



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI**

**FERMENTE GIDALARDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİ TARAFINDAN ÜRETİLEN
EKZOPOLİSAKKARİTLERİN KARAKTERİZASYONU**

Doktora Tezi

Badamgarav ENKHTUR

Danışman
Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON

SAMSUN
2021

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI**



**FERMENTE GİDALARDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİ TARAFINDAN ÜRETİLEN
EKZOPOLİSAKKARİTLERİN KARAKTERİZASYONU**

Doktora Tezi

Badamgarav ENKHTUR

Danışman

Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON

SAMSUN
2021

TEZ KABUL VE ONAYI

Badamgarav ENKHTUR tarafından, **Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON** danışmanlığında hazırlanan “**Fermente Gıdalardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Ekzopolisakkaritlerin Karakterizasyonu**” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 16.4.2021 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

| | Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı | İmza | Sonuç |
|--------------------------|--|-------------|---|
| Başkan | Prof. Dr. Kamil IŞIK Ondokuz Mayıs Üniversitesi Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı | | <input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret |
| Üye (Danışman) | Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON Ondokuz Mayıs Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı | | <input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret |
| Üye | Prof. Dr. Hasan TEMİZ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı | | <input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret |
| Üye | Doç. Dr. Osman GÜL Kastamonu Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı | | <input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret |
| Üye | Doç. Dr. Oğuz AYDEMİR Çankırı Karatekin Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı | | <input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret |

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

ONAY
... / ... / ...
Prof. Dr. Ali BOLAT
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Doktora tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığımı taahhüt ve beyan ederim.

İmza

16 /04/ 2021

Badamgarav ENKHTUR

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : Fermente Gıdalardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Ekzopolisakkaritlerin Karakterizasyonu

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 17/03/2021 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 16

Tek kaynak oranı : % 1 çıkmıştır.

İmza

17 /03 / 2021

Ahmet Hilmi ÇON

ÖZET

FERMENTE GIDALARDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ TARAFINDAN ÜRETİLEN EKZOPOLİSAKKARİTLERİN KARAKTERİZASYONU

Badamgarav ENKHTUR
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı
Doktora, Nisan/2021
Danışman: Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON

Günümüzde yaygın tüketime sahip birçok fermente gıdanın temel mikroflorasını oluşturan laktik asit bakterileri (LAB) tarafından birçok fonksiyonel özelliğe sahip olan ekzopolisakkarit (EPS) üretimi büyük önem kazanmıştır. Çalışmada, gıdalarda kıvam artırıcı, jelleştirici, emülsifiye edici, doku ve ağız hissini geliştirici ve reolojik özellikleri iyileştirici gibi birçok olumlu etkileri nedeniyle endüstriyel olarak kullanımı artan EPS'lerin üretimi için ekzopolisakkarit üreticisi laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve tanımlanması ile bunların ürettikleri EPS'lerin izolasyonu gerçekleştirilmiş, karakterizasyonu ve reolojik özellikleri belirlenmiştir. Bu kapsamda, Samsun İl sınırları içerisinde farklı bölgelerden temin edilmiş, geleneksel olarak üretilmiş 40 adet fermente gıda örneği (süt ve meyve sebze ürünleri) ekzopolisakkarit üreticisi LAB izolasyonu için kaynak olarak kullanılmıştır. Fermente gıda örneklerden farklı morfolojiye sahip toplam 616 adet koloni seçilerek izole edilmiştir. Seçilen tüm izolatlara uzama özelliği ve EPS üretim testi uygulanıp 10 adet izolat potansiyel EPS üreticisi olarak seçilmiştir. Ardından bu izolatlar 16S rDNA dizi analizi ile tanımlanmış ve *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* 2X13-3, 1X18-5, 3X20-3, 2X21-2, 3X22-4, 1X36-1, *Lactiplantibacillus pentosus* 2X36-3, 2X37-4, 2X38-3, *Levilactobacillus brevis* 4X35-2 oldukları anlaşılmıştır.

LAB'lerin EPS üretim miktarının 0,12-0,31 g/L arasında ve üretilen EPS'lerin toplam şeker miktarının da 6,21-18,75 µg/mL arasında değiştiği belirlenmiştir. Ayrıca saflaştırılmış LAB EPS'lerinin maltoz, glukoz, galaktoz ve fruktoz şekerlerini içerdiğini saptanmıştır. EPS numunelerinin kristallenme sıcaklıkları 72,55-86,35°C aralığında, erime sıcaklıklarının 68,05-301,58°C aralığında olduğu ve sıcaklığa karşı yüksek direnç gösterdikleri saptanmıştır. EPS örneklerinin reolojik özellikleri incelendiğinde; EPS örneklerine ait yatışkan fazdaki kayma gerilim değerleri (viskozite) kesme hızına bağlı olarak arttığı gözlenmiştir. Ayrıca *Lb. pentosus* 2X36-3 izolatının ürettiği EPS-h'nin en yüksek akış davranış değerine sahip olduğu ve psedoplastik davranış gösterdiği, fakat diğer izolatlara ait EPS'lerin Newton davranışı gösterdiği saptanmıştır. EPS örneklerinin ağızdaki kesme hızı olarak kabul edilen görünür viskozite değerleri ise 0,0023-0,2020 Pa.s arasında tespit edilmiştir. Öte yanında EPS'lerin sıcaklığa bağlı akış davranış özelliğinin incelenmesi; genel olarak EPS'lerin 40°C sıcaklığa ulaşıldığında önemli viskozite kaybı yaşadığını göstermiştir. *Lb. pentosus* 2X36-3 izolatı tarafından üretilen EPS-h'nin 70°C'ye kadar viskozitesinin 0,1 Pa.s değerinin üzerinde kalması gıda sistemlerinde doku ve reolojik özelliklerin iyileştirilmesinde önemli rol oynayabileceğine işaret etmiştir.

Anahtar Sözcükler: Ekzopolisakkarit (EPS), Laktik asit bakterileri (LAB), Fermente Gıda, Karakterizasyon, Reoloji

ABSTRACT

CHARACTERIZATION OF EXOPOLYSACCHARIDES PRODUCED BY LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM FERMENTED FOODS

Badamgarav ENKHTUR

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Food Engineering

PhD, April/2021

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON

Nowadays, the production of exopolysaccharide (EPS), which has various functional properties, has received increasing interest by lactic acid bacteria (LAB), which form the fundamental microflora of numerous fermented foods with the widespread consumption. In the study, Lactic Acid Bacteria (LAB) were isolated and characterized with the potential to produce exopolysaccharides (EPSs) which play a major role in the rheological and physical properties (consistency, texture, mouthfeel, gelling, emulsifying) of foods. In this work, 40 traditionally produced fermented food samples (milk and fruit and vegetable products) were collected from different regions in Samsun province were used to isolate EPS-producing LAB. A total of 616 colonies with different morphology were selected and isolated from fermented food samples. Elongation property and EPS production test was applied to all isolates and 10 strains were selected as potential EPS producers. Subsequently, selected isolates were analyzed by 16S rDNA sequence and were identified *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* 2X13-3, 1X18-5, 3X20-3, 2X21-2, 3X22-4 and 1X36-1, *Lactiplantibacillus pentosus* 2X36-3, 2X37-4 and 2X38-3, *Levilactobacillus brevis* 4X35-2.

It has been determined that the amount of EPS production by LABs was between 0.12-0.31 g/L and the total sugar of EPS produced was between 6.21-18.75 µg/mL. Furthermore, the purified EPS from Lactic acid bacteria (LAB) has been identified with the presence of maltose, glucose, galactose and fructose sugars. The EPS samples showed high resistance to temperature with crystallization temperatures were between 72.55-86.35°C, and the melting temperature was between 68.05-301.58°C. During the rheological properties of EPS samples are examined; It was observed that the shear pressure values (viscosity) of the EPS samples in the steady phase decreased depending on the shear rate. EPS-h produced by *Lb. pentosus* 2X36-3 had the highest flow behavior value and showed pseudoplastic behavior, however, EPS belonging to other isolates showed Newtonian behavior. The apparent viscosity values of the EPS samples were determined between 0.0023-0.2020 Pa.s., which is the shear rate in the mouth. Otherwise, EPS showed significant viscosity loss at a temperature of 40°C. during the examination of temperature-dependent flow behavior. The fact that *Lb. pentosus* 2X36-3 isolate which EPS-h produced has a viscosity above 0.1 Pa.s, up to 70°C indicates that it may play an important role in improving tissue and rheological properties in food systems.

Keywords: Exopolysaccharide (EPS), Lactic acid bacteria (LAB), Fermented Food, Characterization, Rheology

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde değerli bilgilerini benimle paylaşan ve çalışmanın her aşamasında desteklerini benden esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON'a, çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen ve hayatımın her evresinde bana destek olan sevgili hocam Dr. Nilgün ÖZDEMİR'e ve biricik annem Dolgormaa JAMYAN'a sevgili babam Enkhtur SURENKHOROL'a teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarımı PYO.MUH.1904.19.031 no'lu proje ile destekleyerek gerekli imkanları sağlayan "Ondokuz Mayıs Üniversitesi Proje Yönetimi Ofisi'ne (PYO)" teşekkür ederim.

Badamgarav ENKHTUR

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|------------|
| SİMGELER VE KISALTMALAR | İX |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | X |
| TABLolar DİZİNİ | XII |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 1.1. Tezin Amacı | 3 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 5 |
| 2.1. Laktik Asit Bakterilerinin Tanımı | 5 |
| 2.2. Laktik Asit Bakterilerinin Genel Özellikleri ve Sınıflandırması | 7 |
| 2.2.1. <i>Lactobacillus</i> Cinsinin Genel Özellikleri | 8 |
| 2.2.2. <i>Lactococcus</i> Cinsinin Genel Özellikleri..... | 9 |
| 2.2.3. <i>Leuconostoc</i> Cinsinin Genel Özellikleri | 9 |
| 2.2.4. <i>Enterococcus</i> Cinsinin Genel Özellikleri | 10 |
| 2.2.5. <i>Pediococcus</i> Cinsinin Genel Özellikleri | 11 |
| 2.2.6. <i>Streptococcus</i> Cinsinin Genel Özellikleri | 12 |
| 2.2.7. <i>Weissella</i> Cinsinin Genel Özellikleri | 13 |
| 2.3. Laktik Asit Bakterilerinin Gıda Endüstrisinde Kullanımı ve Önemi | 13 |
| 2.4. Mikrobiyal Ekzopolisakkaratlerin Genel Özellikleri ve Sınıflandırması | 17 |
| 2.4.1. Mikrobiyal Ekzopolisakkarit Biyosentezi | 19 |
| 2.5. Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Ekzopolisakkaratlerin Özellikleri | 20 |
| 2.5.1. Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Homopolisakkarit | 21 |
| 2.5.1.1. Dekstran..... | 21 |
| 2.5.1.2. Mutan..... | 22 |
| 2.5.1.3. Alternan..... | 23 |
| 2.5.1.4. Reuteran..... | 23 |
| 2.5.1.5. Levan..... | 24 |
| 2.5.1.6. İnülin..... | 25 |
| 2.5.1.7. β -glukan..... | 26 |
| 2.5.2. Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Heteropolisakkarit | 26 |
| 2.5.2.1. Kefiran..... | 27 |
| 2.5.2.2. Hiyaluronik asit | 27 |
| 2.6. Laktik Asit Bakterilerinin Ekzopolisakkaritlerinin Gıda Endüstrisinde Kullanımı..... | 27 |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM | 32 |
| 3.1. Materyal | 32 |

| | |
|---|-----------|
| 3.2. Yöntem | 33 |
| 3.2.1. Gıda Örneklerinin Toplam Asitlik ve pH Analizleri | 33 |
| 3.2.1.1. Peynirde Toplam Asitlik ve pH..... | 33 |
| 3.2.1.2. Yoğurтта Toplam Asitlik ve pH..... | 33 |
| 3.2.1.3. Turşuda Toplam Asitlik ve pH..... | 33 |
| 3.2.1.4. Çiğ Sütte Toplam Asitlik ve pH..... | 33 |
| 3.2.2. Gıda Örneklerinin Kuru Madde Analizi | 34 |
| 3.2.3. Gıda Örneklerinin Mikrobiyolojik Analizleri..... | 34 |
| 3.2.3.1. Laktik Asit Bakterilerinin Sayımı..... | 34 |
| 3.2.3.2. Toplam Bakteri Sayımı | 34 |
| 3.2.3.3. Maya-Küf Sayımı | 35 |
| 3.2.4. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu..... | 35 |
| 3.2.5. Laktik Asit Bakterilerinin Morfolojik ve Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi..... | 35 |
| 3.2.5.1. Gram boyama | 35 |
| 3.2.5.2. Katalaz Testi | 36 |
| 3.2.6. Laktik Asit Bakteri İzolatlarının EPS Üretiminin Belirlenmesi | 36 |
| 3.2.7. EPS'lerin İzolasyonu ve Saflaştırılması..... | 36 |
| 3.2.8. EPS Üreticisi LAB'lerinin 16S rDNA Dizi Analizi ile Tanımlanması | 37 |
| 3.2.8.1. LAB İzolatlarının Genomik DNA'sının İzolasyonu..... | 37 |
| 3.2.8.2. LAB İzolatlarının Genomik DNA'sının Saflık Kontrolü | 38 |
| 3.2.8.3. LAB İzolatlarının 16S rDNA Bölgesinin PZR ile Çoğaltılması ve Dizi Analizi..... | 39 |
| 3.2.9. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Karakterizasyonu..... | 40 |
| 3.2.9.1. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Fonksiyonel Gruplarının Belirlenmesi | 40 |
| 3.2.9.2. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Toplam Şeker Miktarı Belirlenmesi..... | 40 |
| 3.2.9.3. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Şeker İçeriğinin Belirlenmesi..... | 41 |
| 3.2.9.4. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Termal Özelliğinin Belirlenmesi | 41 |
| 3.2.9.5. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Reolojik Özelliğinin Belirlenmesi | 41 |
| 3.2.9.5.1. Yatışkan Fazdaki (Steady Shear) Özelliklerinin Belirlenmesi | 41 |
| 3.2.9.5.2. Dinamik Titreşimli Kayma (Dynamic Shear) Özelliklerinin Belirlenmesi | 42 |
| 3.2.9.5.3. Sıcaklığa Bağlı Davranış (Temperature-dependent) Özelliklerinin Belirlenmesi..... | 42 |
| 3.2.9.6. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Yüzey Yapısının Belirlenmesi | 43 |
| 3.2.10. İstatistik Analiz | 43 |
| 4. BULGULAR VE TARTIŞMA..... | 44 |
| 4.1. Gıda Örneklerinin Toplam Asitlik, pH ve Kuru Madde İçeriği | 44 |

| | |
|--|------------|
| 4.2. Gıda Örneklerinin Mikrobiyolojik İçeriği..... | 50 |
| 4.3. EPS Üreticisi Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Tanımlanması | 58 |
| 4.4. Laktik Asit Bakterilerinin Ekzopolisakkarit Üretim Miktarı | 62 |
| 4.5. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Karakterizasyonu..... | 64 |
| 4.5.1. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Fonksiyonel Grupları | 64 |
| 4.5.2. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Toplam Şeker Miktarı | 68 |
| 4.5.3. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Şeker İçerikleri | 69 |
| 4.5.4. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Termal Özellikleri | 73 |
| 4.5.5. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Reolojik Özellikleri | 76 |
| 4.5.5.1. Ekzopolisakkaritlerin Yatışkan Fazdaki Reolojik Özellikleri..... | 76 |
| 4.5.5.2. Ekzopolisakkaritlerin Dinamik Fazdaki Reolojik Özellikleri | 80 |
| 4.5.5.3. Ekzopolisakkaritlerin Sıcaklığa Bağlı Akış Davranış Reolojik Özellikleri..... | 81 |
| 4.5.6. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Yüzey Yapısı..... | 85 |
| 5. SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 90 |
| KAYNAKLAR | 94 |
| EKLER | 110 |
| ÖZ GEÇMİŞ..... | 122 |

SİMGELER VE KISALTMALAR

- GRAS:** Genel olarak güvenilir kabul edilir
- EFSA (European Food Safety Authority):** Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
- TGK:** Turk Gıda Kodeksi
- FDA:** Gıda ve İlaç Kurumu
- LAB:** Laktik asit bakterileri
- TAMB:** Toplam aerobik mezofilik bakteri
- EPS:** Ekzopolisakkarit
- HoPS:** Homopolisakkaritler
- HePS:** Heteropolisakkaritler
- LVR:** Doğrusal viskoelastik
- TE:** Tespit edilmedi
- PZR:** Polimeraz zincir reaksiyonu
- HPLC:** Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
- FTIR:** Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
- DSC:** Differential scanning calorimetry
- SEM:** Taramalı elektronik mikroskop
- Gr⁺:** Gram pozitif
- G+C:** Guanin + Sitozin
- G':** elastikiyet modülü
- G'':** vizkozite modülü
- kV:** Kilo-Volt
- kob/g:** Bir gram örnekteki koloni oluşturan birim
- log:** Logaritma
- mg:** Miligram
- µg:** Mikrogram
- µm:** Mikrometre
- L:** Litre
- mL:** Mililitre
- µL:** Mikrolitre
- kDa:** Kilodalton
- Da:** Dalton
- g:** Dakikadaki devir sayısı (Relatif santrifüj kuvveti rpm)
- bp:** Nükleotit baz çifti
- Pa:** Paskal

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Şekil 2.1. Laktik asit bakterilerinin filogenetik pozisyonu | 8 |
| Şekil 2.2. <i>Leuconostoc</i> dekstranın kimyasal yapısı..... | 22 |
| Şekil 2.3. <i>Streptococcus mutans</i> mutanının kimyasal yapısı | 22 |
| Şekil 2.4. <i>Leuconostoc mesenteroides</i> alternanının kimyasal yapısı | 23 |
| Şekil 2.5. <i>Lactobacillus reuteri</i> reuteranının kimyasal yapısı..... | 24 |
| Şekil 2.6. Levanın kimyasal yapısı | 25 |
| Şekil 2.7. İnülinin kimyasal yapısı..... | 26 |
| Şekil 2.8. β -glukanın kimyasal yapısı | 26 |
| Şekil 2.9. Hiyaluronik asitin kimyasal yapısı | 28 |
| Şekil 4.1. Gıda örneklerinin ortalama titrasyon asitlik değerleri | 46 |
| Şekil 4.2. Gıda örneklerinin ortalama pH değerleri | 46 |
| Şekil 4.3. Gıda örneklerinin ortalama kuru madde değerleri | 47 |
| Şekil 4.4. Gıda örneklerinin mikrobiyal içerikleri | 53 |
| Şekil 4.5. Seçilmiş LAB izolatlarının genomik DNA ve 16S rDNA bölgesinin PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel bant görüntüleri | 60 |
| Şekil 4.6. LAB izolatlarının filogenetik ağaç | 61 |
| Şekil 4.7. LAB izolatlarının EPS üretim miktarları | 63 |
| Şekil 4.8. <i>Lb. plantarum</i> 2X13-3, 1X18-5 ve 3X20-3 tarafından üretilen EPS'lerin FTIR spektrumları | 66 |
| Şekil 4.9. <i>Lb. plantarum</i> 2X21-2, 3X22-4 ve 1X36-1 tarafından üretilen EPS'lerin FTIR spektrumları | 67 |
| Şekil 4.10. <i>Lb. pentosus</i> 2X36-3, 2X37-4 ve 2X38-3 tarafından üretilen EPS'lerin FTIR spektrumları | 67 |
| Şekil 4.11. <i>Lv. brevis</i> 4X35-2 tarafından üretilen EPS'nin FTIR spektrumu | 68 |
| Şekil 4.12. Glikoz standart eğrisi | 68 |
| Şekil 4.13. LAB EPS'lerinin toplam şeker miktarı | 69 |
| Şekil 4.14. <i>Lb. plantarum</i> 2X13-3 tarafından üretilen EPS-a'nın şeker içeriği kromatogramı | 71 |
| Şekil 4.15. <i>Lb. plantarum</i> 1X18-5 tarafından üretilen EPS-b'nin şeker içeriği kromatogramı | 71 |
| Şekil 4.16. <i>Lb. plantarum</i> 3X20-3 tarafından üretilen EPS-c'nin şeker içeriği kromatogramı | 71 |
| Şekil 4.17. <i>Lb. plantarum</i> 2X21-2 tarafından üretilen EPS-d'nin şeker içeriği kromatogramı | 71 |
| Şekil 4.18. <i>Lb. plantarum</i> 3X22-4 tarafından üretilen EPS-e'nin şeker içeriği kromatogramı | 71 |
| Şekil 4.19. <i>Lb. plantarum</i> 1X36-1 tarafından üretilen EPS-g'nin şeker içeriği kromatogramı | 71 |
| Şekil 4.20. <i>Lv. brevis</i> 4X35-2 tarafından üretilen EPS-f'nin şeker içeriği kromatogramı | 72 |
| Şekil 4.21. <i>Lb. pentosus</i> 2X36-3 tarafından üretilen EPS-h'nin şeker içeriği kromatogramı | 72 |
| Şekil 4.22. <i>Lb. pentosus</i> 2X37-4 tarafından üretilen EPS-i'nin şeker içeriği kromatogramı | 72 |
| Şekil 4.23. <i>Lb. pentosus</i> 2X38-3 tarafından üretilen EPS-k'nin şeker içeriği kromatogramı | 72 |
| Şekil 4.24. <i>Lb. plantarum</i> 2X13-3, 1X18-5 ve 3X20-3 tarafından üretilen EPS'lerin termogramı | 74 |
| Şekil 4.25. <i>Lb. plantarum</i> 2X21-2, 3X22-4 ve 1X36-1 tarafından üretilen EPS'lerin termogramı | 75 |
| Şekil 4.26. <i>Lv. brevis</i> 4X35-2 tarafından üretilen EPS-f'nin termogramı | 75 |
| Şekil 4.27. <i>Lb. pentosus</i> 2X36-3, 2X37-4 ve 2X38-3 tarafından üretilen EPS'lerin termogramı | 76 |
| Şekil 4.28. <i>Lb. plantarum</i> 2X13-3, 1X18-5 ve 3X20-3 tarafından üretilen EPS'lerin kesme hızına bağlı kayma gerilim değişim reogramı | 77 |
| Şekil 4.29. <i>Lb. plantarum</i> 2X21-2, 3X22-4 ve 1X36-1 tarafından üretilen EPS'lerin kesme hızına bağlı kayma gerilim değişim reogramı | 77 |

| | |
|--|----|
| Şekil 4.30. <i>Lb. pentosus</i> 2X36-3, 2X37-4 ve 2X38-3 tarafından üretilen EPS'lerin kesme hızına bağlı kayma gerilim değişim reogramı | 78 |
| Şekil 4.31. <i>Lv. brevis</i> 4X35-2 tarafından üretilen EPS'nin kesme hızına bağlı kayma gerilim değişim reogramı | 78 |
| Şekil 4.32. <i>Lb. pentosus</i> 2X36-3 tarafından üretilen EPS-h'nin açılmal hızına bağlı G' ve G'' değerlerinin değişim reogramı..... | 80 |
| Şekil 4.33. <i>Lb. plantarum</i> 2X13-3, 1X18-5 ve 3X20-3 tarafından üretilen EPS'lerin sıcaklığa bağlı akış davranış reogramı..... | 82 |
| Şekil 4.34. <i>Lb. plantarum</i> 2X21-2, 3X22-4 ve 1X36-1 tarafından üretilen EPS'lerin sıcaklığa bağlı akış davranış reogramı..... | 82 |
| Şekil 4.35. <i>Lb. pentosus</i> 2X37-4 ve 2X38-3 tarafından üretilen EPS'lerin sıcaklığa bağlı akış davranış reogramı..... | 83 |
| Şekil 4.36. <i>Lb. pentosus</i> 2X36-3 tarafından üretilen EPS'nin sıcaklığa bağlı akış davranış reogramı..... | 83 |
| Şekil 4.37. <i>Lv. brevis</i> 4X35-2 tarafından üretilen EPS'nin sıcaklığa bağlı akış davranış reogramı..... | 84 |
| Şekil 4.38. <i>Lb. plantarum</i> 2X13-3 tarafından üretilen EPS-a'nın SEM görüntüsü (A:500×, B: 1000×; C:2500×)..... | 86 |
| Şekil 4.39. <i>Lb. plantarum</i> 1X18-5 tarafından üretilen EPS-b'nin SEM görüntüsü (A:500×, B: 1000×; C:2500×)..... | 86 |
| Şekil 4.40. <i>Lb. plantarum</i> 3X20-3 tarafından üretilen EPS-c'nin SEM görüntüsü (A:500×, B: 1000×; C:2500×)..... | 86 |
| Şekil 4.41. <i>Lb. plantarum</i> 2X21-2 tarafından üretilen EPS-d'nin SEM görüntüsü (A:500×, B: 1000×; C:2500×)..... | 87 |
| Şekil 4.42. <i>Lb. plantarum</i> 3X22-4 tarafından üretilen EPS-e'nin SEM görüntüsü (A:500×, B: 1000×; C:2500×)..... | 87 |
| Şekil 4.43. <i>Lv. brevis</i> 4X35-2 tarafından üretilen EPS-f'nin SEM görüntüsü (A:500×, B: 1000×; C:2500×)..... | 87 |
| Şekil 4.44. <i>Lb. plantarum</i> 1X36-1 tarafından üretilen EPS-g'nin SEM görüntüsü (A:500×, B: 1000×; C:2500×)..... | 88 |
| Şekil 4.45. <i>Lb. pentosus</i> 2X36-3 tarafından üretilen EPS-h'nin SEM görüntüsü (A:500×, B: 1000×; C:2500×)..... | 88 |
| Şekil 4.46. <i>Lb. pentosus</i> 2X37-4 tarafından üretilen EPS-i'nin SEM görüntüsü (A:500×, B: 1000×; C:2500×)..... | 88 |
| Şekil 4.47. <i>Lb. pentosus</i> 2X38-3 tarafından üretilen EPS-k'nın SEM görüntüsü (A:500×, B: 1000×; C:2500×)..... | 89 |

TABLolar DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Tablo 2.1. Laktik asit bakterilerinin sınıflandırılması..... | 5 |
| Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan örneklerin tipi ve alındıkları yerler | 32 |
| Tablo 3.2. Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan karışım..... | 39 |
| Tablo 3.3. Laktik asit bakterileri için uygulanan PZR koşulları | 39 |
| Tablo 4.1. Gıda örneklerinin toplam asitlik, pH ve kuru madde değerleri | 44 |
| Tablo 4.1. (Devam)..... | 45 |
| Tablo 4.2. Gıda örneklerinin mikrobiyal içerikleri | 51 |
| Tablo 4.2. (Devam)..... | 52 |
| Tablo 4.3. EPS üreticisi LAB izolatlarının 16S rDNA dizi analiz sonuçları | 60 |
| Tablo 4.4. LAB tarafından üretilen EPS'ler | 62 |
| Tablo 4.5. LAB izolatları tarafından üretilen EPS'lerin fonksiyonel gruplarına ait FTIR spektrumu pik değerleri..... | 65 |
| Tablo 4.6. EPS'lerin şeker içerikleri..... | 70 |
| Tablo 4.7. EPS'lerin endotermik pik değerleri | 73 |
| Tablo 4.8. EPS'lere ait Herschel-Bulkley model katsayıları ve görünür viskozite değerleri | 79 |
| Tablo 4.9. <i>Lb. pentosus</i> 2X36-3 tarafından üretilen EPS-h örneğine ait K', n', K'', n'' ve R2 değerleri | 81 |
| Tablo 4.10. EPS'lere ait Arrhenius model katsayıları..... | 84 |
| Tablo 4.10. (Devam)..... | 85 |

1. GİRİŞ

Günümüz dünyasında her geçen gün geleneksel fermente gıda ürünlerine olan talep artmaktadır. Tüketiciler kimyasal koruyucu içermeyen, raf ömrü uzun, besleyici ve lezzetli, farklı çeşniye sahip ürünler istemektedirler. Geleneksel fermente gıdalara ve farklı çeşitlerde hammaddeler, üretim teknikleri ve mikroorganizmalar kullanılarak üretilen yeni fermente gıdalara karşı olan bu talebi karşılamak için tüm dünya genelinde süt ve meyve-sebze olmak üzere 3500'den fazla fermente gıdanın üretildiği tahmin edilmektedir. Tüketicilerin var olan bu güvenli ve yüksek kaliteli ürün istekleri; hem geleneksel fermente gıdaların, hem de yeni fermente gıdaların üretim yöntemleri üzerinde çalışmalar yapılarak kayıt altına alınmasını sağlamaktadır (Karaçıl ve Nilüfer, 2013; Yılmaz vd., 2014).

