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda, yüksek molekül ağırlığındaki EPS'lerin çok düşük konsantrasyonlarda bile yüksek konsistens değeri göstermelerine rağmen EPS konsantrasyonunun tekstür değeri ile bir korelasyon ilişkisi kurulamayacağı bildirmişlerdir.

Duboc and Mollet (2001) tarafından yapılan çalışmada EPS üretme yeteneğine sahip olduğu bilinen *Lb. helveticus*'un Mozerella peynirinde su tutma kapasitesini arttırdığı bildirilmiştir.

Broadbent *et al.* (2001), EPS üreten *Str. thermophilus* MR-1C ve *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* MR-1R starterleri ve EPS üretmeyen kültürlerle ürettikleri (kontrol peyniri) Mozzarella peynirinde tekstür özelliklerini incelemişlerdir. Sonuç olarak EPS üretme yeteneğine sahip kültürle hazırlanan peynir örneklerinin EPS üretme yeteneğine sahip olmayan kontrol amaçlı ürettikleri peynir örneğine göre daha fazla su içeriğine ve daha iyi erime özelliklerine sahip olduklarını belirlemişlerdir.

Patel and Prajapati (2013)'nin yaptığı çalışmada, fermente süt ürünlerinde EPS üretmeyen *Lb. bulgaricus*'un EPS üretim kabiliyetine sahip *Lb. rhamnosus* JAAS8 ile kısmen veya tamamen yer değiştirmesi sonucunda viskozitenin sırasıyla %16 ve %21 arttığını, su tutma kapasitesinde ise %2 artış gözlemlendiğini belirtmişlerdir.

Oluk *et al.* (2014), EPS üretim kabiliyeti olan bakteri kültürleriyle Tulum peyniri üretmişler ve olgunlaşma esnasında uçucu bileşikler ve duyuşal özellikleri gözlemlenmişlerdir. Yapılan araştırma sonucunda, panelistlerce tam yağlı ve EPS üreten kültürlerle yapılan peynirlerin daha çok beğenildiği, EPS üreten starter kültürlerin düşük yağlı Tulum peynirinde kullanılması ile de aroma gelişimine olumlu katkı sağladığını ortaya koymuşlardır.

Dertli *et al.* (2016) tarafından yapılan çalışmada, EPS üretebilen *Lb. plantarum* 162 R ve *Leu. mesenteroides* N6 suşlarını kullanarak üretilmiş olan sucuğun tekstürel özelliklerinin EPS üretebilen suşlar sayesinde geliştiği, üretilen sucuğun daha sıkı ve daha az yapışkan olduğu bildirilmiştir.

Son yıllarda starter kültür olarak EPS sentezleme özelliğine sahip suşların kullanıldığı yoğurtların reolojik ve tekstürel özellikleri üzerine çok sayıda araştırma yapılmıştır (Ruas-Madiedo *et al.* 2002). Ale *et al.* (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, kontrol grubuna göre 300 mg/L EPS ilave edilerek yapılan yoğurtlarda kıvam indeksinin (k) anlamlı olarak yüksek olduğu ve bu değerin zaman içinde artış gösterdiği belirtilmiştir. Aynı çalışmada 300 mg/L ve 600 mg/L konsantrasyonlarında EPS içeren yoğurtların kontrol grubuna göre daha yüksek sertlik gösterdiği ($p<0,05$), bunun yanında 300 mg/L ve 600 mg/L EPS içeren yoğurtlarda sertlik açısından hiçbir fark olmadığını bildirmişlerdir. Raf ömrünün sonunda ise 600 mg/L EPS içeren örneklerin, 300 mg/L EPS içeren ve kontrol grubu örneklerine göre daha az sinerezise uğradığını tespit etmişlerdir.

Zhang *et al.* (2016) tarafından yapılan bir çalışmada ise EPS üretim yeteneği olan bir *Lb. bulgaricus* suşunun düşük yağ içeren yoğurtlarda su tutma kapasitesini geliştirdiğini bildirmişlerdir.

Demir vd (2017) tarafından yürütülen bir çalışmada, Akdeniz Bölgesindeki ev veya küçük ölçekli işletmelerde geleneksel yöntemlerle üretilmiş 40 adet yoğurt örneğinden izole edilmiş 55 adet LAB'nin moleküler yöntemlerle tanımlanması ve bu bakterilerin EPS üretimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Tanı testleri sonuçlarına göre; bakterilerin 50 tanesinin *Lb. bulgaricus*, 2'ser tanesinin *Lb. helveticus* ve *E. faecium* ve 1 tanesinin *Pediococcus acidilacti* olarak tanımlandığı belirtilmiştir. Bakterilerin EPS üretim miktarları 5,89 ile 134,60 mg/L arasında olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda *Lb. bulgaricus* La24B, La38A, La4C, Lj40C, La14A ve Lj38A'nın en çok EPS üreten suşlar olduğu bildirilmiştir.

Ülkemiz gıda sanayi yoğun olarak starter kültür kullanmasına rağmen sektörün ihtiyacı yurt dışından karşılanmaktadır. Gerçekleştirilen ithalat nedeni ile döviz kaybına, öte yandan kullanılan suşların farklı gıda orjinine sahip olması nedeni ile de damak tadı açısından da nispeten uyumsuzluklara neden olmaktadır. Bu durum yoğurt sektöründe daha belirgin olarak dikkat çekmektedir. Yapılan çalışma ile Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvarlarında önceden izolasyon ve tanıları gerçekleştirilmiş farklı yoğurt örneklerine ait 99 adet suş starter kültür özellikleri ve EPS üretim yetenekleri açısından incelenerek değerlendirilmiştir. Böylece ülkemiz yoğurt starter kültür sektörü için ürüne yönelik alt yapının oluşturulmasına katkı sağlanacaktır.

Bu amaçla ilgili suşlar farklı pH, sıcaklık ve tuz konsantrasyonlarında gelişim, asit üretim yeteneği ve hızı, arginin hidrolizi ve glikozdan gaz oluşturma özellikleri açısından test edilmiştir. Ayrıca suşların, yoğurt kıvamında etkili olan EPS üretim karakterleri de belirlenmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada yoğurt orjinli *Lb. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* suşları Atatürk Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. İlgi suşların makroskopik, mikroskopik ve genetik tanıları farklı bir araştırma ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 41 adet *Lb. bulgaricus* ve 58 adet *Str. thermophilus* suşu kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. İzolatların aktivasyonu ve saflıklarının kontrolü

-80°C’de 0,5 ml LB broth (Merck) ve 0,5 mL %20’lik Gliserol (Merck) eşliğinde muhafaza edilen izolatlar öncelikli olarak aktiveleştirilmiştir. Bu amaçla MRS (de man, Rogosa, Sharpe Agar) Agar (Oxoid) ve M17 Agar (Merck) kullanılmış ve üçlü çizim yöntemi ile ekim yapılmıştır. Yapılan ekimler sonrasında MRS Agar anaerob şartlarda (Anaerocult A, Merck) 37°C’de 2-3 gün, M17 Agar ise aerob şartlarda 37°C’de 1-2 gün inkübe edilmiştir (Harrigan 1998).

3.2.2. İzolatların makroskopik ve mikroskopik incelemesi

Mikroskopik incelemenin yapılması amacıyla, lam üzerine incelenmek istenen koloniden alınmış ve lam lamel arası preparat hazırlanarak ışık mikroskopunda incelemeler yapılmış, hücre şekli kaydedilmiştir (Jamaly *et al.* 2011).

3.2.3. Arginin hidrolizi

Bütün izolatların argininden amonyak oluşturma yeteneklerini belirlemek amacı ile Amonyum sitrat, glikoz ve et ekstratı içermeyen, %0,3 arginin ve amonyum sitrat yerine %0.2 sodyum sitrat içeren modifiye MRS sıvı besiyeri (1 litre distile suya; 10 g pepton, 4 g maya ekstratı, 1 ml Tween 80, 2 g K_2HPO_4 , 2 g sodyum sitrat, 0.05 g $MnSO_4 \cdot 4H_2O$, 0.2 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$) kullanılmıştır (Sánchez *et al.* 2000; Greco *et al.* 2005; Drosinos *et al.* 2007).

MRS agarda 48 saatte geliştirilen kültürler bir öze yardımıyla steril fizyolojik tuzlu suyun bulunduğu tüplere aktarılmış ve McFarland 0,5 yoğunluğuna ayarlanmıştır. Tüplerden 0,1 mL alınarak, 10 mL modifiye MRS sıvı besiyeri bulunan tüplere aktarılacak anaerobik ortamda 30°C'de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. Amonyak oluşumunu tespit etmek için Nessler ayırıcı kullanılmıştır. Inkübasyon süresi sonunda 1 mL Nessler ayırıcı bulunan tüplere 1 mL kültür ilave edilmiştir. Rengin portakal sarısı- kahverengine dönüşümü pozitif reaksiyon olarak kabul edilmiş olup amonyak oluşumunu göstermiştir (Carr *et al.* 2002; Greco *et al.* 2005; Drosinos *et al.* 2007).

3.2.4. Glikozdan gaz oluşumu

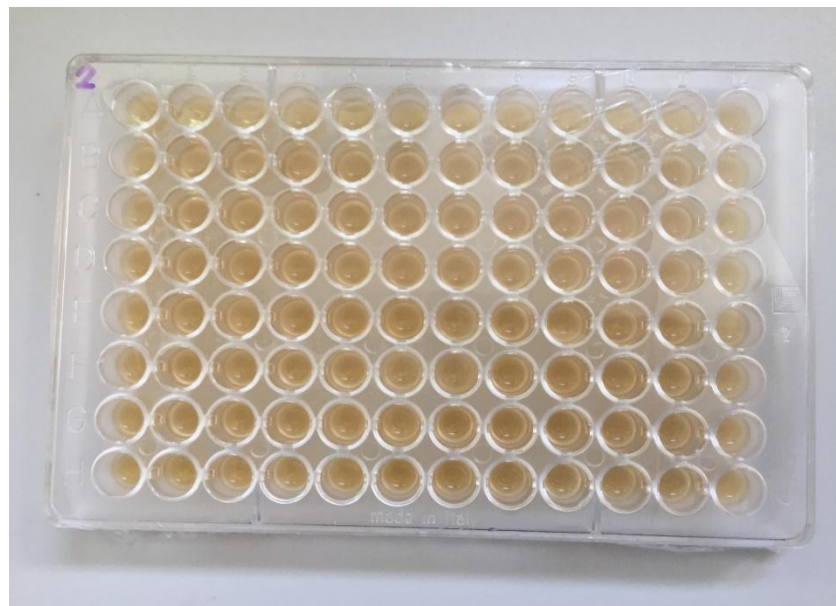
MRS agar besiyerinde 37°C'de 48 saatte geliştirilen kültürler steril fizyolojik tuzlu suyun bulunduğu tüplere aktarılmış ve McFarland 0,5 yoğunluğuna ayarlanmıştır. Durham tüpleri bulunan tüplere 10 ml sitrat içermeyen modifiye MRS broth besiyeri (1 litre distile suya; 10 g pepton, 8 g lablemcopowder, 4 g maya ekstratı, 20 g glikozi 1 ml Tween 80, 2 g K_2HPO_4 , 5 g sodyum asetat.3H₂O, 0,05 g $MnSO_4 \cdot 4H_2O$, 0,2 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$) ilave edilmiş ve 121°C'de otoklavda sterilize edilmiştir.

Geliştirilen kültürden 0,1 mL alınarak, durham tüplü sitrat içermeyen modifiye MRS broth besiyeri bulunan tüplere aktarılmış ve 30°C'de anaerobik şartlarda 24 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonunda durham tüpleri içerisinde gaz oluşumu incelenmiştir. Gaz oluşumu izolatın glikozdan CO₂ ürettiğini ve heterofermentatif gruba ait olduğunu

gösterirken; gaz oluşmaması homofermentatif gruba ait olduğunu göstermektedir (Badis *et al.* 2004; Şimşek vd 2006).