Fermente ürünler bitkisel ve hayvansal ürünlerden doğal mikrobiyota ya da ilave edilen starter kültürlerin kullanılmasıyla üretilen ürünlerdir. Farklı bakteri, maya, küf gibi mikroorganizmalar veya enzimler aracılığıyla farklı hammaddelerin değişik teknikler kullanılarak işlenmesi/olgunlaştırılması ile üretilmektedir. Bu gıdaların üretim sürecindeki temel biyokimyasal olay fermantasyondur. Fermantasyon biyokimyasal olarak karbonhidrat ve ilgili bileşiklerin elektron alıcısı şekilde oksijenin yokluğunda kısmen okside olarak enerjinin organik bir bileşiğe aktarıldığı solunum tip olarak tanımlanmaktadır (Karaçıl ve Nilüfer, 2013; Kıрма, 2016).

Fermantasyon, raf ömrü uzun, mikrobiyolojik açıdan güvenli gıdalar elde edilerek bozulmadan korunabilmesi yanında esansiyel aminoasit ve vitaminlerin senteziyle gıdaların besin değerini de arttıran eski ve yaygın bir doğal gıda koruma yöntemidir. Fermantasyon ile besinlerin sindirilebilirliği artırılırken, çiğ gıdalarda bulunan fitat, tanen ve polifenoller gibi istenmeyen maddelerin detoksifikasyon ve yıkımı da gerçekleştirilmektedir (Karaçıl ve Nilüfer, 2013; Özlü, 2015).

Fermente gıdaların fermantasyonunda rol oynayan bakteri, maya, küf gibi mikroorganizma grupları içerisinde, laktik asit fermantasyonunu gerçekleştirmek için kullanılan laktik asit bakterileri (LAB) çok önemli bir yer tutmaktadır. Fermente gıdaların temel mikroflorasını oluşturan LAB, gıda hammaddelerinde doğal olarak bulunmakta ya da endüstriyel üretimlerde starter kültür olarak eklenmektedir (Yılmaz vd., 2014; Kıрма, 2016). Fermente gıdalarda yaygın bulunan LAB; *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* ve *Streptococcus* cinslerinin üyeleridir. Genel olarak güvenli kabul edilen (GRAS - Generally Recognized as Safe) statüde olup;

yoğurt, peynir, ekşihamur, turşu, fermente sosis, sucuk, şarap, meyve, sebze, zeytin veya soya ürünleri gibi fermente ürünlerin üretiminde endüstriyel öneme sahiptirler (Yılmaz vd., 2014; Serin, 2016). Günümüz fermente süt ürünlerinde (peynir, yoğurt, tereyağı vb.) uzun yıllardır starter kültür olarak *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus rhamnosus* (*Lacticaseibacillus rhamnosus*), *Lactobacillus plantarum* (*Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum*), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* ve *Streptococcus thermophilus* türlerini de içeren bir çok LAB kullanılmakta ve ürüne kendine has tat, aroma, koku gibi nitelikler ile uzun raf ömrü kazandırılmasına yardımcı olmaktadır (Evren vd., 2011; Özlü, 2015). Laktik asit üretimiyle ortamın asitlenmesini sağlayarak ürüne karakteristik özelliklerini kazandıran LAB'nin bir kısmı farklı fonksiyonel özelliklere de sahip bulunmaktadırlar (Zehir, 2017).

LAB'nin fonksiyonel özellikleri içerisinde yer alan en önemli karakteristiklerinden birisi antimikrobiyal bileşenler üretmeleridir. Ürettikleri organik asit, diasetil, asetoin, hidrojen peroksit, reuterin, antifungal peptitler ve bakteriyosinler gibi antimikrobiyal bileşikler ile tüketicilerin doğal ve/veya maliyeti düşük koruyucu talebini karşılamakta ve gıdayı daha güvenli kılarak tercih edilir hale getirmektedir. İlaveten çeşitli aroma bileşenleri üretimiyle fermente gıdaların lezzetini geliştirme; probiyotik etkileriyle insan sağlığını iyileştirme, sindirime yardımcı olma, anti-tümör ve bağırsak hastalıklarını azaltma; oksijeni harcama ve pH değerini düşürerek diğer mikroorganizmaların gelişimini engelleme gibi önemli olumlu etkileri bulunmaktadır. Bu olumlu etkilerden ürünün raf ömrü, mikrobiyal güvenliği, yapısal ve duyuşal özellikleri geliştirmesi ile sağlığı destekleyici gibi fonksiyonel özelliklerin oluşturulmasında önemli rol alan metabolitlerden birisi ekzopolisakkaritlerdir (Devlieghere et al., 2004; Yılmaz vd., 2014; Kıрма, 2016; Zehir, 2017).

Günümüzde en yaygın kullanım alanına sahip probiyotik bakteri grubu olan LAB'nin polisakkarit üretim yetenekleri, üzerinde yaygın çalışılan önemli bir konu haline gelmiştir. LAB tarafından farklı özelliklerde ve miktarlarda polisakkaritler üretilmektedir. Bu polisakkaritlerin bir kısmı stoplazmadaki sitozol içinde bulunarak karbon kaynağı olarak kullanılırken, bir kısmı hücre yüzeyine tutunmuş halde, diğer bir kısmı da hücre duvarına gevşek olarak tutunmuş ve hücreden tamamen ayrılabilir (kopabilecek) şekilde bağlı olarak bulunurlar. Hücre dışında bulunan

polisakkaritler “ekzopolisakkarit” (EPS) olarak tanımlanırlar. Ekzopolisakkarit kelimesi ilk olarak 1972 yılında tanımlanmıştır (Yılmaz vd., 2014; Ergene ve Avcı, 2016). LAB içerisinde en iyi bilinen EPS üreticileri *Leuconostoc* ve *Weisella* cinslerinin üyeleridir. Ancak *Lactobacillus* ve *Lactococcus* cinslerine ait birçok türlerin de EPS üreticisi oldukları bilinmektedir (Zehir, 2017).

Mikroorganizmalar EPS’leri sıcaklık, basınç ve ışık yoğunluğu gibi çevresel baskılara yanıt olarak üretmekte ve mikroorganizma ile bulunduğu çevre arasındaki etkileşimde EPS büyük önem taşımaktadır. Bakteriyal EPS’ler doğal ortamda bakterileri kurumaya, fagositoza, protozoa ve faj saldırısına, antibiyotiklere, toksik bileşiklere ve osmotik strese karşı koruyucu etki göstermektedir. Ayrıca biyofilm oluşumunda ve hücrenin katı yüzeylere tutunmasında etkili olmakta ve antimikrobiyal maddelerin difüzyonunu sınırlandırmaktadır. Mikroorganizmalar için önemli avantajlar sağlayan EPS’lerin endüstriyel kullanımları da giderek daha çok dikkat çekmektedir. Günümüzde endüstride kullanım alanı bulan en önemli mikrobiyel EPS’ler; pullulan, jellan, ksantan, dekstran, kurdlan ve levandır (Bragadeeswaran et al., 2011). EPS’ler gıdalarda kıvam artırıcı, jelleştirici, emülsifiye edici, doku ve ağız hissini geliştirici, reolojik özellikleri iyileştirici gibi olumlu etkileri nedeniyle kullanılmaktadır. Gıda sektörü dışında biyomedikal, eczacılık ve kozmetik gibi alanlarda da tümör gelişimini önleyici, bağışıklık sistemini uyarıcı ve antioksidan gibi özelliklerinden faydalanmak için kullanılırlar. Bu nedenle EPS üreticisi LAB'nin gıda sistemlerinden izole edilerek starter kültür olarak kullanılması; gıdaların reolojik ve tekstürel özelliklerine katkıda bulunması kadar, tüketici sağlığının korunması ve iyileştirilmesi açısından da önem taşımaktadır (Serin, 2016; Özdemir ve Çon, 2017). Bu nedenlerle, son yıllarda ekzopolisakkarit üreticisi LAB’nin izolasyonu, ürettikleri ekzopolisakkaritlerin karakterizasyonu ve fonksiyonel özellikleri üzerine çalışmalar giderek artmakta ve bunların sonuç raporlarında yeni çalışmaların yapılması önerilmektedir.

1.1. Tezin Amacı

Bu çalışmanın amacı; fermente gıdaların üretiminde, sağlığın korunmasında ve endüstriyel olarak kullanımda öneme sahip olan ekzopolisakkarit üreticisi laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve tanımlanması ile bunların ürettikleri ekzopolisakkaritlerin izolasyonu, karakterizasyonu ve reolojik özelliklerinin belirlenmesidir. Bu kapsamda, Samsun ve yöresinden elde edilmiş, geleneksel olarak üretilmiş çeşitli fermente gıdalar

(süt ve meyve sebze ürünleri) kaynak olarak kullanılmış ve ekzopolisakkarit üreticisi LAB izole edilerek, biyokimyasal ve moleküler identifikasyon yöntemleri ile tanımlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Laktik Asit Bakterilerinin Tanımı

Laktik asit bakterileri (LAB) bitki yüzeyleri, gıdalar, hayvan ve insan bağırsakları olmak üzere farklı ortamlarda bulunabilen heterojen bir mikroorganizma grubudur. Uzun yıllardır üzerinde çalışılan bir grup olan LAB ilk sınıflandırılan mikroorganizmalar içerisinde yer almış ve ilk sınıflandırma Orla-Jensen tarafından 1919 yılında morfolojik, ekolojik, fizyolojik ve optimum çoğalma sıcaklıklarına göre yapılmıştır (Yörük ve Güner, 2011; Bıyıklı, 2020). Günümüze kadar gelen süreçte LAB hakkında artan bilgi birikimi ve gelişen laboratuvar teknikleri önceki sınıflandırmalarda değişiklikleri gerekli kılmış ve yeni sınıflandırmalar ortaya çıkmıştır. Günümüze yakın olarak yapılan bir sınıflandırmada LAB; *Firmicutes* şubesinin, *Bacilli* sınıfının, *Lactobacillales* takımının altında 6 familya içerisinde gruplandırılmıştır.

Tablo 2.1. Laktik asit bakterilerinin sınıflandırılması (Garrity and Holt, 2001; Holzapfel and Wood, 2014)

| Familya | Cins | Tip türü | Tür sayısı |
|---------------------|---------------------------|-----------------------------|------------|
| Aerococcaceae | Abiotrophia | <i>Ab. defectiva</i> | 1 |
| | Aerococcus | <i>Ae. viridans</i> | 7 |
| | Dolosicoccus | <i>Dc. paucivorans</i> | 1 |
| | Eremococcus | <i>Ere. coleocola</i> | 1 |
| | Facklamia | <i>F. hominis</i> | 6 |
| | Globicatella | <i>Glo. sanguinis</i> | 2 |
| | Ignavigranum | <i>Ig. ruoffiae</i> | 1 |
| Carnobacteriaceae | Alkalibacterium | <i>Alk. olivapovliticus</i> | 9 |
| | Allofustis | <i>Af. seminis</i> | 1 |
| | Alloiococcus | <i>Ai. otitis</i> | 1 |
| | Atopobacter | <i>Ap. phocae</i> | 1 |
| | Atopococcus | <i>Ac. tabaci</i> | 1 |
| | Atopostipes | <i>At. suicloacalis</i> | 1 |
| | Bavariococcus | <i>B. seileri</i> | 1 |
| | Carnobacterium | <i>C. divergens</i> | 10 |
| | Desemzia | <i>D. incerta</i> | 1 |
| | Dolosigranulum | <i>Dg. pigrum</i> | 1 |
| | Granulicatella | <i>Gra. adiacens</i> | 3 |
| | Isobaculum | <i>Is. melis</i> | 1 |
| | Lacticigenium | <i>Lg. naphthae</i> | 1 |
| Marinilactibacillus | <i>M. psychrotolerans</i> | 2 | |

Tablo 2.1. (Devam)

| Familya | Cins | Tip türü | Tür sayısı |
|------------------|-----------------------------------|----------------------------|------------|
| | Trichococcus (incl. Lactosphaera) | <i>Tr. flocculiformis</i> | 5 |
| | Catelicoccus | <i>Cat. marimammalium</i> | 1 |
| Enterococcaceae | Enterococcus | <i>Ent. faecalis</i> | 43 |
| | Melissococcus | <i>Me. plutonius</i> | 1 |
| | Pilibacter | <i>Pi. termitis</i> | 1 |
| | Tetragenococcus | <i>Tet. halophilus</i> | 5 |
| | Vagococcus | <i>V. fluvialis</i> | 8 |
| Lactobacillaceae | Lactobacillus | <i>Lb. delbrueckii</i> | 151 |
| | Paralactobacillus | <i>Pl. selangorensis</i> | 1 |
| | Pediococcus | <i>Ped. damnosus</i> | 11 |
| Leuconostocaceae | Fructobacillus | <i>Fru. fructosus</i> | 5 |
| | Leuconostoc | <i>Leuc. mesenteroides</i> | 13 |
| | Oenococcus | <i>O. oeni</i> | 2 |
| | Weissella | <i>W. viridescens</i> | 15 |
| Streptococcaceae | Lactococcus | <i>Lc. lactis</i> | 7 |
| | Lactovum | <i>Lv. miscens</i> | 1 |
| | Streptococcus | <i>Strep. pyogenes</i> | 78 |
| Diğer 'LAB' | Bifidobacterium | <i>Bif. bifidum</i> | 41 |

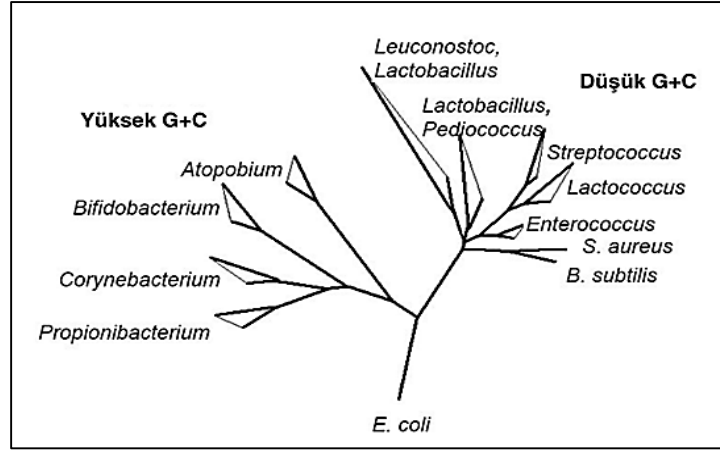
Laktik asit bakterileri; Gram-pozitif, spor oluşturmeyen, genellikle hareketsiz, 1,5-5 µm uzunlukta basil veya kok şeklinde, anaerobik fakat oksijene toleransları olan, katalaz ve oksidaz negatif, aside dayanıklı, sitokromoksidaz enzimleri bulunmayan, nitratı redükte edemeyen, biyosentetik yetenekleri sınırlı olduğundan büyüme ve gelişimleri için zengin besin kaynağına(karbonhidratlar, aminoasitler, vitaminler, mineraller) ihtiyaç duyan mikroorganizmalardır. Bazı laktobasil suşlarının hareketli olduğu ve endospor oluşturduğu; bazı laktobasil ve pediokokların katalaz pozitif reaksiyon verdikleri ve yine bazı LAB suşlarının da kanlı agar gibi hem grubu bakımından zengin ortamlarda geliştiklerinde zayıf pseudokatalaz aktivite gösterebildikleri bilinmektedir (Ahi, 2011; Yörük ve Güner, 2011; Cai et al., 2012; Özlü, 2015).

Laktik asit bakterileri karbonhidrat metabolizmasında temel son ürün olarak laktik asit üretirler. Bunun yanında asetik asit, karbondioksit, etil alkol ile bazı tat ve aroma maddeleri de üretebilmektedirler. 10-45°C arası sıcaklıklarda ve yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişme; asit ve alkali ortamı tolere etme yeteneklerine sahiptirler. LAB, gıda endüstrisindeki kullanımlarında insanlarda hastalıklara neden olmadıklarından GRAS (genel olarak güvenilir kabul edilir) statüsünde bakteri grubu olarak kabul edilirler. LAB bu özellikleri ile üretiminde kullanıldıkları gıdalarda ürünün muhafazası, duyu özellikleri ve besin değerlerinde gelişme sağlarlar (Aslım, 1994; Holzapfel and Wood, 1995; Evren vd., 2011; Ahi, 2011; Özlü, 2015; Kıрма, 2016; Zehir, 2017; Bıyıklı, 2020). Laktik asit fermantasyon tipleri dikkate alınarak zorunlu homofermentatif, zorunlu heterofermentatif ve fakültatif heterofermentatif olarak üç gruba ayrılırlar (Holzapfel and Wood, 2014)

2.2. Laktik Asit Bakterilerinin Genel Özellikleri ve Sınıflandırması

Laktik asit bakterileri süt ve süt ürünleri üretim yerlerinde, bitki ve bitki atıklarında, insan ve diğer canlıların bağırsak sistemlerinde rastlanan, karbonhidratları laktik aside fermente edebilen canlı türleridir. LAB'nin çoğunun optimum gelişme sıcaklıkları 30-45°C arasında değişmektedir. 3,2-9,6 pH'lar arasında gelişebilmekle birlikte optimum pH değerleri 5,5-6,5 pH'dır. Bazı türleri tuz, ozmotik basınç, etanol, safra ve düşük su aktivitesine karşı oldukça yüksek tolerans gösterebilmektedirler. Öte yanında bazı türler zayıf proteolitik ve lipolitik özelliğe sahiptirler (Ahi, 2011; Önlü, 2018; Kazancıgil, 2018; Kezer, 2019). LAB'nin farklı şartları tolere etme yetenekleri farklı habitatlarda bulunmaları ile ilişkilendirilmektedir (Darsanaki et al., 2013)

Laktik asit bakterileri, laktik asit fermantasyonunun gerekli olduğu fermente süt ürünleri (yoğurt ve peynir), fermente sebzeler (zeytin, turşu), fermente etler (sosis, sucuk) ve ekşi hamur ekmeği gibi gıdaların üretiminde görev alan önemli endüstriyel mikroorganizmalardır. Endüstriyel olarak çok kullanılan LAB *Firmicutes* ve *Actinobacteria* olmak üzere iki farklı filumda bulunur (Şekil 2.1). *Firmicutes* filumunda, LAB'nin en önemli cinsleri *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* ve *Weissella* olmak üzere hepsi *Lactobacillales* ailesine ait olan düşük G+C içerikli (%31-49) organizmalar yer alırlar. *Actinobacteria* filumunda yer alan ve çoğu kaynakta diğer LAB diye verilen *Bifidobacterium* cinsi ise daha yüksek G+C içeriğine (%58-61) sahiptir (Holzapfel and Wood, 1995; Önlü, 2018; Kazancıgil, 2018).



Şekil 2.1.Laktik asit bakterilerinin filogenetik pozisyonu

2.2.1. *Lactobacillus* Cinsinin Genel Özellikleri

Lactobacillus cinsi, LAB içerisinde yer alan cinslerin en fazla sayıda türe sahip olanıdır. Oldukça heterojen olan cins; fenotipik, biyokimyasal ve fizyolojik özellikleri açısından çeşitliliğe sahip türleri içermektedir. *Lactobacillus* cinsi üyeleri; Gram pozitif, kısa, uzun, ince çubuk ya da kokobasil şeklinde, fakültatif anaerobik ya da mikroaerofilik, spor oluşturmeyen, sitokrom içermeyen, aside toleranslı, katalaz negatif, G+C oranı %50'den az, gelişme sıcaklıkları 2-53°C (optimum 30-40°C), pH'ları ise 3-8 pH arasında (optimum 5,5-6,2 pH) olan ve %5 CO₂'li ortamda gelişme gösterebilen mikroorganizmalardır (Hammes and Vogel, 1995; Madigan and Martinko, 2012).

Bitkisel ve hayvansal materyallerde ve değişik gıdalarda (hububat, et ve süt ürünleri, bira, şarap meyve ve meyve suyu, hamur, turşu ve zeytin) yaygın olarak bulunan *Lactobacillus* cinsine ait birçok tür gıda endüstrisinde peynir, sucuk, ekşi hamur ve silaj gibi asidik fermente ürünlerin üretiminde starter kültür olarak kullanılmaktadır. Bunlar içerisinde *Lb. acidophilus*, *Lb. delbrueckii* subs. *delbrueckii*, *Lb. delbrueckii* subs. *bulgaricus*, *Lb. helveticus*, *Lb. kefiranofaciens* ve *Lb. johnsonii* dikkat çeken türlerdir (Yörük ve Güner, 2011; Çifci, 2017; Kazancıgil, 2018). *Lactobacillus*'ların oldukça değişik kaynaklardan izole edilebilmeleri, LAB grubu arasında büyük genom (~3,3 Mb) sahip olmaları ile ilişkilendirilmektedir (Ahi, 2011; Yılmaz, 2018; Omak Keskin, 2020).

2.2.2. *Lactococcus* Cinsinin Genel Özellikleri

Lactococcus cinsi Gram-pozitif, katalaz-negatif, spor oluşturmeyen, hareketsiz, fakültatif anaerob ve tek, çiftler ya da kısa zincirler halinde bulunabilen kok şekilli (0,5–1,5 µm) bakterilerdir. *Lactococcus*'ların optimum gelişme sıcaklıkları 30°C'dir. Ancak bazı türler 7°C'nin altında da gelişme özelliğine sahip iken, bazıları da 50°C üzerinde hayatta kalabilirler. %6,5 NaCl varlığında ve 9,6 pH'da gelişemezler. *Lactococcus* cinsi bakterilerde 12 tür bulunur ve bunlar fizyolojik özelliklere göre farklılaşmaktadırlar. Örneğin: *Lc. lactis* subsp. *lactis* genellikle süt ürünlerinin uygulamalarında kullanılan, tuz tolerans özellikleri ve arginini hidroliz edebilme yeteneği ile farklılaşan bir türdür. *Lc. garvieae* gibi bazı türler ise patojen özellik gösterebilmektedir (Serin, 2016; Kıрма, 2016; Arık, 2018).

Lactococcus 'ların genom büyüklükleri ortalama 2,5 Mb'dır. Homofermentatif özellikte olan *Lactococcus* 'lar karbonhidrat katabolizması sonucu ana ürün olarak laktik asit üretirler. İlk olarak 1985 yılında Schleifer ve arkadaşları tarafından, *Lc. lactis*, *Lc. raffinolactis* ve *Lc. hordniae* türleri *Lactococcus* cinsi altına sınıflandırılmıştır. Bugün *Lc. garvieae*, *Lc. piscium*, *Lc. plantarum* ve *Lc. chungangensis* türleri de literatürde sıkça rastlanan diğer üyelerindedir. *Lactococcus* 'ların laktoz ve sitrat metabolizmaları ile aroma bileşenleri, bakteriyosin ve ekzopolisakkarit oluşturma yetenekleri, bakteriyofajlara olan dirençlilikleri önemli endüstriyel özellikleridir. Bu nedenle; peynir, tereyağı, krema ve yoğurt gibi fermente süt ürünlerinin fermantasyonunda özellikle de birçok peynir çeşidinin yapımında ve olgunlaştırılmasında endüstriyel bazda starter kültür olarak kullanılmaktadırlar (Yörük ve Güner, 2011; Özlü, 2015; Önlü, 2018).

2.2.3. *Leuconostoc* Cinsinin Genel Özellikleri

Leuconostoc cinsi, *Lactobacillus* ve *Pediococcus* cinslerine yakındırlar. Morfolojik yapısı olan kokoid şekli ve bazı temel özelliklerinden dolayı LAB'nin diğer koklarından ayrılmaktadırlar. Bazı *Leuconostoc* türleri insanlarda enfeksiyonlara neden olsa da, cins genel olarak GRAS statüsünde sayılmaktadır (Sağlam ve Karahan, 2017; Kazancıgil, 2018).

Leuconostoc cinsi bakteriler; Gram pozitif, katalaz negatif, hareketsiz, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerobik, elips ya da küre şeklinde, 1 mm'den küçük çaplı, mat, gri-beyaz renkli bakterilerdir. Çoğu türleri %3 hatta %6,5 tuz konsantrasyonuna

dayanabilmektedirler. Optimum gelişme sıcaklıkları 20-30°C arasındadır. Glukozu heterofermantatif yolla D (-) laktik aside, etanole ve karbondioksite fermente ederler. Bazı türleri ise oksidatif mekanizmaya sahip olup etanol yerine asetik asit oluştururlar. Sitrattan diasetil üretir; ramnoz, melezitoz, inulin, nişasta, gliserol, sorbitol ve inozitolu fermente edemezler. L-laktat yerine D-laktat oluşturmaları sebebiyle *Lactococcus*'lardan ayrılırlar (Ahi, 2011; Özlü, 2015; Kıрма, 2016; Yakıt, 2019).

Leuconostoc cinsi doğal olarak genellikle bitkilerde, süt ve süt ürünlerinde, et, şarap ve diğer gıda ürünlerinde yaygın olarak bulunmaktadır. Günümüzde, *Leuconostoc* cinsi içinde tanımlanmış 15 farklı tür ve 8 alt tür bulunmaktadır. Bunlar içerisinde *Leuc. carnosum*, *Leuc. citreum*, *Leuc. lactis*, *Leuc. mesenteroides* (*Leuc. mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Leuc. mesenteroides* subsp. *dextranicum*, *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Leuc. mesenteroides* subsp. *suionicum*), *Leuc. pseudomesenteroides* türleri sık rapor edilenlerdir. *Leuconostoc*'lar fermente süt ve et ürünlerinin oluşumunda ve organoleptik özelliklerinin düzeltilmesinde önemli rol oynamaktadırlar. Ürünlerin duyu kalitesinin ve yapısının geliştirmesinde, diasetil üretimi nedeniyle süt ürünlerine lezzet vermektedirler. Bu grup bakterilerin bazı suşları aynı zamanda peynir üretimi için starter kültür olarak kullanılmaktadır (Sağlam ve Karahan, 2017; Yakıt, 2019).

2.2.4. *Enterococcus* Cinsinin Genel Özellikleri

Enterococcus türleri *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsleri ile birlikte insan intestinal sisteminde sayıca en fazla görülen mikroorganizmalardandır. *Enterococcus*'lar homofermantatifler ve L-laktik asit üretirler. Bazı türlerinin enfeksiyonlara sebep olmaları nedeni ile gıda endüstrisinde starter kültür olarak kullanımları sorgulanmaktadır. Bununla birlikte *Enterococcus* türleri ısıl işleme dirençli olmaları nedeniyle ısıl işlem görmüş birçok gıdada bulunabilmektedirler. *Enterococcus* cinsi, Gram pozitif, katalaz negatif, fakültatif anaerob, homofermantatif, spor oluşturmayan ikili ya da kısa zincir halinde bulunan, kok (1 µm çapında) ya da kokoid morfolojiye sahip LAB'dir. *Enterococcus*'lar %6,5 NaCl'lü, %40 safra tuzlu ya da 9,6 pH'ya sahip besiyerinde çoğalabilen, 10-45°C'de gelişebilen, eskülünü hidrolize edebilen ve 60°C'de 30 dakika ısıl işlemde canlı kalabilen bakterilerdir. Optimum gelişme sıcaklığı 37°C olarak bildirilmektedir (Herkmen, 2015; Arık, 2018; Yakıt, 2019).

Enterococcus ismi ilk kez Thiercelli tarafından 1889 yılında, bakterinin bağırsak kökenli olduğunu belirtmek için kullanılmıştır. 1906 yılında Andrewes ve Holder tarafından *Streptococcus faecalis*, 1919 yılında da Orla-Jensen tarafından *Streptococcus faecium* tanımlamıştır. Bergey's Manual (1984) tarafından *Enterococcus*'ların hücre duvarı antijen yapısına göre ayrı bir cins olarak sınıflandırılması gerektiğini bildirilmiştir. Günümüzde, *Enterococcus* cinsi içinde tanımlanmış 64 farklı tür ve 2 alt tür bulunmaktadır. *Enterococcus* cinsi laktik asit bakterileri gibi GRAS statüsü avantajına sahip olmasalar da, intestinal sistemdeki ve birçok doğal fermantatif gıdadaki varlıkları dikkate alınarak probiyotik bakteriler arasında kabul edilmektedirler. *Enterococcus* cinsi içinde probiyotik özellik gösteren iki tür; *E. faecium* ve *E. faecalis* olarak bildirilmiştir (Herkmen, 2015; Sağlam ve Karahan, 2017; Yakıt, 2019).

Enterococcus cinsi bakteriler özellikle süt ve et ürünlerinin doğal floralarının bir parçası olmaları nedeniyle, bu ürünlerin fermantasyonunda doğal starter kültürler arasında yer almakta ve çeşitli geleneksel fermente ürünlerin üretiminde faydalı rol oynamaktadır. *Enterococcus*'ların bazı suşları proteolitik ve lipolitik aktivitelerinden dolayı peynir, sosis gibi birçok gıdanın tat ve lezzetini, sertlik-yumuşaklık gibi reolojik özelliklerini geliştirmektedirler. Bu cins içinde bulunan *E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. durans* indikatör mikroorganizmalar olup gıda ve sularda fekal kontaminasyonun göstergesi olarak önem taşımaktadır (Sağlam ve Karahan, 2017; Önlü, 2018).

2.2.5. *Pediococcus* Cinsinin Genel Özellikleri

Pediococcus cinsi mikroskop altında tetrat morfoloji gösteren LAB'ni içermektedir. Gram pozitif, katalaz negatif, oksidaz negatif, fakültatif aerobik ve homofermentatif bakterilerdir. Küresel veya nadiren oval şekilli, 0,6-1,0 µm arasında değişen çap veya uzunluğa sahip, hareketsiz, spor oluşturmeyen, %18 NaCl konsantrasyonlarına gelişebilen ve şekerlerden %0,5-0,9 oranında laktik asit üretebilen LAB'dir. *Pediococcus* cinsi bakteriler 7-45°C arasında, optimum olarak da 25-32°C arasında gelişme gösterirler (Sun et al., 2014; Sidek et al., 2018).

Pediococcus cinsi LAB'nin izolasyon kaynakları olarak: bitkiler, fermente içecekler, et ve süt ürünleri ile insan ve hayvanların sindirim sistemleri bildirilmektedir. Günümüzde, *Pediococcus* cinsi içinde tanımlanmış 11 farklı türü *P. acidilactici*, *P. cellicola*, *P. claussenii*, *P. damnosus*, *P. ethanolidurans*, *P. inopinatus*,

P. parvulus, *P. pentosaceus*, *P. siamensis*, *P. stilesii*) bulunmaktadır (Kırma, 2016; Önlü, 2018; Yakıt, 2019) .

Pediococcus cinsi üyeleri gıda teknolojisinde hem olumlu, hem de olumsuz yönleri ile önem taşımaktadırlar. Bazı *Pediococcus* türleri diasetil/asetoin oluşumu ile şarap ve bira gibi alkollü içeceklerin üretiminde kalite kayıplarına neden olurken; bazıları geniş bir sıcaklık aralığında gelişebilmeleri nedeniyle peynir ve sucuk üretiminde starter kültür olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda, bazı türleri bitkisel fermente gıdaların fermantasyonunda (lahana turşusu, fermente fasulye, salatalık ve zeytin gibi gıdalarda) spontan veya starter kültür olarak kullanılmaktadır. Bakteriyosin ve EPS üretim yeteneklerinden dolayı *Pediococcus* suşları üzerine yapılan çalışmalar giderek artmaktadır (Serin, 2016; Kazancıgil, 2018).

2.2.6. *Streptococcus* Cinsinin Genel Özellikleri

Homofermentatif özellikte olan *Streptococcus* cinsi, vücudun normal florasında bulunabildikleri gibi saprofit olarak süt ve süt ürünlerinde bulunan heterojen bir gruptur. *Streptococcus* cinsi bakteriler; Gram pozitif, katalaz negatif, genelde hareketsiz, küre veya oval şekilli, 0,8–1,2 µm çapında, spor oluşturmeyen, çift veya zincir halinde bulunan hücrelere sahip bakterilerdir. Fakültatif anaerobik, bazen gelişimleri için CO₂ ihtiyaç duyan bazen de anaerobik ortamda gelişebilen bakterilerdir. *Streptococcus* cinsi bakteriler gelişmeleri için kompleks besin ortamına ihtiyaç duyarlar ve optimum üreme sıcaklıkları 37°C'dir. Ancak maksimum (45°C) ve minimum (20°C) gelişme sıcaklıkları türlerine göre değişiklik göstermektedir (Yörük ve Güner, 2011; Kırma, 2016; Kazancıgil, 2018; Arabacı, 2019).

Günümüzde, *Streptococcus* cinsi içinde tanımlanmış 120 farklı tür ve 17 alt tür bildirilmektedir. Bu tür ve alt türlerden *Streptococcus thermophilus* yoğurt yapımında *Lb. delbrückii* subsp. *bulgaricus* ile birlikte başlatıcı kültür olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda laktik asit üreten *Streptococcus*'lar, peynir ve bazı fermente süt ürünlerinin üretiminde de önemli rol oynamaktadır. En önemli türleri *Lc. lactis*, *Str. cremoris* ve *Str. raffinolactis*'tir. *Lc. lactis*, doğal olarak çiğ süt, süt ürünleri ve bitkilerde bulunan homofermentatif bir bakteri türüdür. *Str. raffinolactis* ise genelde asitliği gelişmiş sütlerden izole edilmektedir. *Streptococcus*'lar laktoz fermantasyonunda, laktozu glukoz ve galaktoz 6-fosfata dönüştürdükten sonra, son ürün olarak laktik asit meydana getirirler. Bu durum, süt ve süt ürünlerinde

karakteristik aroma oluşumu açısından oldukça önemlidir. Ancak proteolitik enzim sistemi zayıftır (Ahi, 2011; Sağlam ve Karahan, 2017; Yakıt, 2019).

2.2.7. *Weissella* Cinsinin Genel Özellikleri

İlk olarak 1993 yılında *Lactobacillus* cinsi içerisinde yer alan bazı türler *Weissella* cinsi altında toplanmıştır. *Weissella* cinsi üyeleri, toprak, fermente sebzeler, şeker kamışı, çiğ süt, fermente gıdalar, balık, et ve et ürünleri ile hayvan ve insanların sindirim sistemleri gibi çok değişik alanlarda bulunmaktadırlar. *Weissella* cinsine ait türler Gram pozitif, katalaz negatif, hareketsiz (*W. beninensis* hariç), fakültatif anaerob, sitokrom oksidaz enzimine sahip olmayan, spor oluşturmeyen, kısa çubuk ya da kokoid hücre yapısında ve mikroskopta ikili ya da kısa zincirler şeklinde gözlemlenen türlerdir. *Weissella* 'ların genel olarak 15-37°C arasında gelişebildikleri; heterofermentatif fermantasyon ile laktik asit, etanol, CO₂ ve asetat üretebildikleri rapor edilmektedir (Yörük ve Güner, 2011; Arık, 2018).

Günümüzde *Weissella* cinsi içerisinde; *W. beninensis*, *W. bombi*, *W. ceti*, *W. cibaria*, *W. confusa*, *W. diestrammenae*, *W. fabalis*, *W. fabaria*, *W. ghanensis*, *W. halotolerans*, *W. hanii*, *W. hellenica*, *W. jogaejeotgali*, *W. koreensis*, *W. minor*, *W. oryzae*, *Weissella paramesenteroides*, *W. salipiscis*, *W. soli*, *W. thailandensis*, *W. uvarum* ve *W. viridescens* olmak üzere 22 farklı tür bulunmaktadır. Bunların bazı türleri süt ve çeşitli peynirler, fermente gıdalar, işlenmemiş sebze-meyvelerden izole edilebilmektedir (Yakıt, 2019).

Weissella türleri gıda teknolojisi veya gıda işleminde önemli rol oynamaktadır. *Weissella* türleri özellikle mayalı ekmekte iyi bir dekstran üreticisi olup birçok *Leuconostoc* türlerinin aksine früktozu ve manitollerden asetate dönüştürmemektedir. Bu nedenle mayalı ekmeğin raf ömrü, hacmi ve yumuşaklığı üzerinde önemli olumlu roller oynamaktadır. Ayrıca *W. confusa* ve bazı suşların fazla EPS (glukan ve dekstran) üretimi ile birlikte vankomisin, streptomisin, penisilin, gentamisin gibi birçok antibiyotiğe karşı dirençli oldukları da bildirilmektedir (Serin, 2016; Shi et al., 2016).

2.3. Laktik Asit Bakterilerinin Gıda Endüstrisinde Kullanımı ve Önemi

Laktik asit bakterileri gıda endüstrisinde yoğurt, peynir çeşitleri, kefir, ekşi krema, sucuk, zeytin, turşu, şalgam, boza, ekşihamur, tarhana gibi birçok fermente gıda ürününün üretiminde “starter kültür” ve/veya “probiyotik” olarak

kullanılmaktadır. Bunun yanında; kahve, hayvan yemi, kakao ve çok sayıda geleneksel/doğal yiyeceğin fermantasyonunda da kritik rol oynamaktadır. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen laktik asit, asetik asit, asetaldehit ve diasetil gibi bileşikler fermente gıdalara kendine özgü tat ve aroma kazandırmaktadırlar. Fermente ürünlerde kullanımları uzun bir geçmişe sahip olan bu grup bakteriler, ABD Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) tarafından “GRAS” olarak (genellikle güvenli olarak tanınan) tanımlanmakta ve Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından “*Nitelikli Güvenilirlik Varsayımı*” (QPS-Qualified Presumption Of Safety) listesinde yer almaktadırlar (Zehir, 2017; Cerit, 2020; Omak Keskin, 2020).

Laktik asit bakterilerin genetiği, biyokimyası ve fizyolojisi üzerine edinilen yeni bilgiler, bu bakterilerin fermente gıdaların üretiminde, kalitenin geliştirilmesi ve standardizasyonun sağlanması amacıyla starter kültür olarak daha bilinçli ve yaygın olarak kullanımını sağlamaktadır. Laktik asit bakterileri ürettikleri laktik asit ile ortamın asitliğini artırarak, asidi tolere edemeyen mikroorganizmaların yaşamasını güçleştirmekte ve buldukları ortamda daha rekabetçi olmaktadır. Böylece patojen veya saprofit diğer mikroorganizmaların inhibe edilmesini sağlarlar. Bu antimikrobiyal aktivite de LAB'nin metabolitlerinden olan asetik asit, formik asit, fenil laktik asit, kaproik asit gibi asitler ile etanol, hidrojen peroksit, diasetil, amonyak ve bakteriyosin gibi maddeler rol oynarlar (Çelik vd., 2016; Zehir, 2017; Cerit, 2020).

LAB tarafından üretilen bakteriyosinler gıdalarda birçok bozulma etmeni olan patojen bakteriye karşı nanomolar konsantrasyonda öldürücü etkili olmaları ve gıdaların duyuşal özelliklerine etki etmemelerinden dolayı oldukça fazla kullanım alanı bulmaktadır. Bakteriyosinlerden, gıdaların korunmasında; ya üretici suşların doğrudan kullanılması ya da kısmi saflaştırılmış peptidlerin ilavesi şeklinde faydalanılmaktadır (Kıran ve Osmanağaoğlu, 2012; Gülbandılar vd., 2017; Kaya, 2019). Laktik asit bakterileri ürettikleri antimikrobiyal maddeler ile zararlı bakterilerin üremesini ve gelişmesini önleyerek ürünlerin sağlığa daha yararlı olmasını sağlama yanında, patojen mikroorganizmaların neden olduğu bazı hastalıklardan korunma ve tedavide de oldukça etkili olmaktadır. Örneğin *Clostridium difficile* ve *Helicobacter pylori* gibi patojen mikroorganizmaların neden olduğu bağırsak sistem enfeksiyonlarının tedavisinde ve bu patojenlerin kolonizasyonlarının engellenmesinde önemli rol oynamaktadırlar (Çelik vd., 2016).

Günümüzde probiyotik gıdaların üretiminde farklı mikroorganizmalar kullanılabilirle birlikte en sık kullanılan mikroorganizma grubu ise *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerine ait bakterilerdir. Probiyotik LAB, yoğurt, fermente sütler ve diğer fermente gıdalar içinde doğal olarak da bulunurlar. Probiyotik suşların süt esaslı ortamlarda gelişebilmesi, ürün oluşum aşamalarında ve özellikle raf ömrü boyunca canlılığını devam ettirmesi oldukça önemlidir. Sağlık üzerinde olumlu etkiler sergileyebilmesi için gıdada bulunması istenen probiyotik doz en az 10^6 kob/mL veya kob/g'dir. Günlük alım dozunun ise 10^8 - 10^9 kob olması istenmektedir (Kıran ve Osmanoğlu, 2012; Gülbandılar vd., 2017).

Laktik asit bakterileri, ekşi maya hamur proseslerinde ekmeğin kalitesini geliştirmek ve yeni özellikler kazandırabilmek amacıyla starter kültür olarak kullanılmaktadır. Ekşihamur ekmeklerinin ekmek içinin daha yumuşak olduğu, gaz tutma kapasitesinin gelişmesiyle ekmek hacminin arttığı ve mikrobiyel ekzopolisakkaritlerin nişasta retrogradasyonunun engellenmesi ile daha geç bayatladığı bildirilmektedir. Ayrıca proteolitik aktiviteye bağlı olarak glutenin hidrolizi ile yoğurma süresinin kısaldığı; hidrokolloidal yapıdaki mikrobiyel ekzopolisakkaritlerden dolayı su kaldırma kapasitesinin arttığı ve düşük pH ile de viskozitenin azaldığı da rapor edilmektedir (Kezer, 2019).

Laktik asit bakterileri et endüstrisinde, ürünlere kendilerine özgü özellikleri ve uzun raf ömrünü kazandırmak amacıyla kullanılmaktadır. Et ürünlerinde, fermantasyon ile pH'yı düşürerek ürünün daha hızlı kurumasını sağlamakta, nitritin parçalanmasını ve rengin meydana gelmesini hızlandırmakta, aroma oluşumuna katkı vermektedir. Ancak reçeteye çok şeker ilave edilmesi durumunda, yüksek asitlik ile ve/veya heterofermentatif LAB tarafından üretilen CO₂ ile gözenekli yapı oluşumu ile istenilmeyen tat ve yapıya da neden olabilmektedir (Çifci, 2017).

Turşu üretiminde kontrollü koşullarda fermantasyonunun sağlanabilmesi için starter kültür laktik asit bakterisi (*Lactiplantibacillus plantarum*) kullanılmakta ve daha yüksek konsantrasyonlarda laktik asit oluşumu sağlanabilmektedir (Kalkan vd., 1999)

Peynir üretiminde istenilen tat, koku, aroma ve yapı gibi özellikleri kazandırmak amacı ile laktik asit bakteri starter kültür olarak kullanılmaktadır. Laktik asit bakterileri laktik asit fermantasyonuyla sütün asitliğini arttırırken olgunlaşma sürecinde de sahip oldukları enzimler sayesinde peynirin görünüş, tat, koku, tekstür gibi karakteristik

özelliklerinin oluşumunu sağlamaktadır. Tarhana üretiminde ise kullanılan maya ve LAB ürettikleri etil alkol, CO₂ ve laktik asit ile ürüne has tat ve aromanın oluşumunda görev almaktadırlar (Çifci, 2017; Cerit, 2020).

Laktik asit bakterilerinin başta fermente süt ürünler olmak üzere birçok gıdanın üretiminde starter kültür veya spontan flora olarak kullanılmaları nedeni ile bu ürünlerin mikrobiyotası; içerdiği laktik asit bakterilerin genetiği, biyokimyası, fizyolojisi gibi karakteristikleri ve ürünün nitelikleri üzerine etkileri alanlarında yapılan çalışmalar giderek artmaktadır. Örneğin Yakıt (2019) tarafından yapılan çalışmada, farklı fermente gıdalardan izole edilen 372 adet LAB izolatının antimikrobiyel aktivitesinin araştırıldığı çalışmada 160 adedinin indikatör suşlara karşı 4-5 mm çapında zon oluşturduğu, üretilen antimikrobiyel maddenin protein doğasında olduğu ve izolatların 16S rDNA dizi analiz ile *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Lactococcus lactis* olarak tanımlandığı bildirilmiştir. Kaya (2019) tarafından gıda sistemlerinde sorun oluşturan patojen bakterilere spesifik antibakteriyel etkili bakteriyosin üretici LAB izole edilip kokteyl şeklinde kullanılması planlanan çalışmada patojen suşlar üzerinde inhibisyon etkisi bulunan *Lb. plantarum* PFC339, *E. faecalis* PFC340 ve *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis* PFC341 isimli üç farklı tür bulunmuştur.

Diker (2019) tarafından yapılan çalışmada 5 adet bal örneğinden izole edilen 20 adet LAB izolatının moleküler tanımlama sonucunda tamamının *Lb. rhamnosus* olduğu ve probiyotik özelliklere sahip olduğu; probiyotik özelliklerinin suşlar arası farklılık gösterdiği belirtilmiştir. Çetin vd. (2017) tarafından geleneksel fermente turşu ürünlerinden izole edilen 305 adet LAB izolatının *Lb. plantarum* (%60,3), *Lb. brevis* (28,5), *Bacillus* spp. (%4,3), *Lb. paraplantarum* (%3,6), *Enterococcus* (%2,3) ve *Pediococcus ethanolidurans* (%1) türlerine ait oldukları; 39 adedinin mide ve safra tuzlarına dirençli olduğu ve bunların 31 adedinin *Lb. brevis* türüne ait oldukları bildirilmiştir.

Çelik vd. (2016) tarafından ticari ve ev yapımı yoğurt örneklerinden izole edilen 19 adet *Lactobacillus*, 19 adet *Streptococcus* suşunun antibiyotik duyarlılıkları test edilmiştir. *Streptococcus* suşlarının trimetoprim-sülfometaksazole karşı %84,21, sefotaksime karşı %31,57 ve gentamisine karşı %26,35 oranında dirençli ve kloramfenikol, vankomisin, ampisilin, eritromisin ile ofloksasine karşı da %100 duyarlı oldukları *Lactobacillus*; suşlarının trimetoprim-sülfometaksazol ve

ofloksasine karşı %100, gentamisine karşı ise %52,6 oranında dirençli oldukları, kloramfenikol, vankomisin, rifampin, sefotaksim, ampisilin, tetrasiklin ve eritromisine karşı da %100 oranında duyarlı oldukları belirlenmiştir.

Özdemir ve Çon (2017) tarafından yapılan çalışmada, 50 adet ekşihamur örneğinden izole edilen 1000 adet LAB izolatının toplam 40 adedi ekzopolisakkarit üreticisi olarak belirlenmiştir. Bunlar içerisinde en yüksek ekzopolisakkarit üreticisi *Leu. citreum* olmuştur.