3.2.5. Farklı sıcaklıklarda gelişme yetenekleri

Basillerin sınıflandırılmasında en çok kullanılan kriterlerden birisi 15°C ve 45°C’de gelişebilme yetenekleridir (Hammes and Vogel 1995). *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, 15°C’de gelişemezken 45°C’de gelişebilmektedir. Kok izolatlarının sınıflandırılması için 10°C ve 45°C’de gelişebilme yetenekleri kullanılmaktadır. *Str. thermophilus*, 10°C gelişemez fakat 45°C’de gelişebilmektedir (Erkuş 2017). Bu amaçla, MRS broth (Merck) ve M17 broth (Merck) besiyerlerine öze ile aşılama yapılmıştır. Analiz edilecek sıcaklık değerlerinde (10°C, 15°C ve 45°C) 7 gün inkübasyona bırakılmıştır (Hèbert *et al.* 2000; Şimşek vd 2006; Kostinek *et al.* 2007; Terzic-Vidojevic 2009). İnkübasyon amacıyla 96’lık plateler kullanılmış olup (Şekil 3.1) okumalar plate reader’da (Epoch, BioTek), 600 nm absorbans değerlerine göre yapılmıştır. Absorbans değerlerine göre gelişim oranları tespit edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre; kör numune ile aynı absorbansı veren suşlar -, <1 absorbans gösteren suşlar +, 1-1,5 arasında absorbans gösteren suşlar ++, >1,5 absorbans gösterenler ise +++ olarak değerlendirilmiştir.

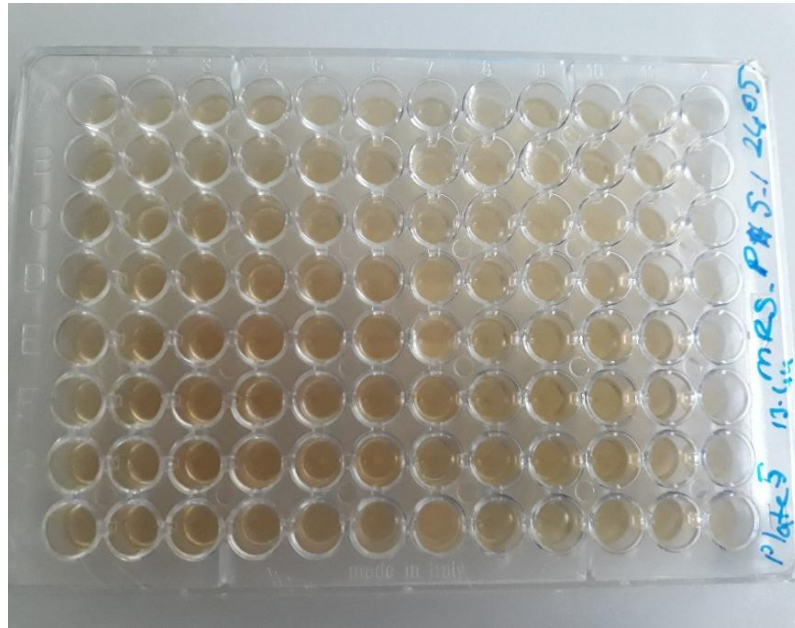


Şekil 3.1. Farklı sıcaklık derecelerinde gelişme yeteneği testinde kullanılan plate

3.2.6. Farklı pH değerlerinde gelişme yetenekleri

37°C’de 48 saat boyunca MRS agar besiyerinde geliştirilen laktobasil kültürleri ve M17 agar besiyerinde geliştirilen streptokok kültürleri bir öze yardımıyla steril fizyolojik tuzlu suya aktarılmış ve McFarland 0,5 yoğunluğuna ayarlanmıştır.

LAB’lerinin farklı pH değerlerinde gelişmelerini gözlemleyebilmek amacıyla MRS ve M17 broth besiyerlerinin pH değerleri 0,1 N HCl ve 1 N NaOH kullanılarak pH 2,5, pH 3,9, pH 5, pH 8,5 ve pH 9,6 olarak ayarlanmıştır. pH ayarlaması yapılan besiyerlerine 2 tekerrürlü olacak şekilde inokülasyon gerçekleştirilmiştir. 30°C’de 48 saat gelişmeye bırakılmıştır (Kask *et al.* 2003; Papamanoli 2003; Tangüler 2009; Terzic-Vidojevic 2009; Gündoğdu 2016). İnkübasyon amacıyla 96’lık plateler kullanılmış olup (Şekil 3.2) okumalar plate reader’da (Epoch, BioTek) yapılarak absorbans değerlerine göre gelişim oranları tespit edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre; kör numune ile aynı absorbansı veren suşlar -, <1 absorbans gösteren suşlar +, 1-1,5 arasında absorbans gösteren suşlar ++, >1,5 absorbans gösterenler ise +++ olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.2. Farklı pH değerlerinde gelişme yeteneği testinde kullanılan plate

3.2.7. Farklı tuz konsantrasyonlarındaki gelişme yetenekleri

37°C’de 48 saat boyunca MRS agar besiyerinde geliştirilen laktobasil kültürleri ve M17 agar besiyerinde geliştirilen streptokok kültürleri bir öze yardımıyla steril fizyolojik tuzlu suya aktarılmış ve McFarland 0,5 yoğunluğuna ayarlanmıştır.

LAB’lerinin farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme özelliklerini gözlemleyebilmek için MRS broth (Merck) ve M17 broth (Merck) besiyerlerinin konsantrasyonları %6,5, %10 ve %12 olacak şekilde NaCl eklenmiş ve 121°C’de 15 dakika steril edilmiştir. Farklı tuz konsantrasyonlarına ayarlanmış besiyerlerine herbiri 2 tekerrürlü olacak şekilde aşılama yapılarak, 30°C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Kask *et al.* 2003; Papamanoli 2003; Randazzo *et al.* 2004; Terzic-Vidojevic 2009). İnkübasyon amacıyla 96’lık plateler kullanılmış olup okumalar plate reader’da (Epoch, BioTek) gerçekleştirilmiştir. Absorbans değerlerine göre gelişim oranları gözlemlenmiştir. Analiz sonuçlarına göre; kör numune ile aynı absorbansı veren suşlar -, <1 absorbans gösteren suşlar +, 1-1,5 arasında absorbans gösteren suşlar ++, >1,5 absorbans gösterenler ise +++ olarak değerlendirilmiştir.

3.2.8. Laktik asit bakterilerinin asit üretme yetenekleri ve hız belirlenmesi

37°C’de 48 saat boyunca MRS agar besiyerinde geliştirilen laktobasil kültürleri ve M17 agar besiyerinde geliştirilen streptokok kültürleri bir öze yardımıyla steril fizyolojik tuzlu suya aktarılmış ve McFarland 0,5 yoğunluğuna ayarlanmıştır.

LAB’lerinin asit üretme yeteneklerini tespit etmek amacıyla; 20 ml steril MRS broth (Merck) ve M17 broth (Merck) besiyerlerine 0,5 McFarland yoğunluğuna ayarlanmış izolattan 0,5 mL aşılanmış ve 30°C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 12, 24, 48 saatlerinde 0,5 ml örnek alınmıştır. Örneklerin üzerine 40 mL saf su eklenmiş ve 2-3 damla %1’lik fenolfitaleyn (Merck) indikatörü eşliğinde, ayarlı 0,01 N NaOH (Merck) ile hafif pembe renk oluşuncaya kadar titre edilmiş ve harcanan alkali miktarı tespit

edilmiştir (V). Toplam asitlik hesaplanarak % laktik asit cinsinden ifade edilmiştir (Bulut 2003).

$$\% \text{ asitlik} = \frac{v.F.E}{m} \cdot 100$$

V: Titrasyonda harcanan NaOH miktarı (mL)

F: Titrasyonda kullanılan bazın normalitesi

E: 1 ml NaOH'ın eş değeri asit miktarı (g)

Laktik asit için E= 0,09 g

m: Örnek miktarı (mL)

3.2.9. EPS üretiminin Real-Time PCR yöntemi ile belirlenmesi

3.2.9.a. İzolatlardan DNA izolasyonu

Saf su içerisine aktararak -20°C'de bekletilen kültür solüsyonundan 100 µL alınıp 1,5 mL'lik ependorflara ilave edilmiş ve kültür solüsyonuna 500 µL streil saf su eklenmiştir. Elde edilen süspansiyon 5000×g'de 3 dakika santrifüj uygulanarak 3 kere fosfat tamponu ile yıkanmıştır. Yıkama sonrası bakteri süspansiyonuna 0,5 mL 6 M üre ve 0,1 mL %10 SDS eklenerek 37°C'de 20 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Örnekler 95°C'de 5 dakika bekletildikten sonra 8000×g'de 25°C'de 10 dakika santrifüj işlemi uygulanmıştır. Santrifüj işleminin bitiminde süpernatant ayrılarak atılmıştır. Daha sonra pellet üzerine 0,1 mL 0,2 N NaOH ilave edilerek 37°C'de 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Hücre yıkıntılarının (debris) uzaklaştırılması için uygulanan 3000×g'de 25°C'de 3 dakika santrifüj işleminin sonunda süpernatant uzaklaştırılmıştır. DNA'nın saflaştırılması amacıyla 2,5 hacim alkol eklenerek -20°C'de 2 saat bekletilmiştir. Bu işlemin ardından 132000×g'de 4°C'de 15 dakika santrifüj ve %70'lik etanol ile yıkama işlemleri uygulanmıştır. Oda sıcaklığında DNA pelleti kurutulduktan sonra 20 µL Tris EDTA (TE)

tamponu ile tekrar süspanse edilmiş ve RT-PCR işlemi için hazır hale getirilmiştir (Singh and Ramesh 2009).

DNA izolasyonu sonucu elde edilen template DNA'ların RT-PCR işleminde kullanılmak üzere kalitelerinin belirlenmesi amacıyla 260 nm ve 280 nm dalga boylarında tespit edilen absorbans değerlerinin oranları dikkate alınmıştır. Bu maksatla Take3 aparatı eşliğinde Epoch (Biotek) cihazından faydalanılmıştır.

3.2.9.b. RT-PCR tekniği

Bakterilerin EPS üretim yeteneğini tespit etmek amacıyla RT-PCR cihazından yararlanılmıştır. DNA izolasyonunun ardından 25µl toplam reaksiyon hacmini hazırlamak için 12.5 µL master mix (Qiagene), 0.2 µL forward ve revers primer kullanılmış ve kalıp DNA 50 ng/µL olacak şekilde ilave edilmiştir (Güllüce 2009). Reaksiyon hacmi safsu kullanılarak 25µL'ye tamamlanmıştır. Denemede EPS üretim kabiliyetini belirleyebilmek amacıyla Bact-a-F-36-TCATTTTATTCGTAAAA CCTCAATTGYGARYTNCC ve Bact-a-R-27 AATATTATTACGACCTSWNAY YTGC CA forward ve revers primerleri kullanılmıştır (Provencher *et al.* 2003).

Amplifikasyon işlemi için; 95°C'de 10 dakika ilk denatürasyon, 40 döngü olacak şekilde 95°C'de 20 saniye denatürasyon, 60.5°C'de 60 saniye annealing, 72°C'de 90 saniye uzama ve 72°C'de 10 dakika son uzama olacak şekilde bir protokol uygulanmıştır (Yıldız *et al.* 2001; Dertli 2014).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Çalışmada Atatürk Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Kültür Koleksiyonundan temin edilen yoğurt orijinli 99 izolat kullanılmıştır. Kullanılan 99 izolatın 41'i *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, 58'i ise *Str. thermophilus*'tur. Kullanılan izolatlara ait arginin hidrolizi, glukozdan gaz oluşturma, farklı sıcaklık derecelerinde, farklı NaCl konsantrasyonlarında, farklı pH değerlerinde gelişim, asit üretme yetenekleri ve EPS üretme kabiliyetlerine ilişkin sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

4.1. Biyokimyasal Özellikler

Analiz edilen laktik koklara uygulanan hücre morfolojisi, farklı sıcaklık derecelerinde, farklı tuz konsantrasyonlarında ve farklı pH değerlerinde gelişme yeteneklerine ait test sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Deneme kapsamındaki *Str. thermophilus* suşlarının 10°C, 15°C ve 45°C'de gelişme yetenekleri test edilmiştir. *Str. thermophilus* suşlarından hiçbirinde 10°C'de gelişme gözlenmemiştir. 15°C'de suşlarda %8,6 (5 adet)'sında zayıf gelişme olduğu, suşların %91,4 (53 adet)'ünün ise gelişme göstermediği saptanmıştır. Denenen *Str. thermophilus* suşlarının hepsi 45°C'de gelişmiş olup, bunların %53,4 (31 adet)'ünün çok iyi, %46,6 (27 adet)'sının iyi üremiş olduğu gözlemlenmiştir. 45°C'de en iyi gelişmenin 47S1 suşuna ait olduğu tespit edilmiştir.

Farklı NaCl konsantrasyonlarına dayanıklılık açısından *Str. thermophilus* suşlarından %22,4 (13 adet)'ü farklı konsantrasyonlarda dayanıklılık göstermiştir. Farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişim yeteneklerinin belirlenmesi amacıyla %6,5, %10 ve %12 olmak üzere üç farklı konsantrasyonda NaCl içeren besiyerleri kullanılmıştır. %6,5 NaCl konsantrasyonunda *Str. thermophilus* suşlarının %1,7 (1 adet)'si çok iyi üreme, %1,7 (1 adet)'si iyi üreme, %19 (11 adet)'u zayıf üreme göstermiş, %77,6 (45 adet)'sında ise üreme olmamıştır. %10 ve %12 NaCl konsantrasyonunda gelişme olmamış ve tüm

suşların %10 ve %12 konsantrasyonlarına hassas olduğu tespit edilmiştir. Farklı tuz konsantrasyonlarında denenen suşlardan en iyi gelişmeyi 11S2 suşunun gösterdiği saptanmıştır.

58 adet *Str. thermophilus* suşu farklı pH değerlerinde gelişme yetenekleri açısından incelenmiştir. Farklı pH değerlerinde gelişim özelliklerinin incelenmesi amacıyla pH 2,5, 3,9, 5,0, 8,5 ve 9,6'ya ayarlanmış besiyerleri kullanılmıştır. Test edilen hiçbir *Str. thermophilus* suşunun pH 2,5'da gelişme yeteneğine sahip olmadığı gözlemlendi. pH 3,9'da gelişme yetenekleri incelenen suşlardan %12,1 (7 adet)'inin iyi, %1,7 (1 adet)'sinin zayıf gelişme gösterdiği bulunmuştur. pH 5'te ise kokların %12,1 (7 adet)'inin çok iyi, %87,9 (51 adet)'unun iyi gelişme gösterdiği saptanmıştır. pH 8,5 ve 9,6'da, denenen suşların herhangi bir gelişme göstermediği ortaya konulmuştur.

Çizelge 4.1. *Str. thermophilus* suşlarının morfolojik ve biyokimyasal özellikleri

İzolat	Hücre Morfolohisi	Farklı sıcaklıklarda gelişim (°C)			Farklı tuz konsantras-yonlarında gelişim (%)			Farklı pH değerlerinde gelişim				
		10	15	45	6, 5	10	12	2,5	3,9	5,0	8,5	9,6
1S1	Streptokok	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
1S3	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
2S1	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
2S3	Streptokok	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
4S1	Streptokok	-	-	++	+	-	-	-	-	++	-	-
5S2	Streptokok	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
5S3	Streptokok	-	+	++	-	-	-	-	-	++	-	-
6S1	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
6S2	Streptokok	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
9S3	Streptokok	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
10S1	Streptokok	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-

Çizelge 4.1. (devam)

11S1	Streptokok	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
11S2	Streptokok	-	+	+++	+++	-	-	-	-	+++	-	-
12S1	Streptokok	-	+	+++	+	-	-	-	-	+++	-	-
14S2	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
15S1	Streptokok	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
15S4	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
16S1	Streptokok	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
17S2	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
17S3	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
18S2	Streptokok	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
18S3	Streptokok	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
19S1	Streptokok	-	-	+++	-	-	-	-	-	+++	-	-
19S3	Streptokok	-	-	+++	+	-	-	-	-	++	-	-
20S1	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	+++	-	-
20S3	Streptokok	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
20S4	Streptokok	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
20S6	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
26S1	Streptokok	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
30S1	Streptokok	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
30S4	Streptokok	-	-	+++	+	-	-	-	++	++	-	-
30S5	Streptokok	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
31S1	Streptokok	-	-	+++	+	-	-	-	++	++	-	-
33S2	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
35S1	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
35S2	Streptokok	-	+	++	+	-	-	-	-	++	-	-
37S1	Streptokok	-	-	++	+	-	-	-	++	++	-	-
37S2	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
38S2	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
39S1	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-

Çizelge 4.1. (devam)

40S1	Streptokok			+++	-	-	-	-	-	++	-	-
41S2	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
42S1	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
42S3	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
43S2	Streptokok	-	-	++	+	-	-	-	++	++	-	-
44S1	Streptokok	-	-	+++	++	-	-	-	++	++	-	-
44S2	Streptokok		-	+++	-	-	-	-	+	++	-	-
45S1	Streptokok	-	+	+++	-	-	-	-	-	+++	-	-
46S2	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
47S1	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	+++	-	-
47S2	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
48S1	Streptokok	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
48S2	Streptokok	-	-	+++	+	-	-	-	++	++	-	-
48S3	Streptokok	-	-	+++	+	-	-	-	++	++	-	-
48S4	Streptokok	-	-	+++	+	-	-	-	-	++	-	-
48S5	Streptokok	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
23M1	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	+++	-	-
41M1	Streptokok	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-

- : Üreme görülmemiştir (Absorbans değeri=kör numune)

+

++ : İyi üreme (1<Absorbans değeri<1,5)

+++ : Çok iyi üreme (1,5 < Absorbans değeri)

Analiz edilen *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarına ait biyokimyasal test sonuçları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Deneme kapsamındaki *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının 10°C, 15°C ve 45°C’de gelişme yetenekleri test edilmiştir. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının hiçbirisi 10°C’de gelişme göstermemiştir. 15°C’de ise sadece 1 tane suşun zayıf gelişme gösterdiği saptanmıştır. 45°C’de gelişim özellikleri incelenen basil suşların bu sıcaklık derecesinde iyi gelişim gösterdiği, bu sıcaklıkta suşların %56,1 (23 adet)’inin çok iyi,

%43,9 (18 adet)'unun ise iyi bir şekilde gelişme yeteneği olduğu tespit edilmiştir. Tüm suşlar arasından 45°C'de en iyi gelişim özelliğine sahip olanın 50M1 olduğu saptanmıştır.

41 adet *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşuna ait farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişim yeteneklerinin belirlenmesi amacıyla %6,5, %10 ve %12 olmak üzere üç farklı konsantrasyonda NaCl içeren besiyerleri kullanılmıştır. Hiçbir *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşunun %6,5, %10 ve %12 NaCl konsantrasyonlarında üremediği, suşların söz konusu NaCl konsantrasyonlarına karşı hassas olduğu tespit edilmiştir.

Lb. delbrueckii subsp. *bulgaricus* suşları farklı pH değerlerinde gelişme yetenekleri açısından incelenmiştir. Farklı pH değerlerinde gelişim özelliklerinin incelenmesi amacıyla pH 2,5, 3,9, 5,0, 8,5 ve 9,6'ya ayarlanmış besiyerleri kullanılmıştır. Kullanılan *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının pH 2,5'e karşı hassas olduğu gözlemlenmiştir. Suşların %4,9 (2 adet)'u pH 3,9'da iyi, %12,2 (5 adet)'si zayıf üreme göstermiş, %84,2 (32 adet)'sinde ise üreme görülmemiştir. pH 5'te suşların %12,2 (5 adet)'sinde çok iyi, %87,8 (36 adet)'inde iyi üreme görülmüştür. pH 8,5 ve pH 9,6 değerlerinde basil suşların hiçbirinde üreme olmadığı saptanmıştır.

Çizelge 4.2. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarına ait morfolojik ve biyokimyasal özellikler

İzolat	Hücre Morfolojisi	Arginin Hidrolizi	Glukozdan Gaz Oluşturma	Farklı sıcaklıklarda gelişim (°C)			Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim (%)			Farklı pH değerlerinde gelişim				
				10	15	45	6,5	10	12	2,5	3,9	5,0	8,5	9,6
5M1	Basil	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
5M4	Basil	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
6M1	Basil	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
6M2	Basil	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
7M1	Basil	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	+++	-	-
8M1	Basil	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
8M4	Basil	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-

Çizelge 4.2. (devam)

9M1	Basil	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
9M2	Basil	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+	++	-	-
9M3	Basil	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
9M4	Basil	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+	++	-	-
10M1	Basil	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	+	++	-	-
10M2	Basil	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	++	++	-	-
10M5	Basil	-	-	-	+	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
10M6	Basil	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
11M1	Basil	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
11M2	Basil	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
11M5	Basil	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
12M1	Basil	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+	++	-	-
12M2	Basil	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
25M2	Basil	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
25M3	Basil	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
26M1	Basil	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	+++	-	-
26M2	Basil	+	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
27M3	Basil	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
27M5	Basil	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
28M1	Basil	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
29M1	Basil	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
33M1	Basil	+	-	-	-	+++	-	-	-	-	++	+++	-	-
35M2	Basil	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
37M1	Basil	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
40M1	Basil	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
40M2	Basil	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
46M1	Basil	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
47M1	Basil	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	+++	-	-
50M1	Basil	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
8S1	Basil	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	+++	-	-
8S2	Basil	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
21S1	Basil	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	++	-	-
22S2	Basil	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	++	-	-
23S2	Basil	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+	++	-	-

- Üreme görülmemiştir (Absorbans değeri=kör numune)

+ Zayıf üreme (Absorbans değeri <1)

++ İyi üreme (1<Absorbans değeri<1,5)

+++ Çok iyi üreme (1,5 < Absorbans değeri)

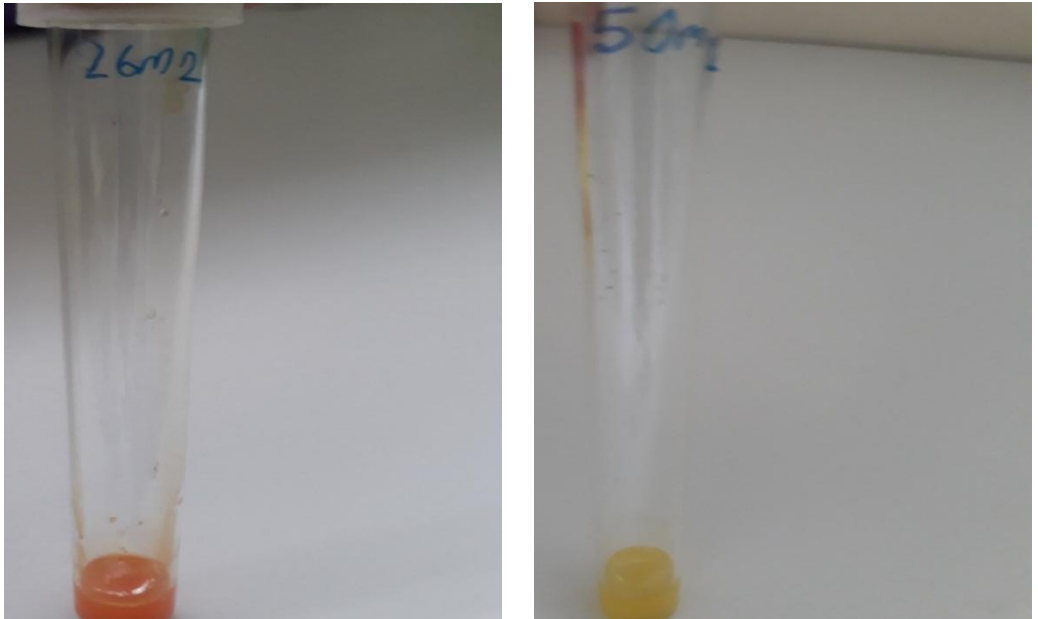
Lb. delbrueckii subsp. *bulgaricus* suşlarının hepsi glukozdan gaz oluşumu testine tabi tutulmuş ve test tüpleri incelenmiştir. Suşların hiçbirinde Durham tüplerinde gaz oluşumu gözlemlenmemiştir. Elde edilen sonuçlara göre test edilen *Lb. delbrueckii* subsp.

bulgaricus suşlarının hepsinin homofermentatif olduğu tespit edilmiştir. Glukozdan gaz oluşturma test sonuçlarına ait tüpler Şekil 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1. Glukozdan gaz oluşumu test sonuçları

Analiz edilen 41 *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşundan %4,9 (2 adet)’unun arginininden NH_3 oluşturduğu, %95,1 (39 adet)’inde ise herhangi bir reaksiyon olmadığı tespit edilmiştir. Arginin hidrolizi testi yapılan ve pozitif sonuç veren 26M2 (solda) ve negatif sonuç veren 50M1 (sağda) suşlara ait test tüpleri Şekil 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.2. Arginin hidrolizi testi yapılan ve pozitif sonuç veren 26M2 (solda) ve negatif sonuç veren 50M1 (sağda) suşları

Azadnia and Khan Nazer (2009) tarafından yapılan çalışmada, İran'ın Fars vilayetindeki farklı bölgelerden toplanan içilebilir yoğurt örneklerinden izole edilen 673 LAB'den 144'ünün *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* olduğunu tespit etmiştir. Araştırmacılar izole edilen suşların glukozdan gaz oluşturmadığını ve arginini hidrolize edip NH_3 açığa çıkarmadığını tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının homofermentatif olması uygunluk gösterirken, çalışmamızda arginini hidrolize ederek NH_3 açığa çıkarabilme yeteneğine sahip 2 adet *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşu tespit edilmiştir.