2.4. Mikrobiyal Ekzopolisakkaratlerin Genel Özellikleri ve Sınıflandırması

Polisakkaritler, doğada yaygın bulunan monosakkaritlerin glikozidik bağlar ile bağlanmasıyla oluşmuş yüksek moleküllü biyolojik polimerlerdir. Doğada bitkiler tarafından üretilen polisakkaritler yanında algler, arkeler, mantarlar, mayalar, küfler ve bakteriler gibi birçok mikroorganizma tarafından hücre içi polisakkaritler (depo), hücre dışı polisakkaritler ve yapısal polisakkaritler olmak üzere 3 ayrı polisakkarit türü üretmektedir (Ceyhan, 2008; Ergene ve Avcı, 2016; Yılmaz, 2018).

Mikrobiyal ekzopolisakkaritler düşük konsantrasyonlarda viskoz çözelti oluşturabilmeleri ve pseudoplastik yapıya sahip olmaları nedeniyle son yıllarda giderek artan bir ilgi görmektedir. İlk olarak 1972 yılında “ekzopolisakkarit” (EPS) olarak adlandırılan biyopolimerler, bazı bakterilerin hücre yüzeyinde kapsül şeklinde bulunan veya hücre dışına salgılanan, monosakkaritlerin glikozidik bağ ile bağlanmasıyla oluşan düz veya dallanmış yapıda, uzun zincirli ve yüksek molekül ağırlığına sahip, geri dönüşebilen, suda çözünen iyonik veya iyonik olmayan biyopolimerlerdir. Ekzopolisakkaritler, farklı molekül ağırlığına ve farklı şeker kompozisyonuna (glukoz, galaktoz, fruktoz ve ramnoz vb.) sahip olabilmektedirler (Solmaz, 2015; Soyuçok vd., 2016; Yılmaz, 2018).

Polisakkaritler yapılarındaki tekrarlayan monosakkarit ünitelerinin benzerliğine, bu üniteleri bağlayan bağların tipine ve dallanma derecesindeki farklılıklara dayalı olarak birbirlerinden ayrılmaktadırlar. Polisakkaritler içerdikleri ünitelerin tipine göre iki ana gruba ayrılmaktadır (Samal, 2012; Dertli, 2013; Soyuçok vd., 2016):

1. Homopolisakkaritler (HoPS): Tek tip monomerik ünite ve çoğu tek tip bağ içeren, düz, nötral polimerlerdir. Homopolisakkaritlerin çoğunluğu nötr olmasına rağmen bir çok bakteriyel EPS negatif yük taşımakta ve yüksek kütleyle sahip bulunmaktadır. Homopolisakkaritler, hücrelerde enerji üretimi için kullanılan depo maddeleri veya bitki hücre duvarlarında olduğu gibi yapısal elemanlar olarak işlev görebilirler. Homopolisakkaritler içerisinde: Dekstran, kurdlan, ksilan, galaktan (agar-agar, galaktoz üniteleri), arabinan, fruktan (levan, inulin), selüloz, skleroglukan, pullulan, mutan, alternan, levan ve mannan yer almaktadır. Homopolisakkaritler: α -D-glukanlar, β -D-glukanlar, fruktanlar ve poligalaktanlar olmak üzere dört gruba ayrılmaktadırlar. Bunlardan α -D-glukanlar, genellikle *Leu. mesenteroides*, *Leu. mesenteroides* subsp. *dextranicum*, *Streptococcus mutans* ve *Str. sobrinus*, β -D-glukanlar *Pediococcus* spp. ve *Streptococcus* spp., fruktanlar *Str. salivarius* tarafından üretilmektedir (Montersino et al., 2008; Dertli, 2013; Yılmaz vd., 2014; Ergene ve Avcı, 2016).

2. Heteropolisakkaritler(HePS): İki veya daha fazla sayıda farklı tip monomerik ünite içerirler. Yapılarındaki üronik asitten dolayı polianyonik özellik gösterirler. Heteropolisakkaritlerde tekrarlayan monomerler olarak D-galaktoz, D-glukoz, N-asetilgalaktozamin, N-asetilglukozamin, L-ramnoz ve glukoronik asit bulunabilir. Ayrıca bazı heteropolisakkaritlerin yapısında farklı yan zincirlere de (çoğu zaman ana zincire bağlı tek bir monosakkarit formunda) rastlanmaktadır. Heteropolisakkaritler içerisinde ksantan, jellan, asetan, aljinat, emülsan, velan, ramsan, süksinoglukan, hiyaluronik asit ve peptidoglukanlar yer almaktadır. Heteropolisakkaritler genellikle *Lc. lactis*, *Latilactobacillus sakei*, *Lacticaseibacillus rhamnosus* ve *Lacticaseibacillus casei* gibi mezofil LAB ve *Lb. acidophilus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. helveticus* ve *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* gibi termofil LAB tarafından üretilmektedirler (Montersino et al., 2008; Dertli, 2013; Donot et al., 2012; Yılmaz vd., 2014; Ergene ve Avcı, 2016; Ripari, 2019).

Ekzopolisakkaritler şeker monomerleri yanında protein, humik asit, lipid, DNA, nükleik asit, fosfolipid ve diğer polimerik bileşikler de içerebilmekte; süksinil, asetil veya pürivil gibi organik fonksiyonel gruplar ile sülfat gibi bazı inorganik bileşenleri taşımaktadırlar. Ekzopolisakkaritleri oluşturan monosakkaritler çoğunlukla heksozlar ve pentozlardır. Molekül büyüklükleri genel olarak 10-200 kDa arasında değişmekte

bazen de 1000 kDa değerine çıkabilmektedir. EPS'lerin fizikokimyasal özellikleri, monosakkarit kompozisyonu, glikozid bağ tipi, polisakkarit geometrisi ve hücredeki yerleşimiyle bağlantılıdır. Ekzopolisakkaritler mikroorganizmayı, sıvı kaybına, makrofajlara, fagositoza, bakteriyofajlara, protozoalara, antibiyotiklere, toksik bileşiklere ve ozmotik strese karşı korumaktadır. Ayrıca metal iyonlarını hücreye alınması ile bakterinin yüzeye tutunması ve yapıştırıcı (slime) gibi işlevlerle bulunduğu ortamda kolonizasyonunda ve biyofilm oluşturmasında önemli roller üstlenmektedir (Ahi, 2011; Yalçın, 2016b; Ergene ve Avcı, 2016).

Mikrobiyal ekzopolisakkaritler hücrel yerleşimi, kimyasal ve fiziksel yapı özellikleri ve fonksiyonlarına göre de üç ana sınıfa ayrılmaktadır (Ahi, 2011):

1. Hücre yüzeyine kovalent bağlarla bağlı olan kapsüller polisakkaritler (CPS)
2. Hücre duvarının bileşeni olan lipopolisakkaritler (LPS)
3. Hücre yüzeyi ile kovalent bağlarla bağlanmayan ve salınan polisakkaritler (LAM). Bunlardan ilk ikisi hücrenin bir parçası olmaktadır.

2.4.1. Mikrobiyal Ekzopolisakkarit Biyosentezi

Bakteriler, çoğalma evresinde ve çoğalma evresinin farklı kademelerine bağlı olarak değişen koşullarda EPS sentezlemektedir. Hücre içi veya dışı EPS biyosentezi, bazı bakteri şuşları için önemli bir özelliktir. EPS sentezinin Sutherland (1997) tarafından önerilen genel modele göre gerçekleştiği düşünülmektedir. EPS'lerin oluşumunda glukozil-transferaz, UDP-glukozdehidrogenaz, galaktozil-transferaz 1 ve 2 polimeraz gibi polisakkarit sentezine özgü olmayan birçok enzim görev almaktadır. Bu enzimlerden bazıları lipopolisakkaritlerin sentezinde de yer almaktadır. EPS biyosentetik yolu; substrat alımı, polisakkarit sentezi ve merkezi metabolit yolundan oluşmaktadır. Ekzopolisakkarit sentezi nükleozid difosfat şekerlerini içeren intraselüler bir proses olup substrat tipine bağlı olarak aktif ve pasif taşıma sistemi ile hücreye alınmaktadır. Ardından substrat hücre içi fosforilasyonla katabolize edilmekte veya substrat taşınıp oksidatif periplazmik yol boyunca okside edilebilmektedir. Periplazmik oksidatif yol sadece bazı bakterilerde olurken hücre içi fosforilasyon yolu çoğu bakteride bulunmaktadır (Solmaz, 2015; Yalçın, 2016b; Kırma, 2016).

EPS biyosentezinin genellikle karbon kaynağının varlığı ile sınırlı azot ve oksijen gibi faktörlerden etkilendiği belirlenmiştir. EPS sentezinde karbon kaynağı olarak sükröz, glukoz, laktoz, maltoz, manitol, sorbitol, peynir altı suyu, nişasta, fruktoz, riboz, arabinoz, rafinoz, şeker konsantreleri, methanol, C9-C16'ya kadar olan alkanları kullanılmaktadır. Ayrıca EPS sentezinde pepton, maya özütü, amonyum sülfat, sodyum nitrat, potasyum nitrat, asparjin, glutamik asit gibi azotlu bileşikler de kullanılmaktadır. Optimum gelişim için önerilen azot/karbon oranı %20 olarak belirtilmiştir (Suresh Kumar et al., 2007; Ye et al., 2011).

EPS sentezinde karbon kaynağına göre verim ve molekül büyüklüğü değişebilmektedir. EPS sentezinde karbon ve azot başlıca etken kaynaklar olmasına rağmen iz element ve vitamin ilave edilmesi bakteriyel gelişimi ve EPS sentez verimini artırmaktadır. Çoğu bakteriler EPS sentezini aerobik koşullarda gerçekleştirirken bazı bakteriler mikroaerobik koşullarda gerçekleştirmektedir (Ergene ve Avcı, 2016; Soyuçok vd., 2016).

2.5. Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Ekzopolisakkaritlerin Özellikleri

Laktik asit bakterileri tarafından hücre yüzeyine kovalent bağlı kapsüller ve hücreye zayıf şekilde bağlı olan ve ortama salgılanabilen EPS'ler üretilmektedir. GRAS statüsüne sahip *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* ve *Weissella* cinslerine ait LAB'nin EPS üreticisi oldukları bilinmektedir. LAB tarafından üretilen EPS'ler, yoğunluk arttırıcı, stabilizator, su toplama, jel oluşturma gibi özellikleri ile gıdaların tekstürel ve reolojik özelliklerinin iyileştirilmesi amacıyla gıda endüstrisi başta olmak üzere, kimya, ilaç, deterjan, kozmetik ve ambalaj endüstrilerinde kullanılmaktadır. İnsan sağlığının iyileştirilmesi üzerine olumlu etkileri de son yıllarda çok dikkat çekmektedir. Bu nedenlerle LAB tarafından üretilen EPS'ler mükemmel bir ticari potansiyeli sahiptirler (Ruas-Madiedo and De Los Reyes-Gavilán, 2005; Patel et al., 2012).

Ekzopolisakkarit üretme yeteneğine sahip LAB suşlar yüksek oranda yapışma özelliği göstermekte ve EPS varlığına bağlı olarak katı besiyerinde mukoid koloni, sıvı besiyerinde de viskoz bir yapı oluşturmaktadır. LAB'leri tarafından sentezlenen EPS'nin yapısının %75-90'ını karbonhidratlar oluştururken diğer kısmında lipit ve protein gibi makromoleküller bulunmaktadır. Reolojik özellikleri bakımından da oldukça farklı olan LAB EPS'leri tekrarlayan ünitelerin kompozisyonu ve biyosentez

mekanizmasına göre homopolisakkarit ve heteropolisakkarit olarak iki grupta toplanmaktadır (Zehir, 2017; Yılmaz, 2018; Diker, 2019).

2.5.1. Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Homopolisakkaritler

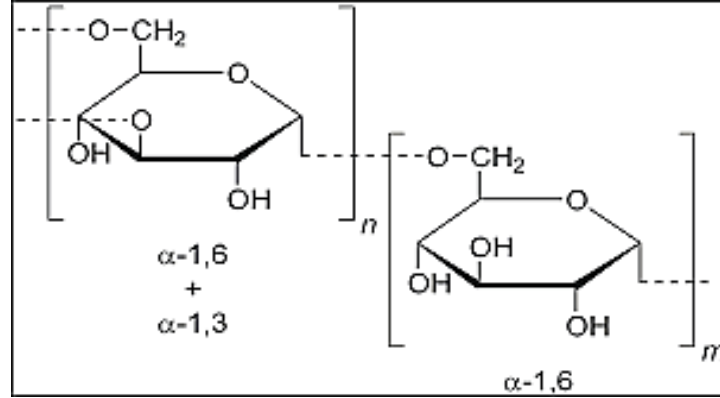
LAB HoPS'leri ana zincirdeki bağlar, molekül ağırlığı ve dallanma yapılarına göre farklılaşmaktadır. Molekül ağırlıkları 10^4 ile 10^6 Da aralığında değişmektedir. *Leuconostoc* ve *Weisella* suşları önemli miktarda HoPs üretmektedirler. Sükroz bulunan fermantasyon ortamında monosakkarit ünitelerinden LAB'nin hücre duvarında olan glikoziltransferaz enzimi ile HoPS'ler sentezlenmektedir. HoPS'ler tek çeşit monosakkaritten oluşan fruktan veya glukun yapılarını içermektedir.

- Fruktanlar (β -fruktan) levan olarak da isimlendirilir; Levan β -D-Fru(2,6) ve İnülin β -D Fru(2,1) olmak üzere iki alt sınıfa ayrılır.
- Glukanlar, α -glukan ve β -glukan olarak iki alt sınıfa ayrılmaktadır. α -glukanlar olarak dekstran α -D-Glc(1,4), mutan α -D-Glc(1,3), alternan α -D-Glc(1,6)/ α -D-Glc(1,3), reuteran α -D-Glc(1,4)/ α -D-Glc(1,6) ve α -D-Glc(1,4)/ α -D-Glc(1,6); β -glukanlar olarak da β -D-Glc(1,3) bilinmektedir (Harutoshi, 2013; Zehir, 2017).

2.5.1.1. Dekstran

Dekstran laktik asit bakteriler tarafından fermantasyon yolu ile üretilen ilk EPS'dir. 1880 yılında şeker kamışı ve pancar şurubunda keşfedilmiştir. *Leuconostoc* ve *Streptococcus* dekstran üreticisi cinslerdir. En iyi üretici *Leu. mesenteroides*'dir. Dekstran *Leu. mesenteroides*'in sahip olduğu dekstransükraz enzim aktivitesi ile sükrozdan üretilmektedir. Monomerlerin glikozit bağlarla bağlanması sonucunda oluşan dekstran ana zincirde α -(1,6) ve dallanma noktalarında α -(1,2), α -(1,3) ve α -(1,4) glikozidik bağlar içermektedir. Dekstran, bakterileri asit ve alkali koşulların olumsuz etkilerinden korumaktadır. Dekstran düşük sıcaklıkta (5°C 'de) yumak şekline, 30°C 'de ise küresel ve yoğun bir hale dönüşmektedir. Dekstran çözeltilerinin viskozitesi, konsantrasyon, sıcaklık ve moleküler ağırlıklarının fonksiyonu olarak değişmektedir. Sahip oldukları glikozidik bağların serbest dönüşümü sayesinde esnek bir yapıya sahiptirler ve suda oldukça iyi çözünebilmektedirler. Dekstran sahip olduğu bu özellikleri ile klinik, kozmetik ve gıda endüstrisi alanlarında yaygın kullanım bulmaktadır. Gıda ve eczacılık alanında 1940'dan beri yer edinmiştir. Gıda alanında şekerleme endüstrisinde nemin muhafaza edilmesi, viskozite ve şeker

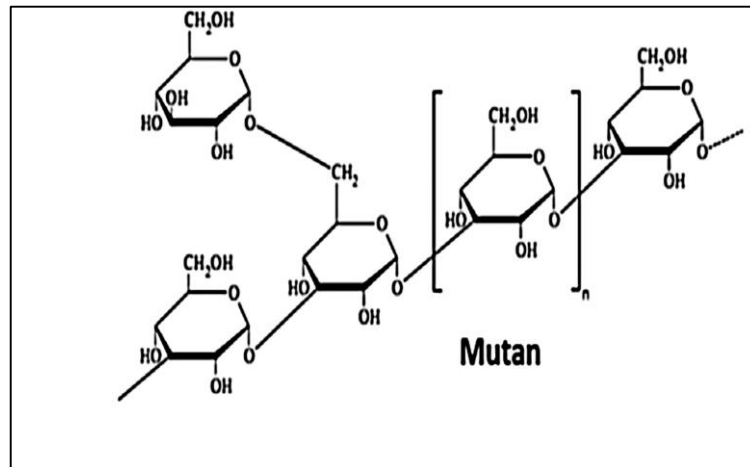
kristalizasyonunun düzenlenmesi amacıyla kullanılmaktadır (Ceyhan, 2008; Özkaya, 2017; Yılmaz, 2018).



Şekil 2.2 *Leuconostoc* dekstranının kimyasal yapısı

2.5.1.2. Mutan

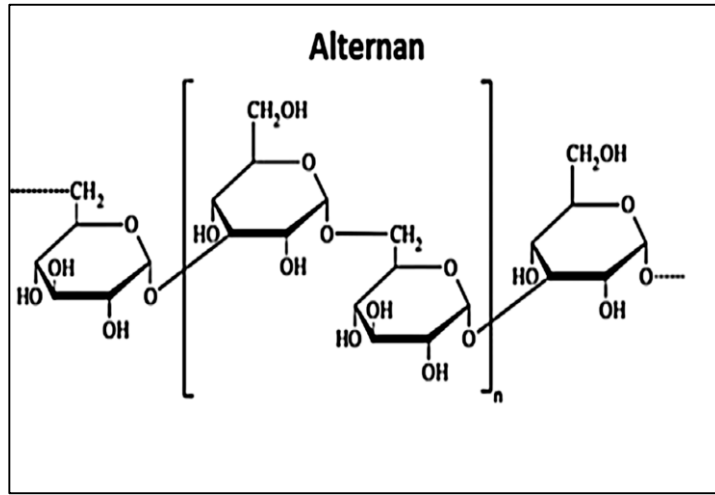
Mutanlar *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus sobrinus* tarafından sentezlenen bir glukandır. Dekstrandan farklı olarak α -(1-3) bağlarını yüksek oranda içermekte ve bundan dolayı suda çözünmemektedir. Mikrobiyal EPS'lerin çözünebilirlik farklılıkları bağ tiplerinin oranlarındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Örneğin suda çözülebilen glukanalarda α -(1,6) bağları fazla iken suda çözünemeyen glukanalarda α -(1,3) bağlarının yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Ağız florasında bulunan *Str. mutans* tarafından üretilen mutan diş çürümesi ile ilişkilendirilmektedir. Bu olguda, çözünmeyen mutanların diş yüzeyine yapışarak mikroorganizmaların dişlere tutunmasına yardım etmesi rol oynamaktadır (Zehir, 2017; Saadat et al., 2019).



Şekil 2.3. *Streptococcus mutans* mutanının kimyasal yapısı

2.5.1.3. Alternan

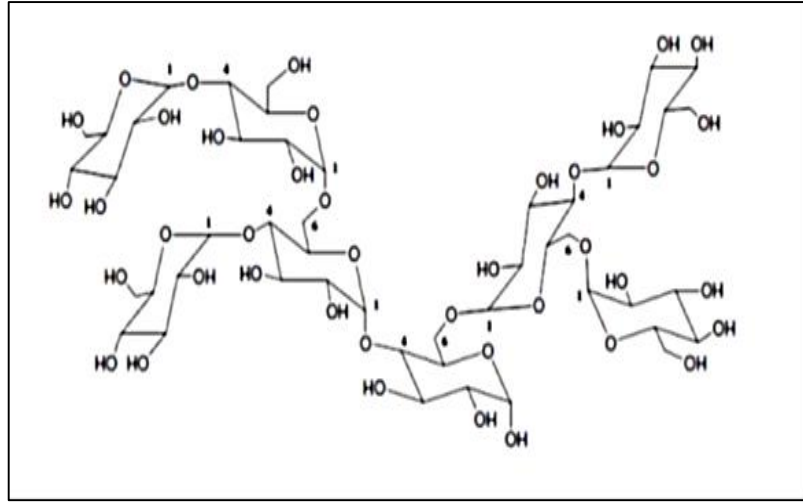
Alternan, *Leu. mesenteroides* suşlarının sahip olduğu alternan-sükraz enzim aktivitesi ile üretilen α -(1,6) ve α -(1,3) glikozidik bağlarını içeren bir glukandır. Diğer polisakkaritlere göre yüksek çözünürlük ve düşük viskozite gibi kendine özgü yapıya sahiptir. Ekstraselüler alternaz enzimi tarafından oligosakkaritlere indirgenmektedir. Gıda ve kozmetik sanayinde viskozite artırıcı ve genişletici ajan, şekerlerin glisemik indeks gücünü düşürücü ve prebiyotik katkı olarak kullanılmaktadır (Patel et al., 2012; Saadat et al., 2019).



Şekil 2.4. *Leuconostoc mesenteroides* alternanının kimyasal yapısı

2.5.1.4. Reuteran

Reuteran, *Lb. reuteri*'nin farklı suşlar tarafından reuteran-sükraz enzim aktivitesi ile üretilen suda çözünebilir bir glukandır. Reuteranın yapısında %70 oranında α -(1,4) ve α -(1,6) glikozidik bağlarını ve dallanma noktasında da %16 oranında α -glikozil ünitelerini içermektedir. Reuteranın molekül ağırlığı 40 MDa'dur. Reuteran diğer glukanolar gibi fermente süt ürünlerinin viskozitesinin artırılmasında rol oynamaktadır. Ayrıca suda çözünebilir özelliği sayesinde fırıncılık ürünlerinde ekmeğin hacim ve kalitesini arttırmak, hamurun reoloji özellikleri geliştirmek, ekmeğin raf ömrünün uzatmak amacıyla kullanılmaktadır (Arendt et al., 2007; Patel et al., 2012; Zannini et al., 2016).



Şekil 2.5. *Lactobacillus reuteri* reuteranının kimyasal yapısı.

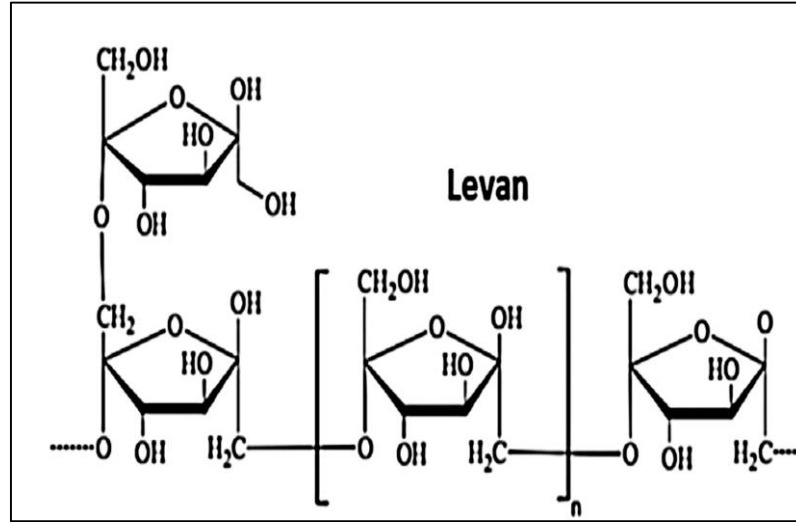
2.5.1.5. Levan

Levan, *Str. salivarius*, *Str. mutans*, *Leu. mesenteroides*, *Fructilactobacillus sanfranciscensis* ve *Limosilactobacillus reuteri* tarafından levan-sükraz enzim aktivitesi ile üretilen toksik olmayan biyolojik aktif bir polisakkarittir. Levani D-fruktofuranozil kalıntılarının β -2,6 bağı ile bağlanmasından oluşan sükrozdan ve levansükraz enzim tarafından üretilmektedir. Levan, früktoz ünitelerinin β -(2-6) ve β -(2-1) bağlarıyla bağlanmasıyla oluşmaktadır ve oldukça dallanmış bir yapıya sahiptir. Levanın molekül ağırlığı ve dallanma derecesi, üretimi gerçekleştiren mikroorganizmalara bağlı olarak değişmekte ve bakteriyal levanın ortalama molekül ağırlığı 2300 kDa arasında bulunmaktadır. Levan biyosentez mekanizması, sakkarozdan dekstran sentez mekanizmasına benzemektedir (Patel et al., 2012; Ergene ve Avcı, 2016; Öner et al., 2016; Saadat et al., 2019).

Levan suda ve yağlarda çözünebilen, aside, alkaliye ve ısıya karşı dayanıklı ve stabil, kuvvetli yapışkan film oluşturabilen, tuzlar ve yüzey aktif maddelerle iyi uyumlu, su ve kimyasal maddeleri tutma kapasitesi iyi olan bir polimerdir. Levanın sahip olduğu diğer önemli özellikler ise biyolojik olarak parçalanabilir olması, film olarak iyi bir oksijen bariyeri olması, organik çözümlere dirençli olması, kurutulmuş toz formunda uzun süre depolanabilir olması ve yağlarda yüksek çözünürlüğü göstermesidir. Uzun fruktan zincirlerine sahip olması nedeniyle levanın nötr bir tadı vardır. %20'nin altındaki konsantrasyonlarda tipik newton tipi akışkan özellikleri göstermektedir. Bu özelliklerinden dolayı levan, endüstriyel açıdan önemli bir

biyopolimerdir ve sanayide kullanım potansiyeline sahiptir (Ergene ve Avcı, 2016; Yılmaz, 2018).