Nigam *et al.* (2012) çalışmalarında çiğ süt, lor peyniri, domates ve dosadan izole edilen 4 LAB izolatının (*Lb. salivarius*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. fermentum*, *Lb. acidophilus*) antimikrobiyal aktivitelerini belirlemeyi amaçlamışlardır. Çalışmada izole edilen *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* izolatının 15°C ve 45°C 'de geliştiği, ayrıca argininden NH_3 oluşturduğunun gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da argininden NH_3 oluşturan 2 adet *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşu olduğu gözlemlenmiştir.

Erkuş (2007) tarafından yürütülen çalışmada, 13 adedi Toros Bölgesinden, 1 adedi ise Adana'dan toplanan 14 yoğurt numunesinden 68 kok ve 71 basil izolatı elde edilmiştir. Elde edilen 139 izolatın farklı NaCl konsantrasyonlarında ve farklı sıcaklık değerlerinde gelişebilme ve glukozdan gaz oluşturma yetenekleri incelenmiştir. Kokların sadece 2 tanesinin %2 NaCl konsantrasyonuna karşı dirençli olduğu, %4 NaCl konsantrasyonuna karşı ise bütün kok izolatlarının hassas olduğu belirlenmiştir. Basil izolatların ise %4 ve %6,5 NaCl konsantrasyonlarında gelişme yetenekleri izlenmiştir. Sadece 1 izolatın %4 NaCl konsantrasyonuna karşı direnç gösterdiği ve hiçbir izolatın %6,5 NaCl konsantrasyonunda gelişmediği saptanmıştır. Ayrıca suşların farklı sıcaklıklarda gelişme yetenekleri incelenmiş ve *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* izolatlarının 15°C 'de gelişemeyip, 45°C 'de geliştikleri; *Str. thermophilus* izolatlarının ise 10°C 'de gelişme göstermeyip 45°C 'de gelişebildikleri tespit edilmiştir. Bununla birlikte hiçbir izolat glukozdan gaz oluşturmamıştır. Bizim çalışmamız farklı sıcaklık derecelerinde gelişim ve glukozdan gaz oluşturma yetenekleri açısından bu çalışmayla uygunluk

göstermektedir. Çalışmamızda sürpriz bir şekilde 1 adet *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşu 15°C’de zayıf gelişme göstermiştir. Farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişim yetenekleri açısından bulduğumuz sonuçlar ise çalışmadaki *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşları ile uygunluk gösterirken, bizim çalışmamızda denenen *Str. thermophilus* suşlarının bir kısmının %6,5 NaCl konsantrasyonunu tolere edebildiği gözlemlenmiştir.

Ali (2011)’nin yaptığı çalışmada, Sudan Khartoun şehrinden toplanan geleneksel içilebilir yoğurt örneklerinden izole edilen 303 adet LAB arasından 94 adetinin *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* olduğu tespit edilmiştir. İzolatların farklı sıcaklık derecelerinde, farklı tuz konsantrasyonlarında ve farklı pH değerlerinde gelişimi incelenmiştir. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının 10°C ve 15°C’de gelişme göstermediği fakat 45°C’de, pH 4,5 ve 6,5 değerlerinde gelişme gösterdiği belirtilmiştir. Suşlar, %2 NaCl konsantrasyonlarında gelişme gösterirken, %3, %4 ve %6,5 NaCl konsantrasyonlarında gelişme gösterememiştir. Ayrıca hiçbir *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* izolatının arginini parçalayamadığını belirtmiştir. Farklı sıcaklık dereceleri ve farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişim yetenekleri açısından bulunan sonuçlar bu çalışma ile uygunluk göstermektedir.

Terzic-Vidojevic *et al.* (2009) tarafından yürütülen çalışmada, Azerbaycan’da bulunan geleneksel süt ürünlerinden (2 adet peynir, 3 adet yoğurt numunesinden) izole edilen *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (5 adet) ve *Str. thermophilus* (1 adet) izolatlarının 45°C’de geliştiği, %4 ve %6 NaCl konsantrasyonunda gelişme gözlemlenmediği belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda da test edilen suşlar 45°C’de gelişme göstermiş, farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişim yetenekleri açısından bulunan sonuçlar ise *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarında uygunluk gösterirken, kullandığımız *Str. thermophilus* suşları farklı tuz konsantrasyonlarını tolere etmiştir.

Iyer *et al.* (2011) tarafından yapılan çalışmada Hindistan orijinli 209 adet süt ve süt ürünü örneğinden izole edilen izolatların klasik biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle karakterize edilmiştir. Çalışmada süt ve süt ürünlerinden rastgele 500 koloni izole edilmiş

ve 140 tanesi morfolojik olarak incelenmiştir. Morfolojik olarak *Str. thermophilus* olduğu kanıtlanan 140 suştan 23 izolat, 10°C’de, %4 ve %6,5 NaCl konsantrasyonunda, pH 9,6’da ve %0,1 metilen mavisinde gelişim yeteneği dikkate alınarak tanımlanmıştır. İzolatların 117 tane *Str. thermophilus* olarak tanımlanmıştır. 117 tane *Str. thermophilus* izolatının ise biyokimyasal profilinin, katalaz ve bile esculin negatif, %6,5 NaCl konsantrasyonunda gelişim gösteren, früktoz, glukoz ve maznnozu fermende edebilen fakat dekstroz, mannitol, rhamnoz, salisin, sorbitol ve ksilozu fermente edemeyen şeklinde tanımlamışlardır. Bizim çalışmamız ile *Str. thermophilus* suşlarının %6,5 NaCl konsantrasyonunda gelişim yetenekleri açısından bu çalışma uygunluk göstermektedir.

4.2. LAB’lerinin Asit Üretme Yetenekleri

Deneme kapsamındaki suşların asit üretme yeteneklerini belirlemek amacıyla, inkübasyonun 12, 24 ve 48 saatlerinde pH değerleri ölçülmüş ve asitlik laktik asit cinsinden hesaplanmıştır. *Str. thermophilus* suşlarının farklı inkübasyon sürelerine asit üretim miktarları (% L.A.) Çizelge 4.3’te yer almakatadır.

Asit üretme yeteneği analizi sonucunda; *Str. thermophilus* suşlarının 12 saat sonunda pH 6,95-5,30 arasında olup asit üretim miktarlarının 0,29-0,88 % L.A. olduğu, 24 saat sonunda pH 6,91-4,18; asit üretim miktarlarının 0,32-1,10 % L.A. arasında olduğu ve 48 saat sonunda pH 6,76-3,89 arasında iken asit üretim miktarlarının 0,37-1,30 % L.A. arasında olduğu bulunmuştur. 48 saat sonunda *Str. thermophilus* suşları arasında en az asit üretim yeteneğine sahip suşun 40S1 olduğu, en yüksek asit üretim yeteneğine sahip suşun ise 23M1 olduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.3. *Str. thermophilus* suşlarının farklı inkübasyon sürelerinde asit üretim miktarları

İzolat	12 Saat		24 Saat		48 Saat	
	pH	Asit Üretimi (% L.A.)	pH	Asit Üretimi (% L.A.)	pH	Asit Üretimi (% L.A.)
1S1	5,90	0,72	5,75	0,77	5,38	0,83
1S3	5,60	0,75	5,55	0,81	5,47	0,82
2S1	6,86	0,41	6,75	0,44	6,45	0,47
2S3	6,87	0,41	6,70	0,43	6,10	0,61
4S1	6,85	0,29	6,70	0,34	5,90	0,68
5S2	6,20	0,65	5,90	0,67	5,44	0,74
5S3	6,80	0,38	6,74	0,43	6,00	0,70
6S1	5,95	0,67	5,74	0,77	5,55	0,81
6S2	5,97	0,65	5,81	0,74	5,33	0,85
9S3	5,91	0,70	5,82	0,72	5,22	0,86
10S1	6,10	0,68	5,88	0,74	5,27	0,86
11S1	5,65	0,72	5,43	0,77	5,30	0,86
11S2	5,45	0,77	5,30	0,86	5,21	0,88
12S1	6,60	0,43	6,46	0,47	5,70	0,85
14S2	5,90	0,67	5,75	0,77	5,50	0,81
15S1	5,95	0,66	5,88	0,74	5,13	0,86
15S4	6,15	0,63	5,56	0,74	5,30	0,85
16S1	6,75	0,42	6,70	0,40	6,30	0,47
17S2	5,96	0,65	5,78	0,76	5,10	0,86
17S3	5,79	0,74	5,62	0,79	5,40	0,83
18S2	6,15	0,68	6,00	0,70	5,75	0,76
18S3	6,60	0,43	6,46	0,47	6,20	0,65
19S1	6,86	0,39	6,68	0,43	6,30	0,47
19S3	6,75	0,42	6,10	0,61	5,90	0,67
20S1	5,75	0,72	5,60	0,79	5,27	0,85
20S3	6,10	0,68	6,00	0,70	5,88	0,74
20S4	5,91	0,68	5,78	0,76	5,60	0,79
20S6	5,75	0,72	5,65	0,79	5,40	0,83
26S1	6,64	0,41	6,45	0,47	6,35	0,50
30S1	5,49	0,81	5,36	0,90	5,40	0,83
30S4	5,75	0,72	5,65	0,79	5,30	0,85
30S5	6,89	0,34	6,81	0,35	6,62	0,45
31S1	6,70	0,40	6,65	0,41	6,50	0,45
33S2	5,30	0,88	5,16	0,90	5,15	0,90
35S1	6,93	0,32	6,81	0,36	6,65	0,43
35S2	6,65	0,41	6,50	0,45	6,10	0,68
37S1	5,75	0,72	5,64	0,81	5,41	0,81

Çizelge 4.3. (devam)

İzolat	12 Saat		24 Saat		48 Saat	
	pH	Asit Üretimi (% L.A.)	pH	Asit Üretimi (% L.A.)	pH	Asit Üretimi (% L.A.)
37S2	6,91	0,32	6,75	0,39	6,71	0,41
38S2	6,68	0,40	6,67	0,41	6,67	0,41
39S1	6,70	0,38	6,68	0,39	6,60	0,45
40S1	6,90	0,33	6,81	0,35	6,76	0,37
41S2	6,95	0,29	6,91	0,32	6,62	0,45
42S1	6,80	0,36	6,75	0,40	6,66	0,42
42S3	6,70	0,39	6,71	0,39	6,69	0,40
43S2	6,80	0,38	6,76	0,40	6,67	0,42
44S1	6,12	0,63	5,99	0,63	5,41	0,79
44S2	6,94	0,29	6,80	0,36	6,68	0,40
45S1	6,80	0,35	6,68	0,40	6,55	0,44
46S2	6,83	0,35	6,74	0,39	6,70	0,40
47S1	6,95	0,29	6,81	0,35	6,70	0,40
47S2	6,91	0,32	6,76	0,38	6,69	0,40
48S1	6,00	0,70	5,83	0,74	5,58	0,77
48S2	5,91	0,68	5,77	0,74	5,30	0,85
48S3	6,50	0,45	6,40	0,49	5,45	0,77
48S4	5,90	0,70	5,76	0,77	5,37	0,81
48S5	6,81	0,35	6,68	0,40	6,60	0,44
23M1	5,34	0,82	4,18	1,10	3,89	1,30
41M1	5,75	0,73	5,66	0,76	4,57	0,99

% L.A.: % laktik asit

Çalışmamızda *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının asit üretim yetenekleri ve pH değerleri incelenmiştir. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının farklı inkübasyon sürelerine asit üretim miktarları (% L.A.) Çizelge 4.4'te yer almaktadır.

Yapılan testler sonucunda; *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının 12 saat sonunda pH değerleri 5,78-5,20 arasında olup asit üretim miktarlarının 0,69-0,85 %L.A. olduğu, 24 saat sonunda pH 5,70-4,10; asit üretim miktarlarının 0,71-1,14 % L.A. arasında olduğu ve 48 saat sonunda pH 5,08-3,63 arasında iken asit üretim miktarlarının 0,88-1,53 % L.A. arasında olduğu saptanmıştır. 48 saat sonunda *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşları arasında en az asit üretim yeteneğine sahip suşun 10M1 ve 40M2 olduğu, en yüksek asit üretim yeteneğine sahip suşun ise 9M4 olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.4. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının farklı inkübasyon sürelerine ait asit üretim miktarları

İzolat	12 Saat		24 Saat		48 Saat	
	pH	Asit Üretimi (% L.A.)	pH	Asit Üretimi (% L.A.)	pH	Asit Üretimi (% L.A.)
5M1	5,42	0,81	5,10	0,86	4,06	1,20
5M4	5,46	0,80	5,29	0,82	4,58	0,99
6M1	5,50	0,79	5,21	0,82	3,81	1,35
6M2	5,53	0,79	5,04	0,88	3,74	1,42
7M1	5,20	0,85	4,10	1,14	3,65	1,51
8M1	5,74	0,72	4,80	0,95	3,98	1,26
8M4	5,72	0,72	4,70	0,96	3,92	1,33
9M1	5,63	0,74	4,60	0,98	3,65	1,51
9M2	5,54	0,77	4,77	0,95	3,69	1,48
9M3	5,74	0,73	5,68	0,76	4,58	0,99
9M4	5,55	0,77	4,66	0,96	3,63	1,53
10M1	5,61	0,75	5,55	0,79	5,08	0,88
10M2	5,70	0,72	4,92	0,90	3,72	1,46
10M5	5,51	0,80	4,88	0,92	3,68	1,49
10M6	5,44	0,81	4,70	0,96	3,73	1,44
11M1	5,38	0,83	4,60	0,98	3,71	1,46
11M2	5,53	0,79	5,14	0,86	4,25	1,08
11M5	5,40	0,82	4,80	0,95	3,85	1,30
12M1	5,35	0,85	4,50	0,99	3,70	1,47
12M2	5,37	0,85	4,60	0,96	3,77	1,40
25M2	5,78	0,69	5,70	0,71	4,42	0,97
25M3	5,74	0,70	5,67	0,71	4,32	1,05
26M1	5,77	0,69	5,56	0,75	4,15	1,13
26M2	5,75	0,70	5,54	0,76	4,43	0,97
27M3	5,71	0,74	4,70	0,96	3,85	1,33
27M5	5,74	0,71	5,69	0,72	4,25	1,10
28M1	5,72	0,74	5,68	0,72	3,94	1,25
29M1	5,60	0,78	5,51	0,77	4,11	1,17
33M1	5,70	0,76	5,05	0,88	3,96	1,27
35M2	5,72	0,74	5,44	0,81	3,98	1,26
37M1	5,75	0,70	5,68	0,72	4,25	1,00
40M1	5,61	0,77	5,51	0,76	4,20	1,11
40M2	5,75	0,71	5,68	0,73	5,08	0,88
46M1	5,74	0,72	5,62	0,75	4,45	0,97
47M1	5,76	0,70	5,61	0,75	4,03	1,22
50M1	5,70	0,74	5,42	0,81	3,75	1,37
8S1	5,36	0,83	4,50	0,99	3,91	1,33
8S2	5,40	0,81	4,72	0,95	3,75	1,44
21S1	5,70	0,75	4,90	0,90	3,95	1,27
22S2	5,50	0,80	4,85	0,90	3,70	1,47
23S2	5,75	0,72	5,02	0,88	3,95	1,27

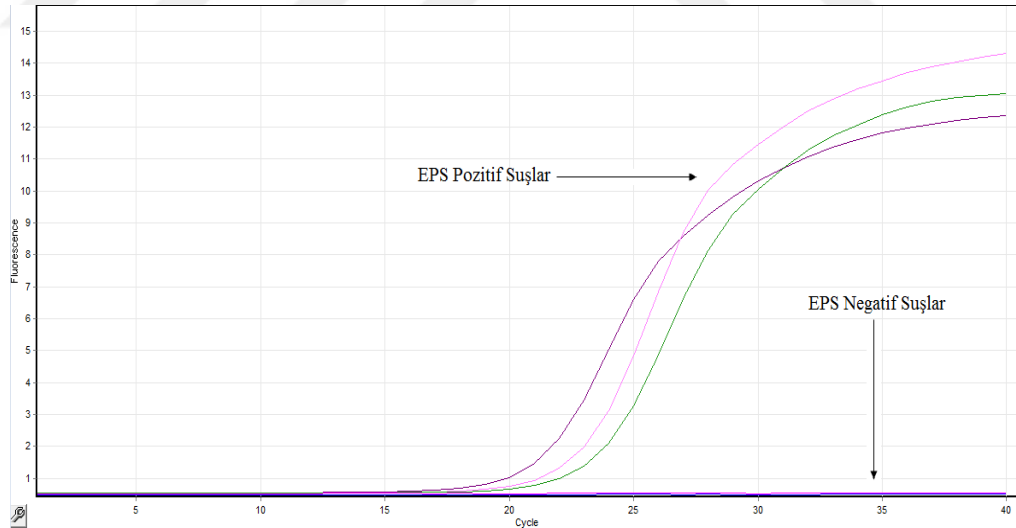
% L.A.: % laktik asit

Michaylova *et al.* (2007) yürüttüğü çalışmada, Bulgaristandaki bazı bitkilerden elde edilen 20 adet *Str. thermophilus* ve 20 adet *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* izolatlarının asit üretme yeteneklerini incelemiştir. *Str. thermophilus* izolatlarının inkübasyonun ilk 16 saatinde 0,85-1,10 g/100 mL asit ürettikleri ve pH değerlerinin 4,01-4,58 arasında değiştiği; inkübasyondan 40 saat sonra ise 0,85-1,28 g/100 mL asit ürettiği ve pH değerlerinin 3,50-3,79 arasında olduğu bildirilmiştir. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* izolatlarının inkübasyonunun 16. saatinde ise 1,08-1,59 g/100 mL asit ürettikleri ve pH değerlerinin 3,67-4,18 arasında olduğu; 40. saatte ise 1,43-2,03 g/100 mL asit ürettikleri ve pH değerlerinin 3,50-3,79 aralığında değişim gösterdiği belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarına ait asit üretim miktarları bu çalışmaya göre daha düşüktür.

Ayhan vd (2005) tarafından yürütülen çalışmada, 29 çiğ süt örneğinden 30 *Str. thermophilus* suşu, 70 çiğ süt örneğinden ise 24 *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşu izole edilmiş ve bu suşların ticari olarak önemli özellikleri incelenmiştir. Asit oluşturma yeteneklerinin ise ticari kok izolatlarında 3 suş hariç 0,95-1,50 g/100 mL arasında olduğu, yerli izolatlarda ise 0,35-1,0 g/100 mL arasında değiştiği belirtilmiştir. Bazı yerli izolatların ticari izolatlardan daha yüksek asit oluşturma yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Yerli ve ticari Laktobasil izolatları arasında asit oluşturma yetenekleri açısından büyük farklılıklar gözlemlenmekle birlikte, bazı ticari suşlar 1,0-1,5 g/100 mL gibi yüksek asit oluşturma yeteneği gösterirken, yerli suşların bu kadar yüksek değerler vermediği gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamızda bulunan *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarına ait asit üretim miktarları ortalama olarak bu çalışma ile uygunluk göstermektedir. *Str. thermophilus* suşlarının ise yerli ürünlerden elde edilen kokların asit üretimi ile uygunluk gösterdiği görülmüş olup bizim çalışmamızdaki suşların bazı ev tipi ya da ticari yoğurtlardan izole edildiği düşünülürse bulduğumuz sonuçlar bu çalışma ile uygunluk göstermektedir.

4.3. EPS Üretim Yeteneği

İzolatların EPS üretim yetenekleri qPCR ile tespit edilmeye çalışılmış ve elde edilen temsili pikler Şekil 4.3'te verilmiştir. Üzerinde çalışılan suşlarda EPS oluşturma genlerinin varlığı uygun primer [Bact-a-F-36-TCATTTTATTCGTAAAACCTCAATT GYGARYTNCC ve Bact-a-R-27 AATATTATTACGACCTSWNAYYTGC CA] ile belirlenmiş ve şekilde de görüldüğü gibi EPS genlerinin varlığı qPCR cihazı tarafından tespit edilmiştir. Analizde kullanılan template DNA'larda EPS geni mevcudiyetinde amplikasyon gerçekleşmiş ve ilave edilen Syber-Green boyasının DNA'nın çift sarmallı yapısı arasına yerleşmesi sayesinde cihaz tarafından okumalar yapılmıştır. EPS geninin varlığı qPCR piklerindeki artış ile tespit edilmektedir. EPS geninin bulunmadığı izolatların pikleri ise herhangi bir artış gözlemlenmemiştir. Böylece PCR işlemi sonunda qPCR piklerine bakılarak EPS üretme yeteneğine sahip olan ve olmayan suşlar belirlenmiştir.