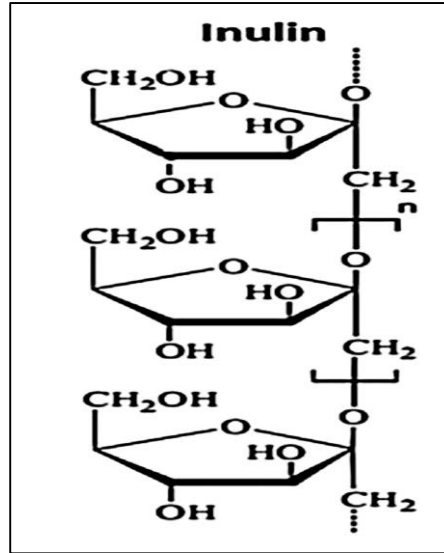
Levanın gıda sektöründe kıvam arttırıcı ve stabilizatör olarak uygulamaları bulunmaktadır. Aynı zamanda prebiyotik ve kandaki kolesterolü azaltıcı etkileri nedeniyle fonksiyonel gıdaların üretiminde ve eczacılık alanında da ilaç kaplama malzemesi olarak kullanılmaktadır (Zannini et al., 2016; Zehir, 2017).



Şekil 2.6. Levanın kimyasal yapısı

2.5.1.6. İnülin

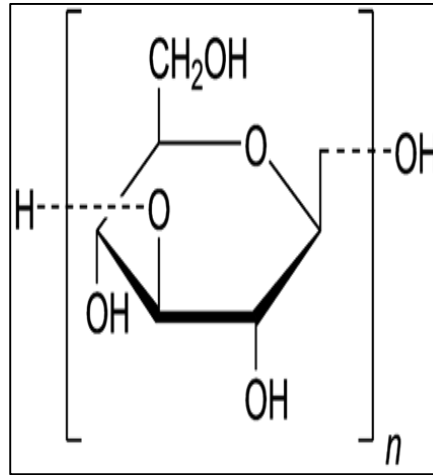
İnülin, *Str. salivarius*, *Str. mutans*, *Leu. mesenteriodes*, *Leu. citreum*, *Fructilactobacillus sanfranciscensi*, *Limosilactobacillus reuteri*, *Lb. johnsonii* gibi LAB tarafından üretilen β -(2,1) glikozidik bağlar içeren fruktan ya da fruktooligosakkaritlerdir. LAB inulosükraz enzimi ile sukrozdan yüksek molekül ağırlıklı inülin üretmektedirler. İnülin insan ve hayvanların bağırsaklarında sindirilemediğinden prebiyotik gibi davranarak bütrat üretirler. Üretilen bütrat bağırsak lümeninde pH'yı düşürmekte ve patojen bakterilerin tutunmasını engellenmektedir. İnülin gıda endüstrisinde jelleşme eğilimi ve stabilitesini sağlama gibi özellikleri ile de ürünlerde arzulanan bir bileşendir (Yılmaz, 2018; Saadat et al., 2019).



Şekil 2.7. İnülinin kimyasal yapısı

2.5.1.7. β -glukan

β -glukan çeşitli bakteri ve mantar tarafından üretilen doğal bir homopolisakarittir. *Lactobacillus* cinsinin bazı türleri tarafından hücre içinde zara bağlı glikotransferaz enzimi tarafından sentezlendiği de bildirilmiştir. β -glukan, dekstran gibi ana zincirde α -(1,6) ve dallanma noktalarda α -(1,2) glikozidik bağlar içermektedir. Etki mekanizması henüz anlaşılmamıştır (Zannini et al., 2016; Saadat et al., 2019).



Şekil 2.8. β -glukanın kimyasal yapısı

2.5.2. Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Heteropolisakaritler

Heteropolisakaritler, genellikle *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Lc. lactis* subsp. *cremoris*, *Lactilactobacillus sakei*, *Lacticaseibacillus rhamnosus* ve *Lacticaseibacillus casei* gibi mezofil LAB ile *Lb. acidophilus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. helveticus* ve *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* gibi termofil LAB

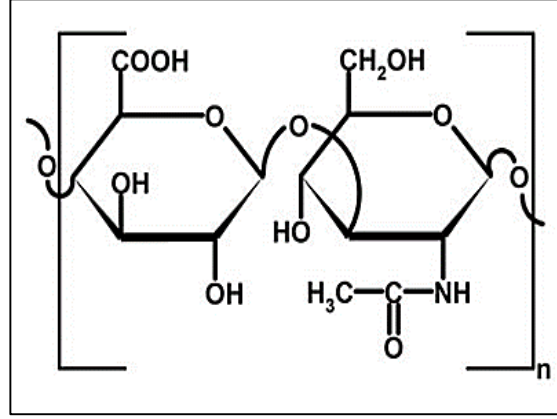
tarafından hücre içi glikozil transferaz enzim aktivitesi ile iki veya daha fazla şeker ünitesinin tekrarlanması ile oluşan polisakkaritlerdir. Heteropolisakkaritler hücre dışı polimerizasyon için izoprenoid glikozil taşıyıcı prekürsör lipidlerle taşınarak hücrenin etrafını sarmaktadırlar. Heteropolisakkaritlerin yapısında ağırlıklı olarak D-glikoz, D-galaktoz ve L-ramnoz bulunmaktadır. Bunlara ilaveten fruktoz, *N*-asetil-D-glukozamin, *N*-asetil-D-galaktozamin, glukuronik asit, bazen fosfat, asetil ve gliserol de bulunabilmektedir. Yapısal olarak Heteropolisakkarit (HePS), kıvrımlı veya mukoiddir. Moleküler ağırlığı $1,0 \times 10^4$ - $6,0 \times 10^6$ Da arasındadır. HePS'nin moleküler ağırlığı, HePS'nin monomer bileşimi ve kompozisyonu, üretici şuşun büyüme ortamının sıcaklığı, pH değeri, oksijen bileşimi ve basıncı gibi kültür şartları etkilemektedir. Ayrıca, yetiştirildiği ortamın karbonhidrat, aminoasit, vitamin, nükleik asit bazları ve tuz içeriği ile et özütü, maya özütü ve pepton gibi karmaşık bileşenler içeriği de etkilemektedir (Soyuçok vd., 2016; Zehir, 2017; Yılmaz, 2018).

2.5.2.1. Kefiran

Kefiran, *Lb. kefiranofaciens*, *Lentilactobacillus parakefiri*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* türleri tarafından üretilen, eşit oranında glikoz ve galaktoz içeren suda çözünebilen bir heteropolisakkarittir. Kefiranın antimikrobiyal aktivite, yara iyileştirme, kan basıncını ve kolesterolü düşürme gibi özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (Patel et al., 2012; Saadat et al., 2019).

2.5.2.2. Hiyaluronik Asit

Hiyaluronik asit, *Str. equi*, *Str. equi* subsp. *zooepidemicus*, *Str. equisimilis*, *Str. pyogenes* veya yakın türlerden üretilen en pahalı bakteriyal heteropolisakkarittir. Hiyaluronik asit, hiyaluronan olarak da adlandırılmaktadır. Yapısında sülfatlanmamış tekrarlayan disakkarit birimi β -D-N-asetil glukozamin ve β -D-glukuronik asit ile [(3)- β -D-GlcpNAc-(1,4)- β -D-GlcpA-(1)] bir birleşimi olup glikosaminoglukanların en basiti ve stabildir. Hiyaluronanın yapısı stabildir, orijinine göre yapısı değişmemektedir (Ceyhan, 2008; Aytar vd., 2013; Yatmaz ve Turhan, 2015).



Şekil 2.9. Hiyaluronik asitin kimyasal yapısı

2.6. Laktik Asit Bakterilerinin Ekzopolisakkaritlerinin Gıda Endüstrisinde Kullanımı

Son yıllarda doğal kaynaklı mikroorganizmalar tarafından üretilen yenilebilir EPS'lere olan ilgi büyümekte ve film oluşturma, reolojik özellikleri ile farklı fizyolojik aktiviteye sahip olmalarından dolayı gıda endüstrisinde kullanım alanları giderek çeşitlenmekte ve artmaktadır. Laktik asit bakteriler tarafından üretilen ekzopolisakkaritler süt endüstrisi başta olmak üzere, sebze, tahıl ve et gibi gıda ürünlerde kullanılmaktadır (Freitas et al.,2009; Zehir, 2017; Diker, 2019). Fermente süt ürünlerinin üretiminde rol alan birçok laktik asit bakterisinin ekzopolisakkarit ürettiği bildirilmektedir. Bugüne kadar EPS üretici olarak yaklaşık 30 adet laktik asit bakteri türü tanımlanmıştır. EPS üreten laktik asit bakterilerinden en çok bilinenler: *Lacticaseibacillus casei*, *Lacticaseibacillus rhamnosus*, *Lb. acidophilus*, *Lb. helveticus*, *Lb. bulgaricus*, *Lb. johnsonii*, *Levilactobacillus brevis* *Latilactobacillus curvatus* ve *Lactiplantibacillus plantarum* türleridir (Ruas-Madiedo et al., 2002; Soyuçok vd., 2016; Diker, 2019).

Laktik asit bakterilerince üretilen EPS'lerin kıvam artırıcı, yapıyı düzenleyici, su bağlayıcı, stabilize ve emülsiyon edici özelliklerinden yararlanılmak için süt ve diğer gıda endüstrilerinde starter kültür olarak EPS üretici LAB'lerinin kullanımına büyük önem verilmektedir. Ayrıca son yıllarda EPS'ler gıdalarda yağ ve şeker yerine ikame maddesi olarak da kullanılmaktadır. EPS üretici şuşların kimyasal bileşik, polimer dizilime, bileşenlerin çeşitlilik, içeriğindeki metabolitlerin etkileşime, molekül ağırlık, yüzeye tutunma gücü, jel oluşturma kabiliyet, kültür şartlarından ve dış faktörlerden etkilenmelerine bağlı olarak LAB EPS'lerinin reolojik özellikleri ve tekstürel

özellikleri birbirinden farklı olmaktadır (Duboc and Mollet, 2001; Yılmaz vd., 2014; Soyuçok vd., 2016).

Fermente süt ürünlerinden yoğurt üretiminde yoğurt yapısının düzenlenmesi, kıvam ve su tutma kapasitesinin geliştirilmesi, istenilen lezzetin algılanması ve sütün pıhtılaşmasının azaltılması için ekzopolisakkarit üretici *Str. thermophilus* ve *Lb. bulgaricus* suşları tercih edilmektedir. Ekzopolisakkaritlerin yoğurdun yanı sıra kefir ve peynir gibi diğer fermente süt ürünlerinin de reolojik özelliklerini arttırdığı bilinmektedir. EPS sentezleyen laktik asit bakteri suşları ile üretilen yoğurtların reolojik ve tekstürel özellikleri üstüne yapılan birçok çalışma bulunmaktadır (Gallardo-Escamilla et al., 2007; Kıрма, 2016). Örneğin Demir vd. (2017) tarafından geleneksel üretilmiş yoğurtlardan izole edilen 55 adet LAB'nin EPS üretim miktarları belirlenmiş ve üretim miktarının 5,89-134,60 mg/L arasında tespit edildiği bildirilmiştir.

Feldmane Jana et al. (2013) tarafından yapılan çalışmada 3 ticari starter kültürün EPS üretme potansiyeli ve yoğurdun viskozitesine olan etkisinin incelendiği çalışma sonucunda 144.08 mg/L ile 440.81 mg/L arasında EPS üretildiği ve yoğurdun viskozite özelliğinin EPS miktarına bağlı olduğu belirlenmiştir. Hassan et al. (2001) tarafından polisakkarit üreten kültürlerin kullanımı ile yoğurdun viskozitesinin önemli ölçüde arttığı belirlenmiş ve mukoz yapıda EPS üreten suşlarla yapılan yoğurtların izogenik kültürlerle üretilenlere göre viskozitelerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Bachtarzi et al. (2019) ev yapımı fermente süt ürünlerden izole edilen EPS üreticisi *Lactobacillus plantarum* LBIO1 ve *Lactobacillus plantarum* LBIO28 suşlarının yağsız fermente sütün viskozitesini artırarak optimum viskozite kazandırmış olduğunu belirlemişler ve bu iki izolatin farklı kapasiteye sahip olmaları dolayısıyla farklı süt fermantasyonlarında kullanılabileceğine işaret etmişlerdir. Fguiri et al. (2016) deve çiğ sütünden izole ettikleri 60 adet LAB şuşundan 2 şuşun antibiyotiklere duyarlı, yüksek asitleştirme ve proteolitik aktivite ile birlikte EPS üretimine sahip olduğunu bu nedenle süt ürünlerin üretiminde kullanabileceğini bildirmişlerdir.

LAB EPS'lerinin yüksek su tutma kapasiteleri nedeniyle yağ oranı az sert peynirlerin fiziksel ve duyusal özelliklerini geliştirmek amacı ile yaygın bir kullanıma sahiptir. Sandoval-Castilla et al. (2004) *Lb. bulgaricus* MR-1R ve *Str. thermophilus* MR-1C suşları tarafından sentezlenen EPS'lerin su bağlama özelliklerini araştırdıkları

çalışmada *Str. thermophilus* MR-1C suşu tarafından üretilen kapsüler EPS'nin peynirin nem miktarını artırdığını tespit edilmiştir (Zehir, 2017).

Costa et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada, LAB EPS'lerinin önerilmiş özellikleri dikkate alınarak peynir üretimi için seçilen EPS üreticisi *Lc. lactis* spp. *cremoris* DPC6532 ve *Lc. lactis* spp. *cremoris* DPC6533 şuşları test edilmiş ve EPS üreten iki şuşun peynir verimini %8,17 (100 kg süt), nem içeriğini %9,49, su aktivitesini \leq %90 artırdığını gözlenmiştir. Ayrıca her iki şuş peynirlerin mikro yapısını geliştirmiştir. Duygu ve Kuleaşan (2019) tarafından yapılan bir çalışmada da beyaz peynir, tulum peyniri, bergama tulum peyniri ve ezine peynirinden izole edilen 15 adet ekzopolisakkarit üreticisi laktik asit bakterisinin EPS üretim miktarlarının 11,9-1,1 mg/L arasında değiştiği belirlenmiştir.

Tahıl ürünlerinde ekzopolisakkarit üreten laktik asit bakterilerinin kullanımının önemli avantajlar sağladığı; hamura ekzopolisakkarit ilavesinin gluteni yumuşatarak tekstürün gelişmesini, saklama süresinin uzamasını ve son ürün hacmini artırdığı bildirilmektedir Madhuri et al. (2014) *Leuc. mesenteroides* tarafından üretilen dekstran fırıncılık katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. *Lactobacillus* cinslerince üretilen polimerlerin hamurun su absorpsiyonu, reolojisi ve işlenebilirliği ile ekmeğin hacmi ve bayatlamaması gibi teknolojik özellikleri olumlu etkileyebileceği belirtilmektedir. Doğan vd. (2012) EPS'lerin kek üretiminde yağ miktarını azaltıcı bileşen olarak kullanılabilirliğini araştırdıkları çalışmalarında yağ oranını %30 azaltılıp, %30 EPS çözeltisi kullanılması ile tam yağlı kek özelliklerine yakın kek üretildiği belirlenmiştir. Üretilen keklerin sertlik, yapışkanlık ve esneklik değerlerinin yağ ve EPS interaksiyonundan önemli seviyede etkilendiği; tüm kek özellikleri göz önüne alındığında yağ ve EPS oranının artmasıyla beğenilirlik değerinin arttığı gözlenmiştir.

Et ve et ürünlerinde yüz yıldır depolama ömrünü uzatabilmek için kullanılmakta olan LAB özellikle sucuk gibi fermente et ürünlerinin temel florasını oluşturup asitlenmeyi sağlamakta, duyu özelliklerinin geliştirilmesinde ve tüketici güvenliğinin sağlanmasında rol oynamaktadır. Son yıllarda LAB tarafından üretilen EPS'lerin bazı et ürünlerinde fiziksel yapının iyileştirilmesinde de faydalı olabileceği öne sürülmüştür (Zehir, 2017). Dertli et al. (2016) EPS üreticisi *Lb. plantarum* 162 R ve *Leuc. mesenteroides* N6 şuşlarını kullanarak sucuk üretimi yapmış ve EPS üreticisi şuşların sucuğun tekstürel özelliklerini iyileştirdiklerini, özellikle daha sıkı ve daha az yapışkan ürün elde edildiğini belirtmişlerdir. Hilbig et al. (2019) tarafından da et

ürünlerinin kalite özelliklerini iyileştirmek için pişmiş jambon üretiminde kullandıkları EPS üreticisi *Lb. curvatus*, *Lb. sakei*, *Lb. plantarum* şuşlarının mükemmel pH değerleri sağladığını, yüksek tuz ortamında dayanıklı olduğunu ve 2-15°C’de depolama sırasında bile canlı hücre sayısının artış gösterdiğini bildirmişlerdir.

Laktik asit bakterilerin tarafından üretilen ekzopolisakkaritlerin insan sağlığı üzerinde de faydalı etkileri bulunmaktadır. Fermente süt ürünlerinin insan sağlığına sağladığı yararlı etkinin laktik asit bakterilerinin hücre duvarlarında bulunan polisakkaritlere bağlı olduğu düşünülmektedir. Günümüzde kullanılan birçok probiyotik bakterinin ekzopolisakkarit üreticisi olması da bu olgunun önemli olduğuna işaret etmektedir. Ekzopolisakkaritler basitçe ilk görünen etki olarak gıdaların viskozitelerini yükselterek sindirim sisteminde kalış süresilerini uzatmaktadırlar. Böylece probiyotik bakterilerin kolonizasyonuna zaman kazandırmakta ve bağırsak florası düzenlenmektedir. Ayrıca literatürler LAB EPS’lerinin normal hücrelere karşı toksik olmamakla birlikte anti-kanser etkilerinin var olduğunu göstermektedir. Bu durumun, LAB gibi güvenli ve doğal kaynaklardan elde edilen EPS’lerin, kansere karşı uzun süreli tedavi süreçlerinde, zararlı yan etkileri olmaksızın sentetik anti-tümör ajanlarına iyi bir alternatif olarak kullanılabilmesine işaret ettiği de bildirilmektedir (Kırma, 2016; Tükenmez ve Aslım, 2018).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Tez çalışması kapsamında Samsun İl sınırları içerisinde farklı bölgeden geleneksel yolla üretilen 16 adet yoğurt, 4 adet süzme yoğurt, 6 adet turşu, 7 adet peynir, 4 adet çökelek olmak üzere 37 adet fermente gıda ve 3 adet çiğ süt olmak üzere toplam 40 adet gıda örneği ekzopolisakkarit üreticisi laktik asit bakteri izolasyon kaynağı olarak kullanılmıştır. Gıda örnekleri aseptik koşullara dikkat edilerek tek kullanımlık steril örnekleme kaplarına alınarak Ondokuz Mayıs Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı'na getirilmiştir. Herhangi bir depolama işlemi uygulanmadan aynı gün içinde izolasyon çalışmalarına başlanmıştır. Çalışmada kullanılan örneklerin tipi ve alındıkları yerler Tablo 3.1 gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan örneklerin tipi ve alındıkları yerler

| Örnek No | Örnek Tipi | Örneğin Alındığı Yer | Örnek No | Örnek Tipi | Örneğin Alındığı Yer |
|----------|--------------|----------------------|----------|-------------------|----------------------|
| X1 | Çiğ süt | Taflan | X21 | Süzme Yoğurt | Hamamayağı |
| X2 | Çiğ süt | Terme | X22 | Yoğurt | Gühlek |
| X3 | Çiğ süt | Alaçam | X23 | Yoğurt | Çarşamba |
| X4 | Süzme Yoğurt | Havza | X24 | Çiğ Peynir | Bafra |
| X5 | Yoğurt | Alaçam | X25 | Çiğ peynir | Sarayköy |
| X6 | Yoğurt | Atakum | X26 | Çökelek | Çevizli |
| X7 | Yoğurt | Terme | X27 | Çökelek | Uzгур |
| X8 | Yoğurt | Taflan | X28 | Çökelek | Bafra |
| X9 | Yoğurt | Çakallı | X29 | Çökelek | Çarşamba |
| X10 | Yoğurt | Erikli | X30 | Lor peynir | Alaçam |
| X11 | Yoğurt | Kavak | X31 | Lor peynir | Tekkeköy |
| X12 | Yoğurt | Uzгур | X32 | Peynir | Bafra |
| X13 | Yoğurt | Sarayköy | X33 | Peynir | Bafra |
| X14 | Yoğurt | Dikbıyık | X34 | Peynir | Ladik |
| X15 | Yoğurt | Tekkeköy | X35 | Karışık Turşu | Çarşamba |
| X16 | Yoğurt | Havza | X36 | Biber Turşusu | Canik |
| X17 | Yoğurt | Körfez | X37 | Salatalık Turşusu | Körfez |
| X18 | Yoğurt | Karahalil | X38 | Domates Turşusu | Terme |
| X19 | Süzme Yoğurt | Vezirköprü | X39 | Fasüyle Turşusu | Çarşamba |
| X20 | Süzme Yoğurt | Salıpazarı | X40 | Fasüyle Turşusu | Çarşamba |

Çalışmada, fermente gıda örneklerinin temel kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi ile laktik asit bakterilerinin izolasyonu, saklanması, aktifleştirilmesi, tanımlanması ve EPS üretim yeteneğinin taranmasında kullanılan kültür ortamları, tamponlar ve çözeltiler ile marker ve primerlerin isimleriyle hazırlanışları sırasıyla EK 1, EK 2 ve EK 3'te verilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Gıda Örneklerinin Toplam Asitlik ve pH Analizleri

3.2.1.1. Peynirde Toplam Asitlik ve pH

Analiz için 10 g peynir numunesi tartılan erlenmayere 40°C'deki saf sudan 100 mL ilave edilmiş ve baget ile parçalandıktan sonra kuvvetlice çalkalanarak homojenize edilmiştir. Takiben içerisine pH metre elektrodu daldırılarak pH ölçümü gerçekleştirilmiştir. Toplam asitlik tayini için hazırlanan solüsyon süzgeç kağıdından süzlmüştür. Süzüntüden 25 mL alınmış, 2-3 damla fenolftalein damlatılmış ve takiben 0,1 M NaOH çözeltisi ile sabit pembe renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Örneklerin laktik asit cinsinden titre edilebilir asitliği formül 1'e göre elde edilmiştir (Koçak vd., 1988).

$$\% \text{ Asitlik} = (V \times F \times E) / m \times 100 \quad \text{(Formül 1)}$$

V: Harcanan 0,1 M NaOH (mL)
F: Titrasyonunda kullanılan bazın faktörü
E: 1 mL 0,1 M NaOH eşdeğeri laktik asit miktarı (g)
m: Örnek miktarı (g)

3.2.1.2. Yoğurtta Toplam Asitlik ve pH

Erlenmayere tartılan 10 g yoğurt üzerine 10 mL saf su eklenip kuvvetlice çalkalanarak homojenize edilmiştir. Daha sonra pH metre elektrodu daldırılarak pH değeri ölçülmüştür. Toplam asitlik tayini için karışıma 2-3 damla fenolftalein indikatörü damlatılmış ve 0,1 M NaOH çözeltisi ile sabit pembe renk oluşuncaya kadar titrasyon yapılmıştır. Örneklerin laktik asit cinsinden titre edilebilir asitliği formül 1'e göre elde edilmiştir (Tekinşen vd., 2002).

3.2.1.3. Turşuda Toplam Asitlik ve pH

Turşu suyundan 10 mL alınmış ve içerisine pH metre elektrodu daldırılarak pH ölçümü yapılmıştır. Daha sonra 10 mL turşu suyu üzerinde 1-2 damla fenolftalein indikatörü damlatılıp 0,1 M NaOH ile sabit pembe renk alana kadar titrasyon yapılmıştır. Örneklerin laktik asit cinsinden titre edilebilir asitliği formül 1'e göre elde edilmiştir (Tokatlı vd., 2019).

3.2.1.4. Çiğ Sütte Toplam Asitlik ve pH

İyice karıştırılan süt örneğinden alınan 20 mL süt içerisine pH metre elektrodu daldırılıp pH değeri ölçülmüştür. Ardından toplam asitliği belirlemek için üzerine eşit miktarda saf su eklenmiştir. Daha sonra 2-3 damla fenolftalein indikatörü

damlatılmış ve 0,1 M NaOH ile sabit pembe renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Örneklerin laktik asit cinsinden titre edilebilir asitliği formül 1'e göre elde edilmiştir (Aslan, 2017).