Şekil 4.3. İzolatların EPS üretim yeteneklerine ait qPCR ile tespit edilmeye çalışılan temsili pikler

Deneme kapsamındaki 99 adet suşun EPS üretme yetenekleri test edildi. Test edilen *Str. thermophilus* suşlarının EPS üretme yeteneklerine ait bulgular Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. *Str. thermophilus* suşlarının EPS üretme yetenekleri

Sıra	İzolat	EPS Üretme Kabiliyeti	Sıra	İzolat	EPS Üretme Kabiliyeti
1	1S1	-	28	26S1	-
2	1S3	-	29	27S1	-
3	2S1	-	30	30S1	-
4	2S3	-	31	30S4	-
5	4S1	-	32	30S5	-
6	5S2	-	33	31S1	+
7	5S3	-	34	33S2	-
8	6S1	-	35	35S1	-
9	6S2	-	36	35S2	-
10	9S3	-	37	37S1	-
11	10S1	-	38	37S2	-
12	11S1	-	39	39S1	+
13	11S2	-	40	41S2	-
14	12S1	-	41	42S1	-
15	14S2	-	42	42S3	-
16	15S1	-	43	43S1	-
17	15S4	-	44	43S2	-
18	16S1	-	45	44S1	-
19	17S2	-	46	44S2	-
20	17S3	-	47	45S1	-
21	18S3	-	48	46S2	-
22	19S1	-	49	47S1	-
23	19S2	-	50	47S2	-
24	20S1	-	51	48S1	-
25	20S3	-	52	48S2	-
26	20S4	-	53	48S3	-
27	20S6	-	54	48S4	-

Çizelge 4.5. (devam)

Sıra	İzolat	EPS Üretme Kabiliyeti	Sıra	İzolat	EPS Üretme Kabiliyeti
55	48S5	-			
56	48S2	-			
57	23M1	-			
58	41M1	-			

+ : pozitif

- : negatif

Lb delbrueckii subsp. *bulgaricus* suşlarının EPS üretme yeteneklerine ait bulgular Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının EPS üretme yetenekleri

Sıra	İzolat	EPS Üretme Kabiliyeti	Sıra	İzolat	EPS Üretme Kabiliyeti
1	5M1	-	22	25M3	+
2	5M4	+	23	26M1	+
3	6M1	+	24	26M2	+
4	6M2	+	25	27M3	-
5	7M1	+	26	27M5	-
6	8M1	-	27	28M1	+
7	8M4	-	28	29M1	+
8	9M1	+	29	33M1	-
9	9M2	+	30	35M2	+
10	9M3	+	31	37M1	+
11	9M4	+	32	40M1	-
12	10M1	-	33	40M2	+
13	10M2	+	34	46M1	-
14	10M5	+	35	47M1	+
15	10M6	+	36	50M1	-

Çizelge 4.6. (devam)

16	11M1	+	37	8S1	-
17	11M2	+	38	8S2	-
18	11M5	-	39	21S1	-
19	12M1	+	40	22S2	-
20	12M2	+	41	23S2	+
21	25M2	+			

+ : pozitif

- : negatif

Analiz edilen *Str. thermophilus* suşlarının %3,4 (2 adet)'ünün EPS ürettiği %96,6 (56 adet)'sinin EPS üretme yeteneğine sahip olmadığı tespit edilmiştir. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının %63,4 (26 adet)'ünün EPS üretme kabiliyetine sahipken %36,6 (15 adet)'sinin EPS üretme kabiliyetine sahip olmadığı tespit edilmiştir. Toplamda ise analiz edilen suşların %28,3 (28 adet)'ünün EPS ürettiği, %71,7 (71 adet)'sinin EPS üretmediği gözlemlenmiştir.

Mora *et al.* (2002) tarafından yapılan çalışmada, günlük süt ürünlerinden izole edilen *Str. thermophilus* suşlarının teknolojik özellikleri ve genetik çeşitliliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Elde edilen *Str. thermophilus* suşlarının 36 adeti yoğurttan izole etmişlerdir. Bunlardan 18 adet suşun EPS ürettiğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızla karşılaştırıldığında analiz ettiğimiz *Str. thermophilus* suşlarından EPS üretenlerin sayısı bu çalışmaya göre oldukça az olduğu saptanmıştır.

Demir vd (2017) tarafından yapılan çalışmada, yoğurt örneklerinden izole edilmiş LAB'lerinin moleküler yöntemlerle tanımlanması ve EPS üretiminin belirlenmesini amacıyla izole edilen 55 adet LAB'nin 50 adetini *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* olarak tanımlamışlardır. Analiz edilen 55 adet izolatin tümünün EPS ürettiği belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda 41 adet *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşunun 26 tanesi EPS üretmiştir. EPS üreten *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının sayısının bu çalışmaya göre daha az olduğu tespit edilmesine rağmen, bu sayı analizi yapılan *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının %63,4'ünü oluşturmaktadır.

Van Geel-Schutten *et al.* (1998) çalışmalarında, 182 adet *Lactobacillus* suşunun 60'ının EPS üretim yeteneğine sahip olduklarını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda 41 *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşunun 26 tanesinin EPS ürettiği gözlemlenmiş ve bu sayı çalışmadaki sayılar ile nispeten uygunluk göstermektedir.



5. SONUÇ

Çalışmamızda daha önceden yoğurt örneklerinden izole edilen ve 16S rRNA bölgesi hedef alınarak moleküler yöntemlerle tanıları yapılan 58 adet *Str. thermophilus* ve 41 adet *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşu Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Aktifleştirilen suşların starter özelliklerini belirlemek amacıyla bir takım analizler yapılmıştır. Bu amaçla suşların farklı pH, sıcaklık ve tuz konsantrasyonlarında gelişimleri ile arginin hidrolizi, glukozdan CO₂ oluşturma özellikleri ve EPS üretme yetenekleri incelenmiştir.

Yapılan analizler sonucu elde edilen bulgular aşağıda belirtilmiş olup ilgili sonuçlara varılmıştır.

- Çalışmada sonucunda, kullanılan birçok suşun yoğurt üretiminde muhtemel starter kültür olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Böylece ülkemiz endüstrisi için önerilebilecek ve damak tadımıza uygun suşların bulunduğu bir kaynak oluşturulmaya çalışılmıştır.
- Toplamda 99 suşun 28 adetinin (23S2, 31S1, 39S1, 5M4, 6M1, 6M2, 7M1, 9M1, 9M2, 9M3, 9M4, 10M2, 10M5, 10M6, 11M1, 11M2, 12M1, 12M2, 25M2, 25M3, 26M1, 26M2, 28M1, 29M1, 35M2, 37M1, 40M2, 47M1) EPS üretme yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Yoğurt üretiminde EPS üretim kabiliyetine sahip suşların kullanılması; katkı maddesi kullanımını azaltabileceği gibi, yoğurdun viskozite ve tekstür gibi özelliklerini iyileştirebilme, yoğurt üretiminde bir sorun olarak karşımıza çıkan sinerizisi önleyebilme ve tat ve aromasını geliştirebilme gibi fonksiyonlara sahiptir. Tüm bu olumlu özellikleri nedeniyle çalışmamızda EPS üretim kabiliyetine sahip 28 adet suşun daha sonra yapılabilecek çalışmalar veya üretimlerde starter kültür kombinasyonlarında potansiyel olarak kullanılabileceği anlaşılmıştır.
- Arginin hidrolizi testinin sonucunda 41 adet *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşunun 2 tanesinin arginini parçalama yeteneğine sahip olduğu görülmüştür.

- 99 adet suşun hiçbirinin 10°C gelişemediği, 15°C’de 6 adet suşun zayıf gelişme gösterdiği diğer suşlarda gelişme olmadığı ve 45°C’de hepsinin iyi veya çok iyi geliştiği gözlemlenmiştir. Suşların beklenildiği üzere optimum gelişme sıcaklıkları olan 45°C’de geliştiği görülmüştür.
- Çalışmada kullanılan tüm suşların yoğurt üretiminin gerçekleştiği asitlik değeri olan pH 5’te gelişme gösterebildiği ortaya konulmuştur.
- Toplamda 58 adet *Str. thermophilus* suşunun %22,4’ünün farklı tuz konsantrasyonlarını tolere edebildiği gözlemlenmiştir. Bununla birlikte *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının tamamının denenen tuz konsantrasyonlarına hassas olduğu saptanmıştır. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişebilen *Str. thermophilus* suşlarının Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği (2015)’nde belirtildiği üzere tuz oranı en çok %3-7,5 olarak değişebilen peynirlerde ilave kültür olarak kullanılabilme imkanlarının daha sonraki çalışmalarda denenebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Ale, E.C., Perezlindo, M. J., Pavón, Y., Peralta, G. H., Costa, S., Sabbag, N., Bergamini, C., Reinheimer, J. A. and Binetti, A. G., 2016. Technological, rheological and sensory characterizations of a yogurt containing an exopolysaccharides extract from *Lactobacillus fermentum* Lf2, a new food additive. Food Research International, 90, 259-267.
- Ali, A.A., 2011. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated From Traditional Driking Yoghurt in Khartoun State, Sudan. Current Research in Bacteriology, 4 (1), 16-22.
- Altuntaş, E.G., Ayhan, K., Okcu, G., Erkanlı, K., Balcı, M.H. and Sonakın, Ş.S., 2010. Çiğ Süt ve Peynir Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyel Aktiviteleri. Gıda Dergisi, 35 (3), 197- 203.
- 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 (1), 138-146.
- Anonim, 2009. Resmi Gazete, Fermente Süt Ürünleri Tebliği, 27143,
- Anonim, 2015. Resmi Gazete, Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği, 29261.
- Arslankoz, N., 2011. Ankara Çubuk Yöresi Turşularından İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Teknolojik ve Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Ayhan, K., Durlu-Özkaya, F. and Tunail, N., 2005. Commercially important characteristics Turkish origin domestic strains of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. International Journal of Dairy Technology, 58 (3), 150-157.
- Azadnia, P. and Khan Nazer, A.H., 2009. Identification of lactic acid bacteria isolated from traditional driking yoghurt in tribes of Fars province. Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University, 10 (3), 235-240.
- Badis, A., Guetarni, D., Boudjema, B.M., Henni, D. H. and Kihal, M., 2004. Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. Food Microbiology, 21 (5), 579-588.
- Bouzar, F., Cerning, J. and Desmazeaud, M., 1997. Exopolysaccharide Production and Texture-Promoting Abilities of Mixed-Strain Starter Cultures in Yogurt Production. Journal of Dairy Science, 80 (10), 2310-2317.
- Broadbent, J.R., McMahon, D. J., Oberg, C. J. and Welker, D. L., 2001. Use of exopolysaccharide- producing cultures to improve the functionality of low fat cheese. International Dairy Journal, 11 (4- 7), 433- 439.
- Bulut, Ç., 2003. Isolation and Molecular Characterization of Lactic acid Bacteria from Cheese. Yüksek Lisans Tezi, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, İzmir.
- Caplice, E. and Fitzgerald, G.F., 1999. Food Fermentation: Role of Microorganisms in Food Production and Preservation. International Journal of Food Microbiology, 50 (1-2), 131-149.
- Carr, F.J., Chill, D. and Maida, N., 2002. The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. Critical Reviews in Microbiology, 28 (4), 281-370.

- Cerning, J., 1995. Production of exopolysaccharides by lactic acid bacteria and dairy propionibacteria. *Le Lait*, 75 (4- 5), 463- 472.
- Cerning, J., Bouillanne, C., Landon, M. and Desmazeaud, M., 1992. Isolation and Characterization of Exopolysaccharides from Slime- Forming Mesophilic Lactic Acid Bacteria. *Journal of Dairy Science*, 75 (3), 692- 699.
- Coueret, V., Dubernet, S., Bernardeau, M. and Gueguen, M., 2003. Isolation, characterization and identification of Lactobacilli focusing mainly on cheeses and other dairy products. *Dairy Science & Technology*, 83 (4), 269-306.
- Çakıroğlu, F.P., 2003. Yoğurdun Besleyici ve Sağlığı Koruyucu Etkisi. *Gıda Dergisi*, 28 (1), 101-104.
- Çelikyurt, G. and Arıcı, M., 2008. Gıda Koruyucusu Olarak Mikrobiyal Kaynaklı Organik Asitler ve Önemi. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum.
- Çon, A.H. and Gökalp, H.Y., 2000. Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyal Metabolitleri ve Etki Şekilleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 30 (3-4), 180- 190.
- Çon, A.H. and Karasu, N., 2009. Determination of Antagonistic Starter Cultures for Pickle and Olive Fermentation Processes. *Czech Journal of Food Sciences*, 27 (3), 185- 193.
- De Vuyst, F. and Degeest, B., 1999. Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 23 (2), 153- 177.
- Deeth, H.C. and Tamime, A.Y., 1981. Yogurt: Nutritive and Therapeutic Aspects. *Journal of Foods Protection*, 44 (1), 78- 86.
- Demir, E., Kaygusuz, E., Başyigit Kılıç, G., Yüce, S. and Soyuçok, A., 2017. Yoğurt Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması ve Ekzopolisakkarit Üretimlerinin Belirlenmesi. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8 (Ek Sayı 1), 262- 267.
- Demirgöl, F. and Sağdıç, O., 2017. Laktik Starter Kültür Üretim Teknolojisi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*. 11 (7), 27- 37.
- Dertli, E., 2014. Isolation and Identification of on Exopolysaccharide Producer *Streptococcus thermophilus* Strain from Turkis Yogurt. *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 21 (2), 229-232.
- Dertli, E., Yilmaz, M. T., Tatlisu, N.B., Toker, Ö.S., Cankurt, H. and Sagdic, O., 2016. Effects of in situ exopolysaccharide production and fermentation conditions on physicochemical, microbiological, textural and microstructural properties of Turkish- type fermented sausage (sucuk). *Meat Science*, 121, 156- 165.
- Drinan, D.F., Tobin, S. and Cogan, T.M., 1976. Citric Acid Metabolism in Hetero- and Homofermentative Lactic Acid Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 3 (4), 481-486.
- Drosinos, E. H., Paramithiotis, S., Kolovos, G., Tsikouras, I. and Metaxopoulos, I., 2007. Phenotypic and technological diversity of lactic acid bacteria and staphylococci isolated from traditionally fermented sausages in Southern Greece. *Food Microbiology*, 24 (3), 260-270.
- Du Toit, M., Huch, M., Cho, G.S. and Franz, C.M.A.P., 2014. The Genus *Streptococcus*. Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy, 1nd ed., Ed: W.H. Holzapfel and B.J.B. Wood. WILEY & Sons Ltd., UK, 457-476.
- Duboc, P. and Mollet, B., 2001. Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *International Dairy Journal*, 11 (9), 759- 768.

- Durso, L. and Hutkins, R., 2003. Starter Cultures. Encyclopedia of Food Science and Nutrition, 2nd ed., Ed: B. Caballero, L. Turugo, P. Finglas. Academic Press, Unites Kingdom, 5583-559.
- Erkaya, T., 2009. İnek, Manda, Koyun ve Keçi Sütlerinden Üretilen Yoğurtların Bazı Kalite Özelliklerinin Tespiti ve Aroma Profillerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Erkuş, O., 2007. Isolation, Phenotypic and Genotypic Characterization of Yoghurt Starter Bacteria. Doktora Tezi, İzmir Yüksek Teknoloji Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Ertekin, Ö. and Çon, A.H., 2014. Farklı Gıdalardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Endüstriyel ve Probiyotik Özellikleri. Akademik Gıda Dergisi, 12 (4), 6- 16.
- Ertekin, Ö., 2007. Farklı Gıdalardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Nümerik Taksonomisi. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- Farrow, J.A.E. and Collins M.D., 1984. DNA Base Composition, DNA-DNA Homology and Long-chain Fatty Acid Studies on *Streptococcus thermophilus* and *Streptococcus salivarius*. Journal of General Microbiology, 130 (2), 357-362.
- Feber, E.J., Zoon, P., Kemerling, J.P. and Vliegthart, J.F.G., 1998. The exopolysaccharides produced by *Streptococcus thermophilus* Rs and Sts have the same repeating unit but differ in viscosity of their milk cultures. Carbohydrate Research, 310 (4), 269- 276.
- Fisberg, M. and Machado, R., 2015. History of yogurt and current patterns of consumption. Nutrition Reviews, 73 (1), 4- 7.
- Freitas, F., Alves, V.D. and Reis, M.A.M., 2011. Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to biotechnological applications. Trends in Biotechnology, 29 (8), 388- 398.
- Greco, M., Mazzette, R., De Santis, E.P.L., Corona, A. and Cosseddu, A. M., 2005. Evolution and identification of lactic acid bacteria isolated during the ripening of Sardinian sausages. Meat Science, 69 (4), 733-739.
- Grosu- Tudor, S.S. and Zamfir, M., 2014. Exopolysaccharide Production by Selected Lactic Acid Bacteria Isolated From Fermented Vegetables. Scientific Bulletin, Series F. Biotechnologies, 18, 107- 114.
- Gugliandolo, C., Maugeri, T. L., Caccamo, D. and Stackebrandt, E., 2003. *Bacillus aeolius* sp. a Novel Thermophilic, Halophilic Marine *Bacillus* Species from Eolian Islands (Italy). Systematic and Applied Microbiology, 26 (2), 172-176.
- Güllüce, A., 2009. Farklı Hayvan Türlerinin Isıl İşlem Uygulanmış Et Karışımlarında Real-Time PCR Tekniği İle Tespit Edilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Gündoğdu, G., 2016. Çiğ Süt Örneklerinden izole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Amasya.
- Günel, T., Gen Anlatımının Kantitatif Analizi “Real-Time PCR”. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi, 27 (5), 763-767.
- Halkman, A.K., 1991. Tarım Mikrobiyolojisi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 1214, 82 s, Erzurum.

- Hammes, W.P. and Vogel, R.F., 1995. The Genus *Lactobacillus*. The Genera of Lactic Acid Bacteria, 1st ed., Ed: B.J.B. Wood and W.H. Holzapfel. Springer- Science + Business Media, B.V., Almanya, 19-49.
- Hardie, J.M. and Whiley, R.A., 1995. The genus *Streptococcus*. The Genera of Lactic Acid Bacteria, 1st ed., Ed: B.J.B. Wood and W.H. Holzapfel. Springer- Science + Business Media, B.V., Almanya, 55-124.
- Harrigan, W.F., 1998. Laboratory Methods in Food Microbiology. Academic Press, San Diego, USA.
- 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 (1-2), 19-27.
- Iyer, A., Mody, K. and Jha, B., 2005. Characterization of an exopolysaccharide produced by marine *Enterobacter cloacae*. Indian Journal of Experimental Biology, 43 (5), 467-471.
- Iyer, R., Tomar, S.K., Mohanty, A.K., Singh, P. and Singh R., 2011. Bioprospecting of strains of *Streptococcus thermophilus* from Indian fermented milk products for folate production. Dairy Sci. & Technol., 91 (2), 237-246.
- İşleröğlu, H., Yıldırım, Z. and Yıldırım, M., 2008. Yöresel Peynirden Antimikrobiyal Aktiviteye Sahip Laktik Asit Bakterisinin İzolasyonu ve Tanısı. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 25 (1), 1-6.
- Jamaly, N., Benjouad, A., Bouksaim, M., 2011. Probiotic Potential of *Lactobacillus* strains Isolated from Known Popular Traditional Moroccan Dairy Products. British Microbiology Research Journal, 1(4), 79-94.
- Jay, J.M., Loessner, M.J. and Golden, D.A., 2005. Modern Food Microbiology, 7nd ed., Springer Science+Business Media inc., 790s, United States of America.
- Karakaş, H. and Törnük, F., 2016. Geleneksel Gıdaların Okul Çağındaki Çocukların Beslenmesindeki Rolü Üzerine Bir Araştırma. Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi, 37 (3), 292-302.
- Kask, S., Adamberg, K., Orłowski, A., Vogensen, F.K., Möller, 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 (9-10), 1037-1046.
- Kılıç, S., 2010. Süt Mikrobiyolojisi, SİDAS Medya Ltd. Şti., 642s, İzmir.
- Kızılaslan, N. and Solak, İ., 2016. Yoğurt ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi, 12 (1), 52-59.
- Kleerebezem, M. and Hugenholtz, J., 2003. Metabolic pathway engineering in lactic acid bacteria. Current Opinion in Biotechnology, 14 (2), 232- 237.
- Klein, G., Pack, A., Bonaparte, C. and Reuter, G., 1998. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. International Journal of Food Microbiology, 41 (2), 103-125.
- Kocaadam, B. and Acar-Tek, N., 2016. The Historical Processes of Bread, Beer, Wine(*Saccharomyces Cerevisiae*) and Yogurt. Bes Diy Derg, 44 (3), 272-279.
- 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 (3), 342-351.

- Lee, L. G., Connell, C. R. and Bloch, W., 1993. Allelic discrimination by nick-translation PCR with fluogenic probes. *Nucl. Acids Res.*, 21 (16), 3761-3766.
- Limsowtin, G.K.Y., Brome, M.C. and Powell, I.B., 2002. Lactic Acid Bacteria Taxonomy. *Encyclopedia of Dairy Science*, 1nd ed., Ed: H. Roginski, J. Fuguay, P. Fox. Academic Press, United Kingdom, 1470-1478.
- Low, D., Ahlgren, J.A., Horne, D., McMahon, D.J., Oberg, C.J. and Broadbent, J.R., 1998. Role of *Streptococcus thermophilus* MR-1C Capsular Exopolysaccharide in Cheese Moisture Retention. *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (6), 2147-2151.
- Madhuri, K.V. and Prabhakar, K.V., 2014. Microbial Exopolysaccharides: Biosynthesis and Potential Applications, *Oriental Journal of Chemistry*, 30 (3), 1401-1410.
- Makarova, K., Slesarev, A., Wolf, Y., Sarokin, A., Mirkin, B., Koonin, E., Pavlov, A., Pavlova, N., Karamychev, V., Palouchine, N., Shakhova, V., Grioriev, I., Lou, Y., Rhoksar, D., Lucas, S., Huang, K., Goodstein, D.M., Hawkins, T., Plengvidhya, V., Welker, D., Hughes, J., Goh, A., Benson, A., Baldwin, K., Lee, J.H., Díaz-Muñoz, I., Dosti, B., Smelanov, V., Wechter, W., Barabote, R., Lorca, G., Altermann, E., Barrangou, R., Ganeson, B., Xie, Y., Rawsthorne, H., Tamir, D., Parker, C., Breidt, F., Broadbent, J., Hutkins, R., O'Sullivan, D., Steele, J., Unlu, G., Saier, M., Klaenhammer, T., Richardson, P., Kozyavkin, S., Weimer, B. and Mills, D., 2006. Comparative genomics of the lactic acid bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103 (42), 15611-15616.
- Michaylova, M., Minkona S., Kimura, K., Sasaki, T. and Isawa, K., 2007. Isolation and Characterization of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* plants in Bulgaria, *FEMS Microbiol Lett.*, 269 (1), 160-169.
- Milci, S. and Yaygın, H., 2005. Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Ekzopolisakkaritler ve Süt Ürünlerindeki Fonksiyonları. *Gıda Dergisi*, 30 (2), 123- 129.
- Mora, D., Fortina, M.G., Parini, C., Ricci, G., Gatti, M., Giraffa, G. and Manachini, P.L., 2002. Genetik diversity and technological properties of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from dairy products. *Journal of Applied Microbiology*, 93 (2), 278-287.
- Mozzi, F., Oliver, G., De Giori, G.S. and De Valdez, G.F., 1995. Influence of temperature on the production of exopolysaccharides by thermophilic lactic acid bacteria. *Milchwissenschaft*, 50 (2), 80-82.
- Nakamura, T., Syukunobe, Y., Doki, R., Shimodo, K., Yoshida, T. and Kuwazuru, M., 1991. Stimulating effect of milk casein hydrolysates on the growth *Streptococcus thermophilus*. *Nippon Shak. Kongo*, 38 (9), 858-863.
- Nigam, A., Kumar, A., HV, M. and Bhola, N., 2012. In-vitro Screening of antibacterial activity of lactic acid bacteria against common enteric pathogens. *Journal of Biomedical Sciences*, 1 (4-2), 1-6.
- Nwodo, U.U., Green, E. and Okoh, A.I., 2012. Bacterial Exopolysaccharides: Functionality and Prospects. *International Journal of Molecular Sciences*, 13 (11), 14002-14015.
- Obert, G., 1984. Manufacturing of technology of cream turo with extented shelf life & isolation of a special strain of lactic acid bacteria which improves product consistency (in Hungarian). *Teijipar*, 33 (1), 47-48.