3.2.2. Gıda Örneklerinin Kuru Madde Analizi

Metal kurutma kapları etüvde 105°C'de 1 saat tutulmuştur ve 15-20 dakika desikatörde soğutulduktan sonra tartılarak darası alınmıştır. Takiben içerisine 3-5 g örnek eklenerek tartılmış, etüvde 105°C'de 2-3 saat kurutulduktan sonra desikatörde soğutularak tartılmıştır. Bu işlem sabit tartım elde edilinceye kadar 2-3 defa tekrarlanmıştır. Kuru madde miktarı aşağıdaki formül 2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Kuru madde} = (G_3 - G_1 / G_2 - G_1) \times 100$$

G1: Kurutma kabı darası (g)
G2: Örneklerin kurutma öncesi tartımı (g) (Formül 2)
G3: Örneklerin kurutma sonrası tartımı (g)

3.2.3. Gıda Örneklerinin Mikrobiyolojik Analizleri

Fermente gıda örneklerin mikrobiyolojik analizi için her birinden 10 g örnek aseptik olarak stomacher poşetlerine tartılmış ve üzerine 90 mL steril fizyolojik su eklendikten sonra stomacherde 1,5 dakika homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenizattan, 9 mL fizyolojik su içeren tüplere ardışık olarak 1 mL aktarmak suretiyle 10⁻⁹ oranına kadar seyreltme yapılmıştır. (Halkman, 2005). Hazırlanan dilüsyonlar kullanılarak örneklerin LAB, toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB), maya-küf sayım ve koliform grup bakteri sayımı aşağıda anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.1. Laktik Asit Bakterilerinin Sayımı

Lactobacillus spp. sayımı için de Man, Rogosa, Sharpe agara (MRS agar; Merck 1.10660), *Lactococcus* spp. sayımı için M17 agara (Merck 1.15108) uygun seyreltilerden dökme yöntem ile ekim yapılmıştır. Petriler 30°C'de 48 saat %5 CO₂ ortamında 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen tüm koloniler sayılmıştır (Tassou et al., 2002; Şimşek et al., 2006).

3.2.3.2. Toplam Bakteri Sayımı

Toplam bakteri sayımı için uygun dilüsyonlardan Plate Count Agar (PCA, Merck 1.05463) besiyerine yayma yöntemle ekim yapılmış ve 25°C'de 48 saat inkübe

edilmiştir. İnkübasyondan sonra oluşan tüm koloniler sayılarak toplam bakteri sayısı belirlenmiştir (Halkman, 2005).

3.2.3.3. Maya-Küf Sayımı

Maya-küf sayımı için Dichloran Rosa Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC, Merck, 1.00466) besiyerine yayma yöntemle ekim yapılmış ve 25°C'de 48-72 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra oluşan tüm koloniler sayılarak maya-küf sayısı belirlenmiştir (Halkman, 2005).

3.2.4. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu

Fermente gıda örneklerinden laktik asit bakterilerinin izolasyonu için 3.2.3'te anlatıldığı şekilde hazırlanan dilusyonlardan 0,1 ml alınarak MRS, MRS-5C ve M17 katı besiyerine yayma yöntemle ekim yapılmış ve 30°C'de 48-72 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda gelişen morfolojik olarak farklı görünümdeki kolonilerden her bir örnek için 10-15 adet bakteri izole edilerek MRS sıvı besiyerinde 18-24 saat çoğaltılmış ve Gram boyama ile katalaz testleri uygulanmıştır. Gram pozitif ve katalaz negatif olanlar LAB izolatları olarak seçilmiş ve çalışmada kullanılmak üzere %30 gliserol içeren MRS sıvı besiyerinde -20°C'de saklanmıştır (Carr et al, 2002; Nawaz et al., 2011).

Seçilen izolatların kodlanmasında ilk rakam besiyerini, takip eden "X" ve rakam örnek sayısını ve "-" işaretinden sonra gelen rakamlar ise koloni sayısını göstermektedir. Örneğin; 1X18-2: MRS besiyeri, onsekiz sayılı örnek ve ikinci koloni; 2X13-3: MRS-5C besiyeri, on üç sayılı örnek ve üçüncü kolonidir.

3.2.5. Laktik Asit Bakterilerinin Morfolojik ve Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

Muhtemel LAB izolatlarda morfolojik ve biyokimyasal özellikleri için öncelikle Gram boyama ve katalaz testi uygulanmıştır.

3.2.5.1. Gram boyama

Laktik asit bakteri izolatları MRS sıvı besiyerinde 30°C'de 18-24 saat aktifleştirilmiş daha sonra taze kültürler steril öze yardımıyla alınarak lam üzerine yayılıp, havada kurutulup ısı işlemle tespit edildikten sonra 1,5 dakika kristal viyole, 3 dakika iyot çözeltisi, 10 saniye dekolorizasyon çözeltisi ve son olarak 30 sn safranin ile boyanmıştır. Ardından mikroskop yardımıyla izolatların Gram boyanma özellikleri,

morfolojileri ve safsızlığı belirlenmiştir (Goh and Philip, 2015). Menekşe renkli hücreler Gram pozitif olarak tanımlanmıştır.

3.2.5.2. Katalaz Testi

Laktik asit bakteri izolatlarının katalaz enziminin (hidrojen peroksit oksid redüktaz) varlığını saptamak amacıyla yapılmıştır. MRS sıvı besiyerinde 30°C'de 18-24 saat çoğaltılan LAB izolatları taze kültürlerinden MRS katı besiyeri üzerine 20 µL nokta ekim yapılmış ve 30°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası gelişen taze kültürlerden steril öze yardımıyla alınarak lam üzerine yayılmış ve üzerine %3'lük hidrojen peroksit solüsyonundan damlatılıp mikroskop altında hava kabarcıklarının oluşup oluşmadığı kontrol edilmiştir. Katalaz enziminin hidrojen peroksiti (H₂O₂), su (H₂O) ve oksijene (O₂) ayrıştırarak gaz kabarcıklarının oluşmasını sağlaması nedeni ile gaz habbecikleri oluşturan örnekler katalaz pozitif olarak kabul edilmiştir (Yakıt, 2019).

3.2.6. Laktik Asit Bakteri İzolatlarının EPS Üretiminin Belirlenmesi

Laktik asit bakteri izolatları içerisinde potansiyel EPS üreticilerinin ön seçimi MRS-sukroz katı besiyerinde geliştirilen kolonilerinin uzama özellikleri incelenerek gerçekleştirilmiştir. Uzama testinin uygulanması için LAB izolatlarının MRS-sukroz sıvı ortamında 30°C'de 24 saat çoğaltılan hücre kültüründen OD₆₀₀= 0,3 olacak şekilde aşılama kültürü hazırlanmıştır. Aşılama kültüründen 0,5 mL alınıp 5000 ×g değerinde 5 dakika santrifüjlenerek pellet toplanmış, 1 mL steril fizyolojik su ile yıkandıktan sonra 0,2 mL steril fizyolojik su ile süspansiyon haline getirilmiştir. Bu süspansiyondan MRS-sukroz katı besiyeri üzerinde 30 µL nokta aşılama yapılmış (5x10⁷ bakteri; 6 nokta/petri) ve 30°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda gelişen kolonilere steril bir öze dokundurularak yavaşça çekilerek uzama özelliğinin varlığı test edilmiş ve 5 mm veya daha fazla uzama gösteren izolatlar potansiyel EPS üreticileri olarak değerlendirilmiştir (Montersino et al., 2008; Bounaix et al., 2009).

3.2.7. EPS'lerin İzolasyonu ve Saflaştırılması

Potansiyel EPS üreticileri olarak seçilmiş laktik asit bakterilerinin EPS'lerinin izolasyonu Dertli (2013) tarafından belirtilen yöntemle yapılmıştır. EPS üretimi için her bir LAB izolatı 1000 mL MRS-Sukroz içeren sıvı besiyerine aşılanmış ve çalkalamalı inkübatörde 150 rpm hızda karıştırılarak 30°C sıcaklıkta 48 saat geliştirilmiştir. Fermantasyon ortamı 3 M NaOH kullanılarak 6 saatte bir 6 pH'ya

ayarlanmıştır. Takiben kültür sıvısı 6000 ×g değerinde 4°C’de 30 dakika santrifüjlenerek pellet ve süpernatant kısmı ayrılmıştır. Ayrılan süpernatanta eşit hacimde soğuk etanol ilave edilip 4°C’de 1 gece bekletilerek salıverilen EPS çökeltmiştir. Pellet kısmı ise önce 50 mL saf su ile süspanse edilmiş ve takiben kapsüler EPS’nin ayrılması için EPS çözünene kadar 0,05 M EDTA uygulanmıştır. İşlem sonrası 6000 ×g değerinde santrifüj işlemi (4°C’de, 30 dakika) uygulanmış ve pellet kısmı ayrılmıştır. Bu basamakta toplanan süpernatanta da eşit hacimde soğuk etanol ilave edilip 4°C’de 1 gece bekletilerek kapsüler EPS çökeltmiştir. Bu aşamadan sonra hem kapsüler hem de ortama salıverilen EPS üzerine EPS’yi çözünmesini sağlayacak kadar (her EPS için farklı olabilir) saf su eklenmiş, 50°C’de ısıtılarak çözülmüş ve 2 katı hacminde soğuk etanol ilave edilerek bir gece 4°C’de bekletilmiştir. Takiben tekrar 6000 ×g değerinde 4°C’de 30 dakika santrifügasyon ile çökeltilip süpernatant ayrılarak EPS elde edilmiştir.

Elde edilen EPS’yi saflaştırma işlemlerinde öncelikle EPS dışında bulunabilecek şeker bazlı bileşenlerin uzaklaştırılması için ham EPS saf suda çözündürülüp 3 gün diyaliz (12-14 kDa) edilmiştir. Daha sonra EPS’ye karışmış olabilecek protein temelli bileşenlerin uzaklaştırılması için diyaliz edilmiş EPS çözeltilerine %10 TCA çözeltisi eklenmiş ve 4°C’de bir gece bekletilmiştir. Çökelen proteinler 6000 ×g’de 30 dakika santrifüj edilerek EPS’den ayrılmıştır. Bu işlemin ardından süpernatanta 2 katı kadar soğuk etanol ilave edilmiş, 4°C’de bir gece bekletilmiş ve çökelen EPS santrifügasyon ile elde edilmiştir. İzole edilen saflaştırılmış ekzopolisakkaritler liyofilize edilip ileri çalışmalar için -20°C’de saklanmıştır (Orsod et al, 2012). Liyofilize edilen EPS’ler tartılıp kurutma kabının darası çıkarıldıktan sonra kuru ağırlığı g/L olarak hesaplanmıştır.

3.2.8. EPS Üreticisi LAB’lerinin 16S rDNA Dizi Analizi İle Tanımlanması

3.2.8.1. LAB İzolatlarının Genomik DNA İzolasyonu

Ekzopolisakkarit üreticisi LAB izolatlarının moleküler düzeyde tanımlanması için öncelikle genomik DNA saflaştırma kiti (Invitrogen, Thermo Fischer, ABD) kullanılarak genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA izolasyonu için -20°C’de bulunan LAB izolatları aktive edilmiş ve MRS katı besiyerine çizim yapılarak 30°C’de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Tek düşen koloniler MRS sıvı besiyerinde çoğaltılmış ve takiben kültür sıvısının bulanıklığı 0.5 McFarland olacak şekilde ayarlanmıştır (~10⁸ kob/mL). Kültür sıvısı 8000 ×g değerinde 15 dakika santrifüj

edilerek pellet kısmı ayrılmış ve pellet üzerine 300 µL TE tampon çözeltisi eklenip 8000 ×g değerinde 15 dakika santrifüjlenmek ve süpernatant kısmı ayrılmak suretiyle yıkanmıştır. Bu yıkama işlemi 3 kez uygulanmıştır. Yıkılarak besiyeri kalıntıları giderilen pelletlere 180 µL lizozim çözeltisi ilave edilmiş ve hücrelerin parçalanması için su banyosunda 37°C’de 1 saat tutulmuştur. Süre sonunda izolasyon kiti ile birlikte verilen 20 µL proteinaz-k, 200 µL genomik liziz çözeltisi eklenip vorteks ile 1 dakika boyunca dikkatlice karıştırılmış ve 55°C’de 1 saat su banyosunda inkübe edilmiştir. Süre sonunda 20 µL RNA-az eklenip oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmiş ve takiben 200 µL %96’lik etanol ilave edilip vorteks ile 1 dakika karıştırılmıştır. Elde edilen DNA karışımı membran filtre bulunan toplama tüplerine aktararak 10000 ×g değerinde 1 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra membran filtre izolasyon kitinde bulunan yıkama tamponu 1’den 500 µL ilave edilerek 10000 ×g 1 dakika, takiben yıkama tamponu 2’den 500 µL ilave edilerek 14000 ×g değerinde 3 dakika daha santrifüj edilmiştir. Ardından DNA elüasyonu için, elüasyon tamponu ilave edilip oda sıcaklığında 3 dakika bekletilmiş ve sonra 14000 ×g değerinde 1 dakika santrifüj edilmiştir. Elüasyon işlemi sonrasında izole edilen DNA örneklerinin saflık kontrolü gerçekleştirilerek PZR analizlerinde kullanılmak üzere -20°C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.8.2. LAB İzolatlarının Genomik DNA’sının Saflık Kontrolü

İzole edilmiş saflaştırılan genomik DNA’ların saflık kontrolleri %1’lik agaroz jel üzerinde elektroforez sisteminde (Cleaver) yürütülüp, DNA görüntüleme sisteminde (Vilber Lourmat) görüntülenerek belirlenmiştir. Yürütme jelinin hazırlanması için %1 agaroz içeren solüsyon mikrodalga fırında ısıtılarak çözündürülmüş, 45°C’ye kadar soğutulduktan sonra üzerine 5 µL etidyum bromit çözeltisi ilave edilmiş ve yatay elektroforez plakasına dökülüp tarak yerleştirilmiştir.

Daha sonra jel oluşumu için 40-45 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda elektroforez tankına yerleştirilmiş, jelin üzerini kapatacak hacimde 1xTBE tampon çözelti ilave edilmiş ve tarak jelden çıkarılmıştır. Agaroz jel üzerindeki ilk kuyucuğa mikropipet yardımıyla 3 µL DNA marker 2,5 µL yükleme boyası ile karıştırarak yüklenmiştir. Devamındaki kuyucuklara ise 10 µL DNA örneği ile 2,5 µL yükleme boyası karışımı yüklenmiştir. Elektroforez işlemi, 100 voltta yaklaşık 45 dakika yürütülerek yapılmış ve süre sonunda agaroz jeli 366 nm dalga boyunda ultraviyole ışık altında incelenmiştir (Neria-González et al., 2006).

3.2.8.3. LAB İzolatların 16S rDNA Bölgesinin PZR ile Çoğaltılması ve Dizi Analizi

LAB izolatlarının tanımlanması için 16S rDNA gen bölgesi 0,2 mL'lik PZR tüplerinde Termal Cycluser kullanılarak saf olarak elde edilmiştir. DNA örneklerinin 16S rDNA genini kodlayan DNA bölgesinin çoğaltılması forward 5'-AGA GTTTGATCCTGGCTCAG-3' ve reverse 5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3 primer çiftleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir (De Vuyst et al., 2002; Vancanneyt et al., 2006; Özel vd., 2012). Bu amaçla aşağıda Tablo 3.2'de bileşimi verilen PZR karışımı ve detayları Tablo 3.3'de verilen PZR protokolü takip edilmiştir.

Tablo 3.2. Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan karışım

| PZR Karışım | Hacim (µL) |
|--|------------|
| Master mix (GoTaq® Hot Start Colorless Master Mix) | 12,5 |
| 16S primer (forward) | 0,5 |
| 16S primer (reverse) | 0,5 |
| Steril ultra saf su | 10,5 |
| Örnek DNA (50 ng/µL son konsantrasyon) | 1 |
| Toplam | 25 |

İzolatların 16S rDNA gen bölgesinin çoğaltılması için 25 µL PZR karışımı eklenmiş PZR tüpleri termal döngüleme cihazına yerleştirilmiş Tablo 3.3'de verilen ısıl döngü ve süre diyagramı sırası ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.3. Laktik asit bakterileri için uygulanan PZR koşulları

| PZR Aşaması | Sıcaklık | Zaman |
|-----------------|----------|-------------|
| Ön Denatürasyon | 95°C | 15 dakika |
| 35 Döngü | 95°C | 1 dakika |
| | 55°C | 1,30 dakika |
| Uzama | 72°C | 3 dakika |
| Son uzama | 72°C | 10 dakika |

Çoğaltılan PZR ürünlerinin doğruluğu ve saflık kontrolü %1,5'lik agaroz jelde PZR DNA markeri ile birlikte 100 voltta 1 saat yürütülüp GelDoc Sisteminde (Vilber Lourmat, Quantum ST5) bantlar kontrol edilmiştir. Uygun görünüm veren bantlara ait PZR amplifikasyon ürünleri, QIAquick PZR pürifikasyon kiti (Qiagen, Valencia, USA) ile saflaştırılmıştır. Elde edilen 16S rDNA gen bölgesinin dizi analizi üç primer kullanılarak hizmet alımı yoluyla (MacroGen firması) gerçekleştirilmiştir. 16S rDNA gen bölgesi dizi analizinde kullanılan primerler EK4'de verilmiştir.

LAB'lerinin 16S rDNA kodlayan gen bölgesinin dizi analizi sonucu elde edilen ABI formatındaki kromatogram dosyaları, Chromas versiyon 1.7.5 (C. McCarthy, School of Health Sciences, Griffith University, Queensland, Australia) ile birleştirilmiş ve EzTaxon Server (URL-13; Kim et al, 2012) kullanılarak, en yakın akraba organizmalarla olan 16S rDNA gen bölgesi nükleotit benzerliği belirlenmiştir. Filogenetik analizler için MEGA X programı, hizalama için de aynı programın CLUSTAL_W seçeneği kullanılmıştır (Tamura et al, 2011). Bootstrap testi 1000 tekrarlı olarak yapılmıştır. En az %98,7 ve daha yüksek benzerliğe sahip izolatlar aynı tür olarak kabul edilmiştir.

3.2.9. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Karakterizasyonu

3.2.9.1. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Fonksiyonel Gruplarının Belirlenmesi

Ekzopolisakkaritlerin ana fonksiyonel grupları kızılötesi absorpsiyon spektrofotometresi (FTIR) kullanılarak belirlenmiştir. Bunun için liyofilize edilmiş ekzopolisakkaritten 1 mg alınmış ve 100 mg KBr tozu ile homojen şekilde karıştırılmıştır. Hidrolik pres kullanılarak bir diske basılarak toprak haline getirilmiş ve elde edilen disk $4000-400\text{cm}^{-1}$ aralığında FTIR spektral ölçümüne tutulmuştur. Elde edilen pikler değerlendirilmiştir (Ye et al., 2019, Xu et al., 2019).

3.2.9.2. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Toplam Şeker Miktarının Belirlenmesi

Ekzopolisakkaritlerin toplam şeker miktarları fenol-sülfirik asit yöntemine göre yapılmıştır. Bu yöntemde ilk olarak liyofilize edilmiş ekzopolisakkaritten 1 mg/mL konsantrasyonda 1000 μL EPS çözeltisi hazırlanmıştır. Ardından 96'lık mikropilaya kuyularına sırayla her bir örnekten 50 μL koyulmuş, daha sonra üzerine 150 μL %98'lik sülfirik asit ilave edilerek EPS örnekleri monosakkarit birimlerine indirgenmiştir. Bunu takiben kuyulardaki karışımın üzerine 30 μL %5'lik fenol ilave edilmiş, renk gelişimi için 5 dakika bekletilmiş ve örneklerin optik yoğunluğu 490 nm dalga boyunda ELISA okuyucuda (Multiscan, Thermo FC) taranmıştır. Liyofilize EPS'lerin toplam şeker miktarı, farklı oranlarda glikoz içeren standart çözeltiler için 490 nm dalga boyundaki absorbans değerlerine karşılık çizilen standart grafik ile karşılaştırılarak belirlenmiştir (Zehir, 2017).

3.2.9.3. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Şeker İçeriğinin Belirlenmesi

Ekzopolisakkaritlerinin şeker içeriği yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak belirlenmiştir. Analiz için ilk olarak saflaştırılmış ve liyofilize edilmiş EPS'ten 20 mg/mL konsantrasyonda 1000 µL EPS çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra temiz steril bir tüp içerisine hazırlanan EPS çözeltisinden 800 µL alınmış ve üzerine 218 µL %72'lik formik asit (HCOOH) eklenip 95°C'de 2 saat su banyosunda bekletmiştir. Süre bitiminde oda sıcaklığına soğutulmuş ve üstüne 500 µL 5M potasyum hidroksit (KOH) eklenerek nötralize edilmiştir. Ardından tüpler 12000 ×g'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant kısmı 0,25 µm porlu şırınga filtreden geçirilmiştir. Hazırlanan örnekleri bir CARBOsep CHO-682 Pb kolonu ve RID-10A kırılma indisi detektörü kullanılıp HPLC sistemine 20 µL enjekte edilerek analiz gerçekleştirilmiştir. Analizde mobil faz olarak 0,7 mL/dk⁻¹ akış hızında 25°C'de H₂O kullanılmıştır. Standart monosakkaritler olarak glukoz, galaktoz, fruktoz, maltoz kullanılmıştır (İspirli et al., 2019).

3.2.9.4. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Termal Özelliğinin Belirlenmesi

Laktik asit bakteri ekzopolisakkaritlerinin termal özelliği, diferansiyel taramalı kalorimetre (Differential Scanning Calorimetry, DSC) kullanarak belirlenmiştir. Analiz saflaştırılmış ve liyofilize edilmiş EPS'ten alüminyum örnek kabına (pan) 5-10 mg arasında tartılıp, örnek kabının ağzı kapatılmıştır. Daha sonra hazırlanan örnek kabı Perkin Elmer DSC 8000 termal analiz sistemine yerleştirilmiş ve azot gazı atmosferinde 10-450°C sıcaklık aralığında 10°C dk⁻¹ ısıtma hızı uygulanarak analiz gerçekleştirilmiştir (Taylan et al., 2019).

3.2.9.5. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Reolojik Özelliğinin Belirlenmesi

3.2.9.5.1. Yatışkan Fazdaki (Steady Shear) Özelliklerinin Belirlenmesi

Liyofilize EPS'lerin viskozite özelliği HAAKE MARS III (Thermo Scientific, ABD) reometrede Cone (C35/2°Ti L 0,104 mm boşluk ile D=17,5 mm) sensör kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Viskozite analizi, 2 mL steril saf suda 80 mg EPS (% 4) çözündürülerek hazırlanan EPS çözeltisinde 4°C sıcaklık ve 0,1-100 s⁻¹ kesme hızı aralığında 120 saniye sürecek şekilde yapılmıştır. Artan kesme hızına (γ̇) bağlı olarak kayma gerilim değerleri Herschel-Bulkley modeli uygulanarak akış davranış indeksi değerleri hesaplanmıştır. Örneklere ait 50 s⁻¹ kesme hızındaki görünür viskozite değerleri (η₅₀) gösterilmiştir (Yılmaz vd., 2014).

Herschel-Bulkley modeli: $\tau = \tau_0 + K(\dot{\gamma})^n$ (Formül 3)

τ_0 - kayma gerilimi (Pa)
K - kıvam katsayısı (Pa sn)
 $\dot{\gamma}$ - kayma hızı (s⁻¹)
n - akış davranış indeksi

3.2.9.5.2. Dinamik Titreşimli Kayma (Dynamic Shear) Özelliklerinin Belirlenmesi

Hazırlanan EPS çözeltilerinin dinamik titreşimli kayma özellikleri belirlenmesi için frequency sweep test uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Frequency sweep test gerçekleştirilmesi için öncelikle doğrusal viskoelastik (LVR) bölgenin belirlenmesi için amplitude sweep test uygulanmıştır. Amplitude sweep testi 4°C sıcaklıkta 0,001-10 Pa arasında 0,1 Hz'da 120 s sürede gerçekleştirilerek EPS örneklerinin doğrusal viskoelastik bölgeleri belirlenmiştir. Daha sonra frequency sweep testi 4°C sıcaklıkta 0,1 Pa ile 0,1-100 Hz (0,628–628,3 rad s⁻¹) aralığında 120 saniye sürecek şekilde yapılmıştır. Elde edilen elastikiyet modülü (G') ve vizkozite modülü (G'') değerleri, aşağıdaki denklemler kullanılarak dinamik titreşimli kayma hesaplanmıştır (Saricaoglu, 2020).

$G' = K'(\omega)n'$ (Formül 4)

$G'' = K''(\omega)n''$

K' ve K'' - kayma gerilimi (Pa s⁻¹)
n' ve n'' - eğim değerleri
 ω - kayma hızı (s⁻¹)

3.2.9.5.3. Sıcaklığa Bağlı Davranış (Temperature-dependent) Özelliklerinin Belirlenmesi

Liyofilize EPS'lerin sıcaklığa bağlı davranış özelliklerinin belirlenmesi için temperature sweep test uygulanmıştır. Temperature sweep testi 10-80°C aralığında (sıcaklık artış hızı 3°C/dk) 20 s⁻¹ sabit kesme hızında 22 dakika sürede gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kesme hızına karşılık kayma basıncı değerleri, Arrhenius modeli uygulanarak akış davranış indeksi değerleri hesaplanmıştır (Ayyash et al., 2020b).