- Oluk, C., Güven, M. and Hayaloglu, A.A., 2014. Proteolysis texture and microstructure of low-fat Tulum Cheese affected by exopolysaccharide-producing cultures during ripening. *Institute of Food Science+Technology*, 49 (2), 435-443.
- Oluk, C.A. and Güven, M., 2015. Ekzopolisakkarit Üreten ve Üretmeyen Kültür Kullanımının Tulum Peynirlerinin Serbest Yağ Asidi Kompozisyonu Üzerine Etkileri. *Gıda Dergisi*, 40 (4), 201- 208.
- Özatay, Ş., 2015. Moleküler Metodların Gıda Kontrollerindeki Uygulama Alanları. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5 (1), 75-81.
- Özer, B., 2006. Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi. Sidas Medya LTD. ŞTİ., 488s, Şanlıurfa.
- 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 (2), 859-867.
- Patel, A. and Prajapati, J. B., 2013. Food and Health Applications of Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria. *Advances in Dairy Research*, 1 (2), 2- 7.
- Pearce, L. and Flint, S., 1999. *Streptococcus thermophilus*. *Encyclopedia of Dairy Science*, *Encyclopedia of Dairy Science*, 1st ed, Ed: H. Roginski, J. Fuguay, P. Fox. Academic Press, United Kingdom, 2577-2582.
- Pederson, C.S., 1938. The Gas-Producing of the Genus *Lactobacillus*. *Journal of Bacteriology*, 35 (2), 95-108.
- Pot, B., Felis, G.E., De Bruyne K., Tsakalidou, E., Papadimitriou, K., Leisner, J. and Vandamme, P., 2014. The Genus *Lactobacillus*. *Lactic Acid Bacteria Biodiversity and Taxonomy*. W.H. Holzapfel and B.J.B. Wood. WILEY Blackwell, İngiltere, 249-335.
- Prajapati, J. B. and Nair, B.M., 2008. The History of Fermented Foods. *Handbook of Fermented Functional Foods*, 2nd ed., Ed: Edward R. Farnwork. CRS Press, United States of America, 1-24.
- Priest, F.G., 1996. Gram-positive brewery bacteria. *Brewing Microbiology*, 2nd ed., Ed: F.G. Priest and I. Campbell. Springer-Science+Business Media, B.V., Edinburgh, UK, 127-162.
- Provencher, C., LaPointe, G., Sirois, S., Van Calsteren, M. R., and Roy, D. (2003). Consensus-degenerate hybrid oligonucleotide primers for amplification of priming glycosyltransferase genes of the exopolysaccharide locus in strains of the *Lactobacillus casei* group. *Appl Environ Microbiol*, 69(6), 3299-3307.
- Rajagopal, S.N. and Sandine, W.E., 1990. Associative Growth and Proteolysis of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in Skim Milk. *Journal Dairy Science*, 73 (4), 894-899.
- Randazzo, C.L., Restuccia, C., Romano, A.D. and Caggia, C., 2004. *Lactobacillus casei*, dominant species in naturally fermented Sicilian green olives. *International Journal of Food Microbiology*, 90 (1), 9-14.
- Ray, B. and Bhunia, A., 2016. *Fundamental Food Microbiology*, 5th ed., Çev: Prof. Dr. Dilek Heperkan, Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti., 608 s, Ankara.
- Robinson, R.K., 2002. Yoghurt, Role of Starter Cultures. *Encyclopedia of Dairy Science*, 1st ed, Ed: H. Roginski, J. Fuguay, P. Fox. Academic Press, United Kingdom, 1059-1063.

- Rodríguez Couto, S. and Sanromán, M.Á., 2006. Application of solid- state fermentation to food industry- A review. *Journal of Food Engineering*, 76 (3), 291-302.
- Routray, P. and Mishra, H.N., 2011. Scientific and Technical Aspect of Yogurt Aroma and Taste: A review. *Comprehesive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10 (4), 208-220.
- Ruas-Madiedo, P., Hugenholtz, J. and Zoon, P., 2002. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced of lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 12 (2-3), 163-171.
- Sağdıç, O. and Arıcı, M., 2011. Fermentasyonda Kullanılan Mikroorganizmalar. *Gıda Mikrobiyolojisi*, 3rd ed., Ed. O. Erkmén. Elif Yayınevi, Ankara, 407-425.
- Sağdıç, O., Arıcı, M. and Şimşek, O., 2002. Selection of starters for a traditional Turkish yayik butter made from yoghurt. *Food Microbiology*, 19 (4), 303-312.
- Sánchez, A.H., Palop, L. and Ballesteros, C., 2000. Biochemical characterization of lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentation of ‘Almagro’ eggplants. *International Journal of Food Microbiology*, 59 (1-2), 9-17.
- Sandoval-Castila, O., Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E. and Vernon-Carter, E. J., 2004. Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers. *International Dairy Journal*, 14 (2), 151-159.
- Schillinger, U. and Lücke, F. K., 1987. Identification of lactobacilli from meat and meat products. *Food Microbiology*, 4 (3), 199-208.
- Settachaimongkon, S., Nout, M.J.R., Antunes Fernandes, E.C., Ketting, K.A., ver Woot, J.M., van Hooijdonk, J.C.M., Zweitering, H.M., Smid, E.J. and van Valenberg, H.J.F., 2014. Influence of differen proteolytic strains of *Streptococcus thermophilus* in vo-culture with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* on the metabolite profile of set-yoghurt. *International Journal of Food Microbiology*, 177 (2), 29-36.
- Shah, N., 2003. The Product and its Manufacture. *Encyclopedia of Food Science and Nutrition*, 2nd ed., Ed: B. Caballero, L. Trugo, P. Finglas. Academic Press, United Kingdom, 6252-6259.
- Sieuwerds, S., De Bok, F. A. M., Hugenholtz, J. and Van Hylckama Vlieg, J., 2008. Unraveling Microbial Interactions in Food Fermentations: from Classical to Genomics Approaches. *Applien and Environmental Microbiology*, 74 (16), 4997-5007.
- Soyuçok, A., Ekiz, T. and Başıyigit Kılıç, G., 2016. Ekzopolisakkaritlerin Özellikleri ve Gıda Sanayindeki Önemi, *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi TARGİD*, Özel Sayı, 332- 344.
- Stiles, M. E. and Holzapfel, W.H., 1997. Lactic Acid Bacteria of Foods And Their Current Taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36 (1), 1-29.
- Sun, Z., Yu, J., Dan, T., Zhang, W. and Zhang, H., 2014. Phylogenesis and Evolution of Lactic Acid Bacteria. *Lactic Acid Bacteria: Fundamentals and Prattice*, Ed: H. Zhang and Y. Cai. Springer Science + Business Media Dordreeth, Newyork, 1-102.
- Surayot, U., Wang, J., Seesuriyachan, P., Kuntiya, A., Tabarsa, M., Lee, Y., Kim, J. K., Park, W. and You, S., 2014. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Structural analysis, molecular weight effect on immunomodulation. *International Journal of Biological Macromolucules*, 68, 233-240.

- Şimşek, Ö., Çon, A. H. and Tulumoğlu, Ş., 2006. Isolating lactic starter cultures with antimicrobial activity for sourdough processes. *Food Control*, 17 (4), 263- 270.
- Tamime, A. Y. and Deeth, H. C., 1979. Yogurt: Technology and Biochemistry. *Journal of Foods Protection*, 43 (12), 939- 977.
- Tamime, A.Y. and Robinson, R.K., 1999. *Yoghurt Science and Technology*, 2nd, Ed. A.Y. Tamime and R.K. Robinson. Woodhead Publishing Limited, 623s, Cambridge, England.
- Tamime, A.Y. and Robinson, R.K., 2007. Background to Manufacturing Practice. *Yoghurt Science and Technology*, 3rd, Ed. A.Y. Tamime and R.K. Robinson. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, 13-161.
- Tangüler, H., 2010. Şalgam suyu üretiminde etkili olan laktik asit bakterilerinin belirlenmesi ve şalgam suyu üretim tekniğinin geliştirilmesi, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Terzic-Vidojevic, A., Tolinacki, M., Nikolic, M., Lozo, J., Begovic, J., Gurban oglu Gulahmadov, S., Kuliev, A. A., Dalgalarondo, M., Chobert, J. M., Haertlé, T. and Topisirovic, L., 2009. Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from Azerbaijani traditional dairy products. *African Journal of Biotechnology*, 8 (11), 2576-2588.
- Tinson, W., Ratcliff, M. F. and Jago, G. R., 1982. Metabolism of *Streptococcus thermophilus*: 3. Influence on the level of bacterial metabolites in cheddar cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 37 (1), 17-21.
- Tokatlı, M., Bağderz Elmacı, S., Arslankoz İşleyen N. and Özçelik, F., 2017. Technological Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated From Traditional Pickles. *Gıda Dergisi*, 42 (6), 693- 707.
- Ünal Turhan, E. and Enginkaya, Z., 2016. Probiyotik gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 22 (7), 620-624.
- Valasek, M. A. and Repa, J. J., 2005. The power of real-time PCR. *Adv. Physiol Educ.*, 29 (3), 151-159.
- Vaningelgem, F., Zamfir, M., Mozzi, F., Adriany, T., Vancanneyt, M., Swings, J. and De Vuyst, L., 2004. Biodiversity of Exopolysaccharides Produced by *Streptococcus thermophilus* Strain Is Reflected in Their Molecular and Functional Characteristics. *Applied and Environmental Microbiology*, 70 (2), 900- 912.
- Water, J. V. D. and Naiyanetr, P., 2008. Yogurt and Immunity: The Health Benefits of Fermented Milk Products That Contain Lactic Acid Bacteria. *Hanbook of Fermented Functional Foods*, 2nd ed., Ed: E. R. Farnworth. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, London, New York, 129- 164.
- Weerathilake, W. A. D. V., Rasika, D. M. D., Ruwanmali, J. K. U. and Munasinghe, M. A. D. D., 2014. The evolution, processing, varieties and health benefits of yogurt. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 4 (4), 1- 10.
- Welman, A. D. and Maddox, L. S., 2003. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: perspectives and challenges. *TRENDS in Biotechnology*, 21 (6), 269-274.
- Whiley, R. A. and Beighton, D., 1998. Current classification of the oral streptococci. *Oral Microbiol Immunol*, 13 (4), 195-216.
- Wright, A. V. and Axelsson, L., 2012. Lactic Acid Bacteria: An Introduction. *Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects*, 4nd ed., Ed: S. Lathinen, A. C. Ouwehand, S. Salminen, A. V. Wright. CRC Press, New York, 1-16.

- Yerlikaya, O., 2014. Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanmasında Kullanılan Başlıca Fenotipik ve Moleküler Yöntemler. Gıda ve Yem Bilimi- Teknolojisi Dergisi, 14, 8- 22.
- Yıldırım, Ç., Kökbaş, C., Sezer, Z., Işık, Ç. and Güzeler, N., 2014. Yogurt, Yogurt-Based Products and Their General Usages. Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences, 1 (1), 1063- 1066.
- Yıldız, F. H., Dolganov, M. A. and Schoolnik, G. K., 2001. VpsR, a Member of the Response Regulator of the Two-Component Regulatory Systems, Is Required for Expression of vps Biosynthesis Genes and EPS^{ET}- Associated Phenotypes in *Vibrio cholerae* O1 El Tor. Journal of Bacteriology, 183 (5), 1716-1726.
- Yılmaz, M. and Yuvalı Çelik, G., 2007. Bakteriyel Ekstraselüler Polisakkaritler (EPS). OrLab On- Line Mikrobiyoloji Dergisi, 5 (2), 7- 13.
- Yılmaz, R. and Temiz, A., 2003. *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un Klasik ve Moleküler Yöntemler Kullanılarak Tanımlanması ve Karakterizasyonu. OrLab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 1 (3), 19-42.
- Zehir, D., 2017. Tarhanadan İzole Edilen Bazı Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Ekzopolisakkaritlerin Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- Zhang, L., Folkenberg, D. M., Amigo, J. M. and Ipsen, R., 2016. Effect on exopolysaccharide-producing starter cultures and post-fermentation mechanical treatment on textural properties and microstructure of low fat yoghurt. International Dairy Journal, 53(1), 10-19.
- Zirnshtein, G. and Hutkins, Z., 1999. *Streptococcus thermophilus*. Encyclopedia of Food Microbiology, 1nd ed, Ed: C. Bott, P. Patel, R. Robinson. Academic Press, United Kingdom, 2127-2133.
- Zourari, A., Accolas, J. P. and Desmazeaud, M. J., 1992. Metabolism and biochemical characteristics of yoghurt bacteria: A review. Dairy Science and Technology (Le Lait), 72 (1), 1-34.

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında İzmir’de doğdu. Lise eğitimini Yunus Emre Anadolu Lisesi’nde tamamladıktan sonra Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği bölümünden 2010 yılında mezun oldu. Bir süre hazır yemek sektöründe Gıda Mühendisi olarak çalıştıktan sonra 2013 yılında Ardahan Üniversitesi’ne Bilgisayar İşletmeni olarak atandı. 2014’de Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği’nde lisansüstü eğitime başladı. 2019 yılında Ardahan Üniversitesi’ne Gıda Mühendisi olarak atanan Seda YILDIZ halen bu kurumda görev yapmakta olup evli ve bir çocuk annesidir.