Arrhenius modeli: $\eta = \eta_0 e^{\frac{E_a}{RT}}$ (Formül 5)

η - kayma gerilimi (Pa s⁻¹)
 $\eta_0 e$ - frekans faktörü
 E_a - aktivasyon enerjisi (kJ/mol)
R- evrensel gaz sabit
T-sıcaklık (°C)

3.2.9.6. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Yüzey Yapısının Belirlenmesi

Laktik asit bakteri ekzopolisakkaritlerinin yüzey yapıları taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile gözlemlenmiştir. Liyofilize edilmiş EPS örneği çift taraflı bant üzerine yapıştırarak 30 dakika süre ile altın filmle kaplanmıştır (yaklaşık 10 nm). Ardından hazırlanmış örnekler 5 kV'ta 500, 1000, 2500 büyüklükte gözlemlenmiştir (Feng et al., 2019; İspirli et al., 2020).

3.2.10. İstatistikî Analiz

Çalışma kapsamında gıda örneklerinin kimyasal ve mikrobiyolojik analizleri sonucunda elde edilen verilerde, LAB izolatlarının ürettikleri EPS miktarlarında ve liyofilize edilmiş EPS'lerinin toplam şeker miktarı ve şeker içeriklerinde SPSS programı (SPSS 22.0) ile tek faktörlü varyans testi (ANOVA) kullanılarak istatistikî analizler yapılmıştır. İstatistiksel açıdan farklılık Duncan testi kullanılarak %95 güven aralığında ($p<0,05$) belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Samsun İl sınırları içerisinde farklı bölgelerden temin edilmiş, geleneksel olarak üretilmiş 16 adet yoğurt, 4 adet süzme yoğurt, 6 adet turşu, 7 adet peynir, 4 adet çökelek ve 3 adet çiğ süt gıda örneğinden ekzopolisakkarit üreticisi LAB izole etmek için gerçekleştirilen bu çalışmada, aseptik koşullara dikkat edilerek tek kullanımlık steril örnekleme kaplarına alınan örneklerin önce temel özellikleri belirlenmiş ve takiben LAB izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıda alt başlıklar altında verilerek tartışılmıştır.

4.1. Gıda Örneklerinin Toplam Asitlik, pH ve Kuru Madde İçeriği

Çalışma kapsamında kullanılan gıda örneklerinin toplam asitlik, pH ve kuru madde analiz sonuçları örnek tipine göre gruplandırılarak Tablo 4.1’de verilmiş ve hesaplanan ortalama değerler kullanılarak Şekil 4.1-4.3’de görsel olarak sunulmuştur.

Tablo 4.1. Gıda örneklerinin toplam asitlik, pH ve kuru madde değerleri

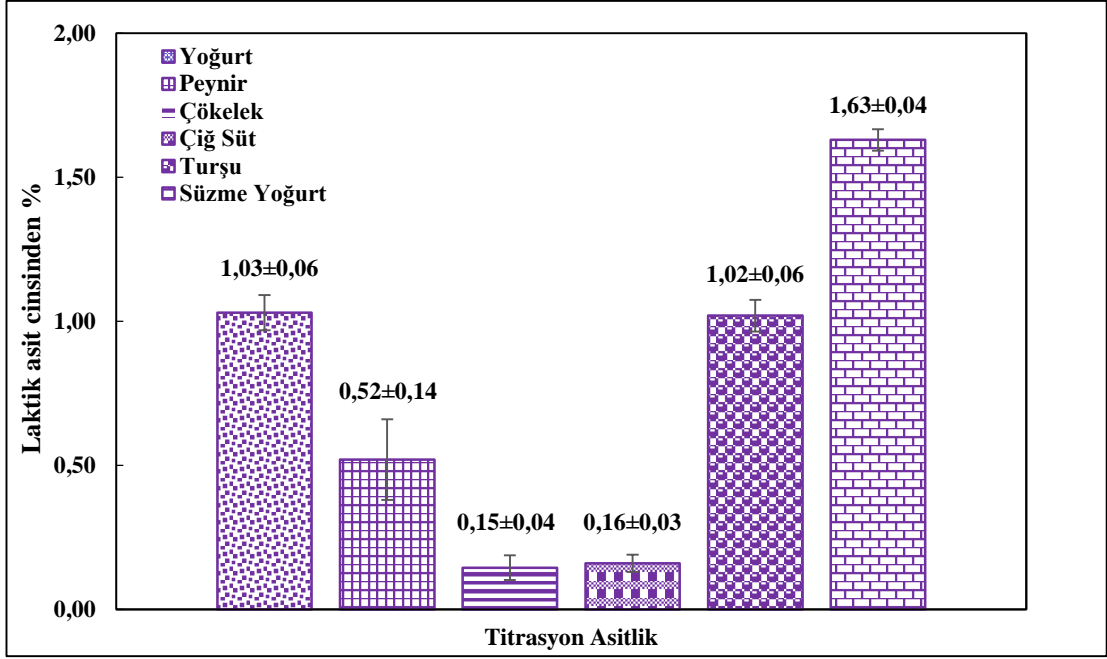
| Örnek No | Yoğurt | | |
|-------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| | Asitlik (%) | pH | Toplam Kuru Madde (%) |
| X5 | 1,12±0,04 ^c | 3,78±0,07 ^d | 13,56±0,04 ^d |
| X6 | 0,91±0,02 ^d | 3,98±0,08 ^b | 14,88±0,03 ^c |
| X7 | 1,15±0,03 ^c | 3,65±0,04 ^f | 13,01±0,05 ^{de} |
| X8 | 0,89±0,05 ^d | 3,92±0,06 ^{bc} | 14,72±0,02 ^c |
| X9 | 1,05±0,08 ^{cd} | 3,79±0,03 ^d | 11,08±0,08 ^f |
| X10 | 0,69±0,1 ^e | 3,99±0,04 ^b | 13,86±0,06 ^d |
| X11 | 1,07±0,31 ^{cd} | 3,82±0,03 ^{cd} | 13,40±0,01 ^d |
| X12 | 1,04±0,05 ^{cd} | 3,68±0,04 ^e | 11,29±0,02 ^{ef} |
| X13 | 1,08±0,01 ^{cd} | 3,85±0,03 ^c | 19,61±0,13 ^a |
| X14 | 1,02±0,18 ^{cd} | 3,86±0,05 ^c | 11,67±0,04 ^f |
| X15 | 1,13±0,06 ^c | 3,73±0,09 ^{de} | 14,88±0,01 ^c |
| X16 | 0,44±0,01 ^f | 4,09±0,07 ^b | 13,01±0,03 ^{de} |
| X17 | 0,81±0,04 ^d | 4,85±0,09 ^a | 12,08±0,01 ^e |
| X18 | 1,75±0,06 ^a | 3,64±0,06 ^f | 18,35±0,02 ^b |
| X22 | 1,25±0,01 ^b | 3,87±0,05 ^c | 11,79±0,04 ^f |
| X23 | 1,02±0,03 ^{cd} | 3,91±0,04 ^{bc} | 11,49±0,03 ^f |
| Ort. | 1,03±0,06 | 3,90±0,05 | 13,67±0,04 |

*Aynı sütunda farklı harfle (a-f) işaretli ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05)

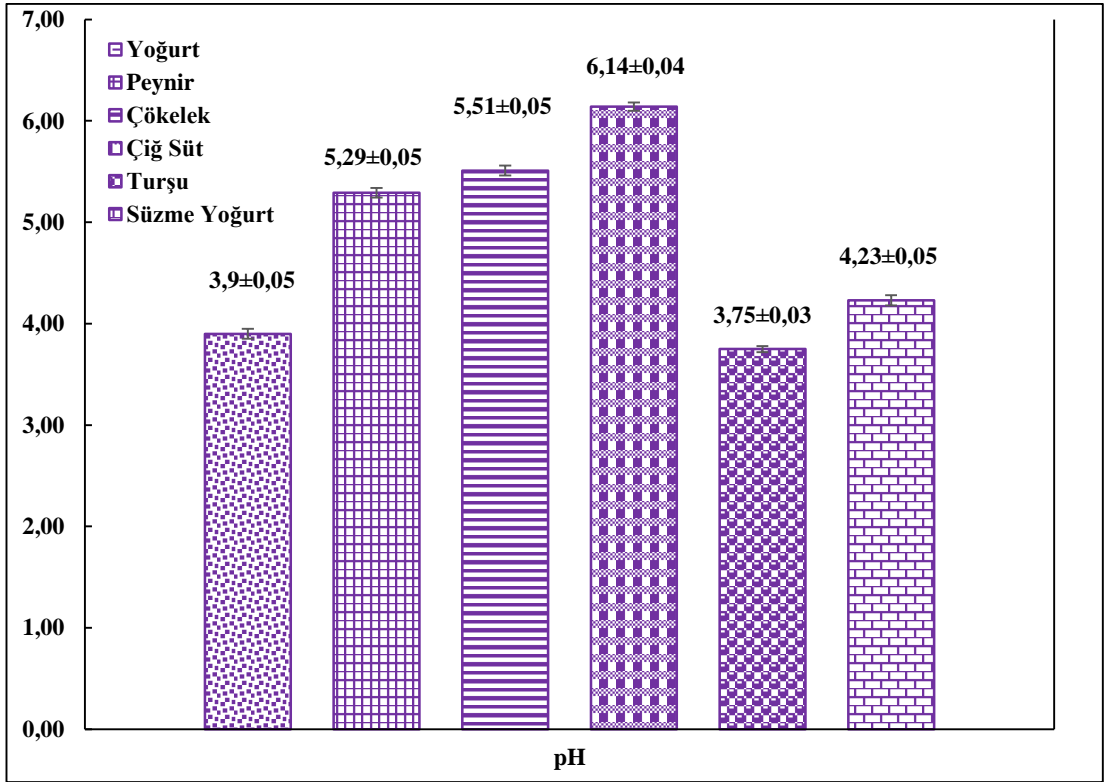
Tablo 4.2.(Devam)

| Örnek No | Peynir | | |
|--------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| | Asitlik (%) | pH | Toplam Kuru Madde (%) |
| X24 | 0,71±0,01 ^b | 4,76±0,09 ^c | 41,54±0,32 ^a |
| X25 | 0,86±0,07 ^{ab} | 4,89±0,08 ^c | 42,63±0,22 ^a |
| X30 | 0,94±0,06 ^a | 3,73±0,01 ^d | 24,81±0,31 ^c |
| X31 | 0,36±0,10 ^d | 5,15±0,02 ^b | 23,55±0,04 ^{cd} |
| X32 | 0,41±0,03 ^c | 5,53±0,05 ^b | 27,81±0,73 ^{bc} |
| X33 | 0,13±0,02 ^f | 6,65±0,09 ^a | 39,19±0,42 ^{ab} |
| X34 | 0,21±0,03 ^e | 6,32±0,03 ^a | 30,04±0,23 ^b |
| Ort. | 0,52±0,14 | 5,29±0,05 | 32,80±0,33 |
| Süzme Yoğurt | | | |
| X4 | 2,43±0,03 ^a | 3,72±0,02 ^b | 28,72±0,06 ^a |
| X19 | 1,32±0,06 ^b | 4,51±0,07 ^{ab} | 24,27±0,01 ^b |
| X20 | 0,63±0,01 ^c | 4,85±0,05 ^a | 22,16±0,01 ^{bc} |
| X21 | 2,12±0,05 ^a | 3,82±0,08 ^b | 20,22±0,03 ^c |
| Ort. | 1,63±0,04 | 4,23±0,05 | 23,84±0,02 |
| Çökelek | | | |
| X26 | 0,22±0,04 ^a | 5,88±0,07 ^a | 31,58±0,32 ^{bc} |
| X27 | 0,11±0,04 ^{bc} | 5,38±0,03 ^b | 21,59±0,42 ^c |
| X28 | 0,11±0,06 ^{bc} | 5,08±0,05 ^c | 33,37±0,17 ^a |
| X29 | 0,14±0,03 ^b | 5,71±0,04 ^{ab} | 30,58±0,41 ^{bc} |
| Ort. | 0,15±0,04 | 5,51±0,05 | 29,28±0,33 |
| Çiğ Süt | | | |
| X1 | 0,18±0,03 ^a | 5,56±0,07 ^b | 13,95±0,04 ^a |
| X2 | 0,16±0,01 ^b | 6,76±0,03 ^a | 13,32±0,02 ^c |
| X3 | 0,14±0,05 ^c | 6,11±0,04 ^{ab} | 13,69±0,03 ^b |
| Ort. | 0,16±0,04 | 6,14±0,04 | 13,65±0,03 |
| Turşu | | | |
| X35 | 0,82±0,01 ^c | 3,30±0,02 ^d | 6,25±0,12 ^c |
| X36 | 1,28±0,22 ^a | 3,47±0,02 ^c | 4,81±0,32 ^e |
| X37 | 1,02±0,10 ^b | 3,49±0,03 ^c | 7,51±0,21 ^b |
| X38 | 1,10±0,05 ^b | 4,17±0,05 ^b | 6,35±0,73 ^c |
| X39 | 0,78±0,03 ^d | 3,43±0,06 ^d | 11,16±0,42 ^a |
| X40 | 1,09±0,01 ^b | 4,61±0,02 ^a | 5,82±0,21 ^d |
| Ort. | 1,02±0,06 | 3,75±0,03 | 6,98±0,33 |

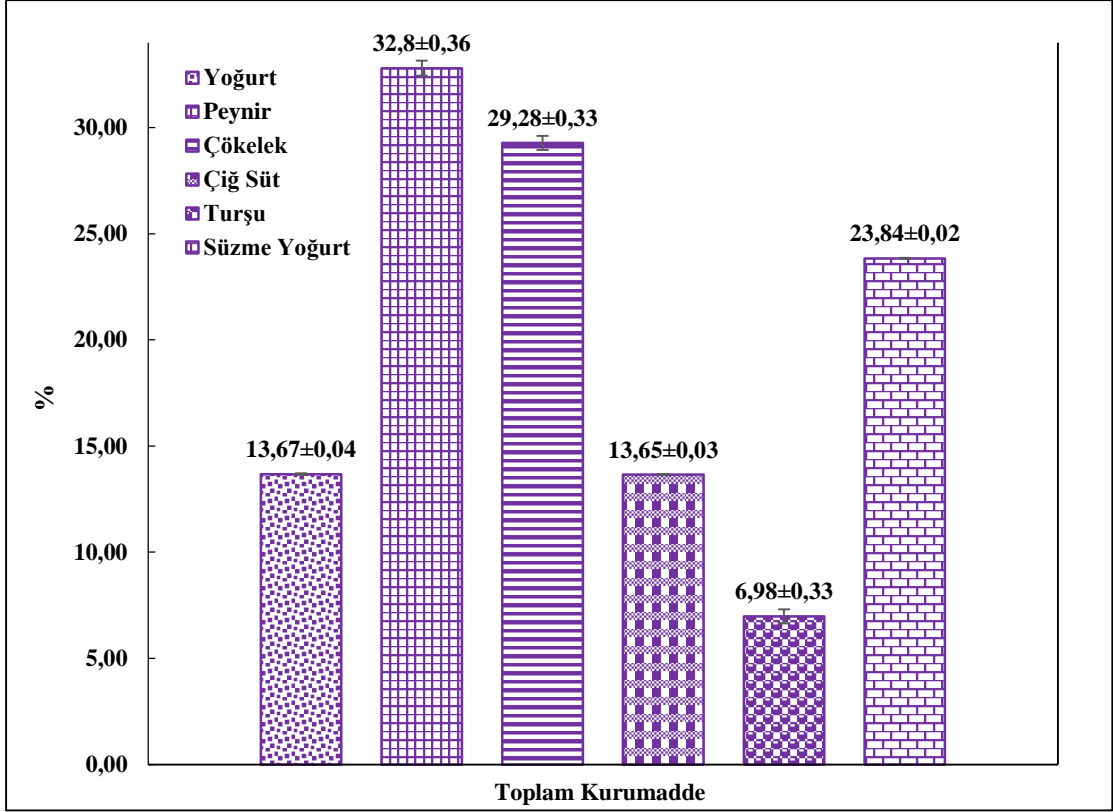
*Aynı sütunda farklı harfle (a-f) işaretli ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05).



Şekil 4.1. Gıda örneklerinin ortalama titrasyon asitlik değerleri



Şekil 4.2. Gıda örneklerinin ortalama pH değerleri



Şekil 4.3. Gıda örneklerinin ortalama kuru madde değerleri

Çalışmada ekzopolisakkarit üreticisi LAB izole etmek için kullanılan örneklerin mikrobiyota üzerine de etkili olan genel bileşimi hakkında bilgi sahibi olmak için gerçekleştirilen toplam titrasyon asitliği, pH ve kuru madde analizlerinde elde edilen değerler Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği (Anonim, 2009) referans değerleri ile karşılaştırılmıştır. TGK Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde (Anonim, 2009) yoğurdun titrasyon asitliği %0,6-1,5 (laktik asit cinsinden) olarak belirlenmiştir. Yoğurdun pH değeri ilgili olarak bir standart değer bulunmasa da genelde işletmelerde kazeinlerin izo-elektrik noktası, yani 4,6 pH değerine düşmesi inkübasyonun sonlandırılması için gerekli olan bir değer olarak ifade edilmektedir. Çalışmada kullanılan yoğurt örneklerinin titrasyon asitliği değeri (laktik asit cinsinden) %0,44-1,75, pH değeri de 3,64-4,85 pH arasında belirlenmiştir. Toplam 16 adet yoğurt örneğinden 1 adedi %0,6'ten küçük, 1 adedi %1,5'ten büyük değere sahiptir. Yoğurt örneklerinin 14 adedinin %0,6-1,5 arasında titrasyon asitliği değerine sahip olarak TGK Fermente Süt Ürünleri Tebliğine (Anonim, 2009) uygun olduğu saptanmıştır. Yoğurt örneklerinden bir örnek hariç diğer örneklerinin pH değeri 4,6'ya eşit veya düşük saptanmıştır. Analiz edilen yoğurtlardan X17 numaralı örnek istatistiki olarak tüm örneklerden farklı ($p<0,05$) ve en yüksek pH değerlerine sahip iken, titrasyon asitliği açısından X16 numaralı örnek diğerlerinden farklı ($p<0,05$) ve en

düşük değere sahiptir. Titrasyon asitliği açısından en yüksek asitlik değerine sahip X18 numaralı örnek istatistiki olarak tüm örneklerden farklı ($p<0,05$) iken, aynı örnek X7 ile birlikte en düşük pH değerine sahip ve diğerlerinden farklıdır ($p<0,05$). Çalışmada kullanılan süzme yoğurt örneklerinin titrasyon asitliği değeri (laktik asit cinsinden) %0,63-2,43, pH değeri 3,72-4,85 arasında tespit edilmiştir. Analiz edilen süzme yoğurtlarının X20 numaralı örnekleri istatistik olarak diğer örneklerden farklı ($p<0,05$) ve en düşük asitlik değerine sahip iken, aynı örnek en yüksek pH değerine sahiptir ve X19 dışındakilerden istatistiki olarak da farklıdır ($p<0,05$). Çalışmada kullanılan tüm yoğurt örneklerinde tespit edilen pH değerleri Bakırcı vd. (2015) ve Çetin vd. (2014) tarafından yapılan çalışmalar ile uyumluluk göstermektedir.

Yoğurt örneklerinin toplam kuru madde oranı %11,49-19,61 arasında tespit edilmişken süzme yoğurt örneklerinin toplam kuru madde içeriği %20,22-28,72 arasında belirlenmiştir. Yoğurt örneklerinin 5 adedinde kuru madde oranı %12'nin altında bulunmuştur. Yoğurt örneklerin kuru madde sonuçları Köse (2018), ve Ceylan ve Biberoglu (2013) tarafından yapılan çalışmaların sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Karahan (2016) tarafından Batman ili merkez köylerinden toplanan 20 adet yoğurt örneğinin ortalama sonuçları da 3,88 pH, %0,996 asitlik ve %13,70 kuru madde olup bizim elde ettiğimiz değerleri ile benzerlik göstermektedir.

Çalışma kapsamında kullanılan 7 adet peynir örneğinin titrasyon asitliği değerinin (laktik asit cinsinden) %0,13-0,94 arasında, pH değerinin 3,73-6,65 arasında, toplam kuru madde oranlarının da %23,55-42,63 arasında olduğu tespit edilmiştir. Peynir örneklerinden X30 numaralı örneğin en yüksek toplam asitlik değeri (%0,94) ile X25 hariç diğerlerinden farklı olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). X33 ve X34 numaralı örnekler de istatistik olarak birbirinden farksız ($p<0,05$), diğer tüm örneklerden farklı ($p<0,05$) ve en düşük titrasyon asitliği ve en yüksek pH değerlerine sahiptirler ($p<0,05$). X25 nolu örnek en yüksek kuru maddeye (%42,63) sahiptir ve X24 ile X33 örnekleri ile benzer içeriktedir ($p>0,05$). Örneklerin kimyasal sonuçlarının farklılık göstermesi, peynirlerin değişik şartlarda üretilmesi, farklı tuzlama ve olgunlaştırma işlemlerinin gerçekleştirilmesi ile farklı şartlarda ve sürelerde muhafaza edilmesine bağlanmıştır. Örneklerinin ortalama titrasyon asitliği ve ortalama pH değeri, Aydın ve Ardiç (2019) tarafından yapılan çalışmanın ortalama toplam asitlik (%0,38) ve pH (5,66 pH) değerleri ile benzerlik gösterirken, kuru madde değeri aynı çalışmanın ortalama kuru madde değerinden (55,44) oldukça düşüktür. Erdem (2016) tarafından yapılan

çalışmada belirlenen ortalama asitlik değeri (%1,80), pH değeri (5,10 pH) ve kuru madde değeri (%54,94) çalışmamızda elde edilen sonuçlardan daha yüksektir.

Süt, yoğurt ve yayık ayranından olmak üzere farklı hammaddelerden üretilen geleneksel bir peynir çeşidimiz olan çökelek beyaz peynirden ayrı olarak ele alınmıştır. Çalışmada kullanılan çökelek örneklerinin toplam asitlik değeri (laktik asit cinsinden) %0,11-0,22 arasında ve ortalama %0,15, pH değeri 5,08-5,88 arasında ve ortalama 5,51, toplam kuru madde oranı da %21,59-33,37 arasında ve %29,28 olarak tespit edilmiştir. Keleş vd. (2004) tarafından Hatay yöresinde taze olarak tüketime sunulan 50 adet çökelek örneğinde saptanan ortalama toplam asitlik (%0,78) ve kuru madde değeri (%48,80), Samsun yöresi çökeklerinde belirlenen ortalama değerlerden daha yüksek iken pH değeri (4,55 pH) daha düşük olarak tespit edilmiştir. Celem vd (2018) tarafından belirlenen ortalama titrasyon asitliği (%0,6) değeride samsun örneklerinden yüksek iken kuru madde (%30,12) ve pH değerleri (4,6 pH) daha düşük bulunmuştur. Görülen bu farklılıklar üretim tekniği, kullanılan hammaddeler, muhafaza ve satış koşullarındaki farklılıklara bağlanmaktadır.

Çalışmada kullanılan çiğ süt örneklerinin toplam asitlik değeri ortalama %0,16 olarak (laktik asit cinsinden), pH değeri 6,14, toplam kuru madde içeriği de %13,65 olarak belirlenmiştir. Türk Gıda Kodeksi Çiğ Sütün Arzına Dair Tebliği'nde (Anonim, 2017); toplam asitlik değeri %0,135-0,200 (laktik asit cinsinden) arasında, yağsız kuru madde değeri en az %8,5 ve süt yağı oranı da %3,4 olarak belirlenmiştir. Süt örneklerin analiz sonuçları ortalama değerlerinin TGK Çiğ Sütün Arzına Dair Tebliği (Anonim, 2017) kapsamında değerlendirilmesinde: Örneklerin toplam asitliğinin bu sınırların içerisinde; kuru madde değerinin de üstünde olduğu saptanmıştır. Her ikisi de iyi özellikler olarak kabul edilebilir. Ancak toplam asitlik değerinin kodeks değerlerinin çok altında olması süte soda veya hidrojen peroksit gibi koruyucu maddelerin katıldığına da işaret edebilir. Yeni sağılmış inek sütünün pH değerinin de 6,6-6,8 arasında olduğu bildirilmektedir (Üçüncü, 2005). Sütün pH değerinin 6,8'in üzerinde olmasının mastitis hastalığının ya da süte nötralize edici madde ilavesinin göstergesi olabileceği kabul edilmektedir (Kesenkaş ve Akbulut, 2010; Güngör vd., 2020). Çalışmada örneklerin pH değerinin bir örnekte daha düşük bir örnekte daha yüksek, bir örnekte sınır değer içerisinde olduğunun saptanması pazarda satılan sütlerin hijyenik kalitesi hakkında şüpheler oluşturmaktadır. Oysa temel bilgilere benzer şekilde Akın vd. (2016) tarafından Adıyaman ilinde mevsimsel olarak toplanan çiğ

sütlerin titrasyon asitliği değerinin %0,182-0,220, pH değerinin 6,41-6,56, kuru madde değerinin de %10,05-11,53 arasında değiştiği; Güngör vd. (2020) tarafından da Mardin’de satılan çiğ sütlerin toplam asitlik değerinin ortalama %0,191, pH değerinin 6,56, kuru madde değerinin de %12,46 olduğu bildirilmiştir.

Çalışma kapsamında izolasyon kaynağı olarak kullanılan turşu örneklerinin ortalama titrasyon asitliği %1,02 (laktik asit cinsinden), pH değeri 3,75, toplam kuru madde içeriği de %6,98 olarak tespit edilmiştir. Yapılan benzer bir çalışmada Aljahani (2020) Suudi Arabistan Riyad ilinin 8 farklı bölgesinden toplanan sebze turşularının titrasyon asitliğinin %0,14-1,53 (laktik asit cinsinden), pH değerinin 2,77-3,37 arasında olduğunu bildirmiştir. Coşkun ve Arıcı (2005) tarafından da biber turşuların ortalama titrasyon asitliğinin %0,90 (laktik asit cinsinden), pH değerinin 4,03 olarak tespit edildiği bildirilmiştir. Çalışmada kullanılan turşu örneklerinin ortalama titrasyon asitliği değeri hem Aljahani (2020) hem de Coşkun ve Arıcı (2005) tarafından saptananlarla benzer iken, pH değeri Coşkun ve Arıcı (2005) tarafından bildirilen ile benzer, ancak Aljahani (2020) tarafından bildirilenden oldukça yüksektir.

4.2. Gıda Örneklerinin Mikrobiyolojik İçeriği

Çalışmada kullanılan gıda örneklerin mikrobiyolojik analiz sonuçları da belirlenmiş ve örnek tipine göre gruplandırılarak Tablo 4.2’de sonuçlar verilmiş ve hesaplanan ortalama değerler de Şekil 4.4’de görsel olarak sunulmuştur.

Tablo 4.3. Gıda örneklerinin mikrobiyal içerikleri

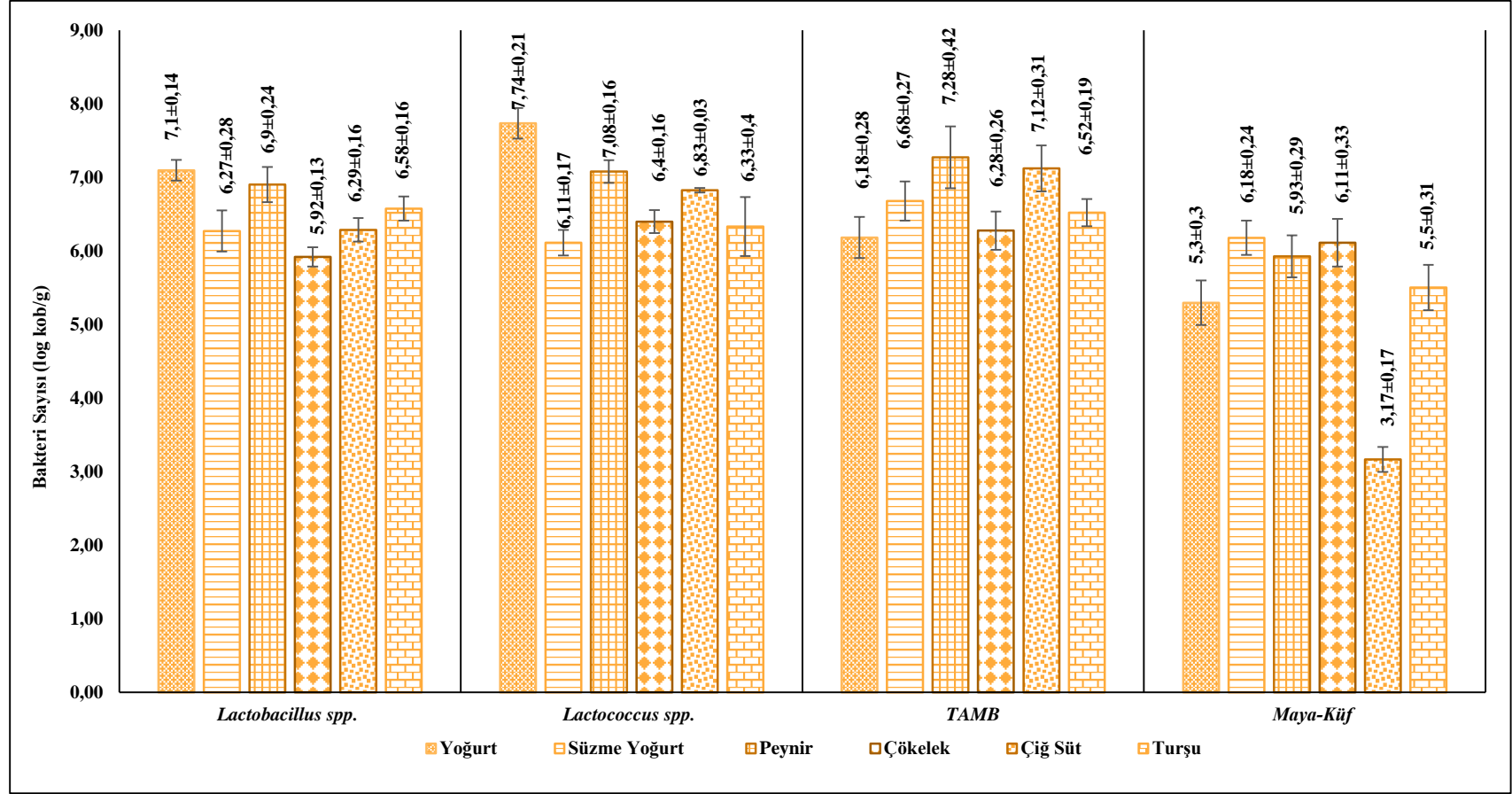
| Örnek No | Mikroorganizma Sayısı (log kob/g) | | | |
|---------------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | <i>Lactobacillus</i> spp. | <i>Lactococcus</i> spp. | TAMB | Maya-Küf |
| Yoğurt | | | | |
| X5 | 6,53±0,06 ^d | 6,77±0,49 ^g | 4,27±0,40 ^f | 4,63±0,04 ^{fgh} |
| X6 | 5,37±0,44 ^e | 7,45±0,19 ^{ef} | 5,99±0,31 ^{cd} | 5,50±1,09 ^{cdef} |
| X7 | 5,56±0,34 ^e | 6,45±0,07 ^g | 6,43±0,24 ^{bcd} | 4,01±0,09 ^h |
| X8 | 7,57±0,41 ^c | 8,38±0,09 ^{cd} | 6,67±0,43 ^{bc} | 5,29±0,05 ^{defg} |
| X9 | 6,54±0,24 ^d | 6,60±0,08 ^g | 6,48±0,01 ^{bcd} | 6,54±0,24 ^{ab} |
| X10 | 6,56±0,09 ^d | 7,91±0,19 ^{de} | 7,01±0,07 ^{bc} | 6,22±0,25 ^{bc} |
| X11 | 6,52±0,08 ^d | 4,58±0,08 ^h | 4,46±0,04 ^{ef} | 4,50±0,14 ^{gh} |
| X12 | 6,78±0,03 ^d | 7,02±0,08 ^{fg} | 6,59±0,24 ^{bc} | 6,18±0,1 ^{bcd} |
| X13 | 8,19±0,03 ^b | 9,15±0,04 ^{ab} | 7,31±0,09 ^{ab} | 7,29±0,03 ^a |
| X14 | 8,63±0,19 ^b | 9,57±0,05 ^a | 6,17±0,96 ^{cd} | 5,95±0,69 ^{bcd} |
| X15 | 8,31±0,07 ^b | 8,56±0,09 ^{bcd} | 5,95±0,58 ^{cd} | 6,02±0,45 ^{bcd} |
| X16 | 7,66±0,05 ^c | 8,99±0,09 ^{abc} | 6,93±0,23 ^{bc} | 6,74±0,45 ^{ab} |
| X17 | 9,24±0,04 ^a | 8,89±0,27 ^{bc} | 4,83±0,05 ^{ef} | 3,84±0,35 ^h |
| X18 | 6,87±0,34 ^d | 7,58±0,25 ^{ef} | 8,16±0,51 ^a | 5,95±0,69 ^{ab} |
| X22 | 8,36±0,10 ^b | 8,83±0,05 ^{bc} | 5,43±0,05 ^{de} | 3,84±0,35 ^{efg} |
| X23 | 4,86±0,14 ^f | 7,06±0,61 ^{fg} | 6,25±0,15 ^{bcd} | 2,24±0,34 ⁱ |
| Ort. | 7,1±0,14 | 7,74±0,21 | 6,18±0,28 | 5,30±0,3 |
| Peynir | | | | |
| X24 | 7,41±0,15 ^a | 7,05±0,04 ^b | 8,19±0,23 ^a | 5,83±0,48 ^{cd} |
| X25 | 7,62±0,04 ^a | 7,82±0,12 ^a | 8,05±0,21 ^a | 5,59±0,12 ^d |
| X30 | 5,88±0,28 ^c | 6,48±0,03 ^c | 5,51±0,37 ^c | 5,60±0,11 ^d |
| X31 | 6,43±0,05 ^{bc} | 6,66±0,36 ^c | 7,16±0,66 ^{ab} | 7,64±0,01 ^a |
| X32 | 7,36±0,49 ^a | 7,73±0,04 ^a | 7,80±0,17 ^a | 6,69±0,15 ^b |
| X33 | 7,32±0,18 ^a | 7,48±0,14 ^a | 7,52±0,76 ^{ab} | 2,95±0,49 ^e |
| X34 | 6,50±0,24 ^b | 6,45±0,08 ^c | 6,62±0,09 ^b | 6,43±0,49 ^{bc} |
| Ort. | 6,90±0,24 | 7,08±0,16 | 7,28±0,42 | 5,93±0,29 |
| Süzme Yoğurt | | | | |
| X4 | 7,06±0,24 ^a | 5,77±0,02 ^b | 7,8±0,39 ^a | 6,48±0,01 ^a |
| X19 | 5,38±0,17 ^d | 5,35±0,01 ^b | 6,24±0,01 ^{bc} | 6,74±0,45 ^b |
| X20 | 5,92±0,48 ^{bc} | 6,46±0,37 ^a | 5,67±0,25 ^c | 5,48±0,03 ^c |
| X21 | 6,73±0,23 ^{ab} | 6,87±0,29 ^a | 7,01±0,42 ^{ab} | 6,02±0,45 ^{ab} |
| Ort. | 6,27±0,28 | 6,11±0,17 | 6,68±0,27 | 6,18±0,24 |
| Çiğ Süt | | | | |
| X1 | 6,25±0,10 ^b | 6,91±0,04 ^a | 7,16±0,37 ^{ab} | 2,80±0,15 ^b |
| X2 | 4,84±0,04 ^c | 6,61±0,02 ^b | 6,58±0,39 ^b | 3,23±0,12 ^{ab} |
| X3 | 7,77±0,34 ^a | 6,96±0,03 ^a | 7,63±0,18 ^a | 3,47±0,24 ^a |
| Ort. | 6,29±0,16 | 6,83±0,03 | 7,12±0,31 | 3,17±0,17 |

*Aynı sütunda farklı harfle (a-i) işaretli ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05)

Tablo 4.4. (Devam)

| Örnek No | Mikroorganizma Sayısı (log kob/g) | | | |
|-------------|-----------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | <i>Lactobacillus</i> spp. | <i>Lactococcus</i> spp. | TAMB | Maya-Küf |
| | Çökelek | | | |
| X26 | 6,74±0,02 ^a | 6,86±0,04 ^a | 7,59±0,17 ^a | 7,10±0,43 ^a |
| X27 | 5,28±0,32 ^c | 6,96±0,14 ^a | 5,68±0,35 ^b | 5,50±0,01 ^b |
| X28 | 5,00±0,16 ^c | 5,15±0,35 ^b | 4,83±0,32 ^c | 4,85±0,29 ^{bc} |
| X29 | 6,66±0,03 ^b | 6,69±0,10 ^a | 7,01±0,20 ^a | 7,00±0,57 ^a |
| Ort. | 5,92±0,13 | 6,40±0,16 | 6,28±0,26 | 6,11±0,33 |
| | Turşu | | | |
| X35 | 5,51±0,07 ^d | 4,72±0,03 ^d | 7,18±0,16 ^b | 7,10±0,19 ^b |
| X36 | 5,87±0,12 ^{cd} | 6,85±0,07 ^{ab} | 6,02±0,63 ^c | 3,15±0,37 ^d |
| X37 | 6,87±0,34 ^b | 6,41±0,66 ^b | 6,13±0,03 ^c | 3,35±0,24 ^d |
| X38 | 6,24±0,05 ^c | 6,03±0,46 ^{bc} | 9,91±0,14 ^a | 8,96±0,32 ^a |
| X39 | 5,62±0,07 ^d | 5,22±0,10 ^{cd} | 5,33±0,44 ^{cd} | 4,03±0,07 ^{cd} |
| X40 | 7,58±0,19 ^a | 7,67±0,39 ^a | 4,71±0,13 ^d | 5,67±0,60 ^{bc} |
| Ort. | 6,58±0,16 | 6,33±0,4 | 6,52±0,19 | 5,50±0,31 |

*Aynı sütunda farklı harfle (a-i) işaretli ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05)



Şekil 4.4. Gıda örneklerinin mikrobiyal içerikleri

Yoğurt; oluşumunda esas olan laktik asit fermantasyonu ile tat ve aroma gelişiminde önem taşıyan laktik asit bakterilerini içermesi dolayısıyla yüksek sayıda canlı mikroorganizma bulunduran fermente bir süt ürünüdür. Bu nedenle çalışmada önemli izolasyon kaynaklarından birisi olmuş ve temel mikrobiyolojik özellikleri belirlenerek elde edilen mikrobiyolojik analiz sonuçları Tablo 4.2’de verilmiştir. Yoğurt örneklerin *Lactobacillus* spp. sayısı 4,86-9,24 log kob/g arasında ve ortalama 7,10 log kob/g; *Lactococcus* spp. sayısı 4,58-9,57 log kob/g arasında ve ortalama 7,74 log kob/g; TAMB sayısı da 4,27-8,16 log kob/g arasında ve ortalama 6,18 log kob/g olarak belirlenmiştir. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği’nde yoğurdun toplam spesifik mikroorganizma sayısının en az $1,0 \times 10^7$ kob/g, toplam canlı mikroorganizma sayısının da en az $1,0 \times 10^6$ log kob/g olması gerektiğini bildirmektedir.

Analiz edilen yoğurt örneklerinin spesifik mikroorganizma sayısının 3 tanesinde, TAMB sayısının da 7 tanesinde belirtilen sayının altında olduğu belirlenmiştir. Örneklerin ortalama sayıları ise fermente süt ürünleri tebliğinde belirlenen limitin üzerindedir. Ayrıca yoğurt örneklerinde belirlenen *Lactobacillus* spp. ve *Lactococcus* spp. sayılarının aralığı, Karakuş (2013) tarafından yapılan çalışmada elde edilen aralıktan (*Lactococcus* spp. 5,3-8,6 log kob/g, *Lactobacillus* spp. 5,8-8,7 log kob/g) daha yüksek tespit edilmiştir. Öte yanında Donkor et al. (2006) tarafından yapılan çalışmadaki sayılardan da (*Lactococcus* spp. 8,39-8,47 log kob/g, *Lactobacillus* spp. 8,32-8,55 log kob/g) daha yüksek sayıya sahip örnek/örnekler tespit edilmiştir.

TGK Fermente Süt Ürünleri Tebliği’nde (Anonim, 2009) yoğurdun mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi açısından koliform bakteri sayısı ile maya-küf sayısı önemli bir kriter olarak alınmaktadır. Analiz edilen 5 örnekten en fazla 2 tanesinde maya ve küf sayısının 10^2 - 10^3 kob/g bulunmaması gerektiği bildirilmiştir. Maya ve küf gelişimi düşük pH’ya sahip yoğurtta bozulma açısından önem taşımaktadır. Temel kalite kriterlerinden olan maya-küf sayısı yoğurt örneklerinde 2,24-7,29 log kob/g ve ortalama 5,30 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Bu içerik ile yoğurt örneklerinin 14 adedi maya-küf sayısı açısından tebliğde yer alan sınır değerden (10^2 - 10^3 kob/g) daha yüksek içeriğe sahiptir. Analiz edilen yoğurt örneklerinde yüksek sayıda maya-küf bulunması üretim sırasında hijyenik koşullara

gereken hassasiyetin gösterilmediğini ve üretimden sonra muhafazada da uygun sıcaklık kriterlerine uyulmadığını göstermektedir. Yoğurt örneklerinde belirlenen maya ve küf sayısı, Tavşanlı ve Gökmen (2020) tarafından yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar (2-5,47 log kob/g) ile Durak vd. (2008) tarafından yapılan çalışmanın ortalama sonucundan (5,48 log kob/g) daha yüksektir.

Süt ürünleri içerisinde önemli yer tutan peynire üretim sırasında çok farklı kaynaklardan mikroorganizma bulaşları oluşabilmektedir. Bu mikroorganizmalar peynirde bulunan karbonhidrat, yağ ve protein gibi besin öğelerini kendilerine özgü metabolik yolları kullanarak metabolize etmekte böylece tat ve aroma gelişimini sağlamakta veya acılaşıma, kokuşma ve ekşime gibi bozulmalar meydana getirmektedirler. Ayrıca, bulaşabilecek patojen karakterli mikroorganizmalar da peynirin tüketilmesiyle insan sağlığını tehdit edici etkilere sebep olabilmektedirler (Şimşek ve Arıcı, 1994). Bununla birlikte peynir üretiminde starter olarak kullanılan LAB; sütte bulunan protein, laktoz ve yağı kullanarak meydana getirdiği metabolitler ile peynirin tat, koku ve yapısında belirleyici rol oynamakta; gerek starter olarak katılan gerekse de sütün doğal mikroflorasından gelen LAB peynirin kalitesini belirleyen önemli bir unsur olmaktadır. Peynirlerin kendine özgü koku, tat ve yapı kazanmasını sağlayan LAB sayıları saptanmış ve ortalama *Lactobacillus* spp. sayısı 6,9 log kob/g, *Lactococcus* spp. sayısı 7,08 log kob/g olarak belirlenmiştir. Elde edilen ortalama LAB sayıları TGK Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde (Anonim, 2009) belirtilen değer ile uyumludur. Yine, Aydın ve Ardıç (2019) tarafından belirlenen ortalama *Lactobacillus* spp. sayısına (6,90 log kob/g) benzer ve ancak Yalçın (2016a) tarafından belirlenen ortalama LAB sayısından da (6,27 log kob/g) yüksektir.

Peynirlere çeşitli yollar ile bulaşabileceğini bildirdiğimiz TAMB sayısının özellikle çiğ süttten geleneksel yollarla üretilen peynirlerde yüksek olması beklenmektedir. Bu çalışmada temin edilen toplam 7 adet peynir örneğinin ortalama TAMB sayısı 7,28 log kob/g olarak belirlenmiştir. Elde edilen ortalama TAMB sayısı, Yetişmeyen (2005) tarafından yapılan çalışmanın ortalama TAMB sayısı değerinden daha yüksek iken; Yalçın (2016a), Aydın ve Ardıç. (2019) tarafından bildirilen ortalama TAMB sayıları ile benzerlik göstermektedir. Peynirlerde TAMB sayısı için

bir sınırlama olmamasına rağmen elde edilen bu değerlerin yüksek olduğu ve içinde patojen mikroorganizmaların da bulunabileceği unutulmamalıdır.

Peynirlerde maya ve küflerin bulunması bir kalite kriteri olarak dikkate alınabilir ve hijyen standardı ile sanitasyon kriterlerinin yetersiz uygulanmasının bir göstergesi kabul edilebilir. Maya ve küfler düşük su aktivitesi, yüksek tuz konsantrasyonu, düşük pH ve düşük sıcaklıklarda gelişebilme yetenekleri ile zengin bir enzim aktivitesine sahip olmaları nedeniyle geleneksel yolla üretilen ürünlerde daha hızlı bir şekilde bozulmalara neden olabilmektedirler (Jakobsen and Narvhus, 1996). Bu özellikleri aynı zamanda çok farklı kaynaklardan buluşabilmelerine de vesile olmaktadır. Çalışmada kullanılan peynir örneklerinin ortalama maya-küf sayısı 5,93 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Elde edilen ortalama maya-küf sayısı; Demir ve Öksüztepe (2018) tarafından yapılan çalışmanın ortalama değerinden yüksek iken, Pyz-Lukasik et al. (2018) ve Öner ve Sarıdağ (2019) tarafından yapılan çalışma sonuçlarıyla benzerdir.

Bir tür peynir olan çökelek örneklerinin mikrobiyolojik analizleri sonucunda da; ortalama TAMB sayısı 6,28 log kob/g, *Lactobacillus* spp. bakteri sayısı 5,92 log kob/g, *Lactococcus* spp. bakteri sayısı 6,4 log kob/g ve maya-küf sayısı 6,11 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Elde edilen değerler TGK Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde (Anonim, 2009) belirtilen değerler kapsamında değerlendirildiğinde TAMB sayısı ve *Lactobacillus* spp. sayısının belirtilen değer ile uyumlu olduğu; *Lactococcus* spp. sayısının ise yüksek olduğu belirlenmiştir. Yine tebliğ değerlerinden maya-küf sayısının daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Çökelek örneklerinden elde edilen ortalama değerler; Şimşek ve Sağdıç (2006) tarafından çökelek peynirinde saptanan ortalama TAMB, *Lactococcus* spp. ve maya-küf sayısı değerlerinden yüksek; *Lactobacillus* spp. bakteri sayısı değerleri ile ise benzer bulunmuştur. Çalışmadan elde edilen tüm mikrobiyolojik analiz değerleri, Önganer ve Kırbağ (2009) tarafından Diyarbakır'da toplanan çökelek peynirlerin mikrobiyolojik kalitesini inceleyen çalışmasının ortalama değerlerden daha düşük olduğu gözlenmektedir.

Süt hem besin öğeleri içeriği hem su aktivitesi hem de uygun pH değeri nedeni ile mikrobiyal gelişme için çok uygun bir ortamdır. Sağım ve muhafaza sırasında da önemli bulaşılara uğrayabilmektedir. Nitekim çalışmada izolasyon kaynağı olarak

kullanılan çiğ sütün mikrobiyolojik analizleri sonucunda da önemli sayıda TAMB, LAB ve maya-küf içerdiği saptanmıştır. Örneklerin ortalama TAMB sayısı 7,12 log kob/g, *Lactobacillus* spp. sayısı 6,29 log kob/g, *Lactococcus* spp. sayısı 6,83 log kob/g ve maya-küf sayısı 3,17 log kob/g olarak saptanmıştır. Çiğ Sütün Arzına dair Tebliğ'de (2017) çiğ inek sütlerinde TAMB sayısının 30°C'de 5,00 log kob/g'ı aşmaması gerektiği bildirilmiştir. Çiğ süt örneklerinin tümünde elde edilen TAMB sayılarının tebliğde belirtilen değere uygun olmadığı gözlenmiştir. Bununla birlikte saptanan bu değerler, Çelik vd. (2019) tarafından saptanan TAMB sayısından (7,83 log kob/g) biraz daha düşüktür.

Çiğ sütün; Güngör vd. (2020) tarafından bildirilen ortalama TAMB sayısından (6,62 log kob/g) daha yüksek, ortalama maya-küf (4,87 log kob/g) sayıdan daha düşük mikrobiyal içeriğe sahip olduğu saptanmıştır. Çiğ süt örneklerinde elde edilen ortalama *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., maya-küf sayıları karşılaştırıldığında, Çelik vd. (2019) tarafından belirlenen ortalama *Lactobacillus* spp. sayısına (6,23 log kob/g) benzer; *Lactococcus* spp. (7,95 log kob/g) ve maya küf (4,27 log kob/g) sayılarından dan ise daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmada kullanılan turşu örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda ürünlerin ortalama TAMB sayısı 6,52 log kob/g, *Lactobacillus* spp. sayısı 6,58 log kob/g, *Lactococcus* spp. sayısı 6,33 log kob/g, maya-küf sayısı 5,5 log kob/g elde edilen ortalama değerler; Odabaş ve Metin (2020) tarafından Trabzon ilinden toplanan 4 adet turşu örneğinde elde edilen LAB, TAMB ve maya küf sayılarından (sırasıyla ort. 3,94 log kob/g, 4,02 log kob/g ve 3,98 log kob/g) daha yüksek tespit edilmiştir. Ayrıca elde edilen *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., TAMB ve maya-küf bakteri sayıları; Karasu (2006) tarafından yapılan benzer çalışmanın *Lactobacillus* spp. ve *Lactococcus* spp. (3,00-7,80 log kob/g) ve TAMB (3,00-8,28 log kob/g) sayılarından yüksek tespit edilmişken; maya-küf (3,00-7,80 log kob/g) daha düşük sayıda tespit edilmiştir. Çetin (2011) tarafından starter kültür olarak bir *Lb. plantarum* suşu kullanılarak turşu üretilmiş ve üretilen bu turşunun ortalama laktik asit bakteri sayısı (7,92 log kob/g) ve maya küf sayısı (3,68 log kob/g) olarak tespit edilmiştir bildirmiştir. Bu çalışmadaki laktik asit bakteri sayıları; çalışmamızdaki ortalama LAB sayısından yüksek, maya küf sayısından ise daha düşüktür.

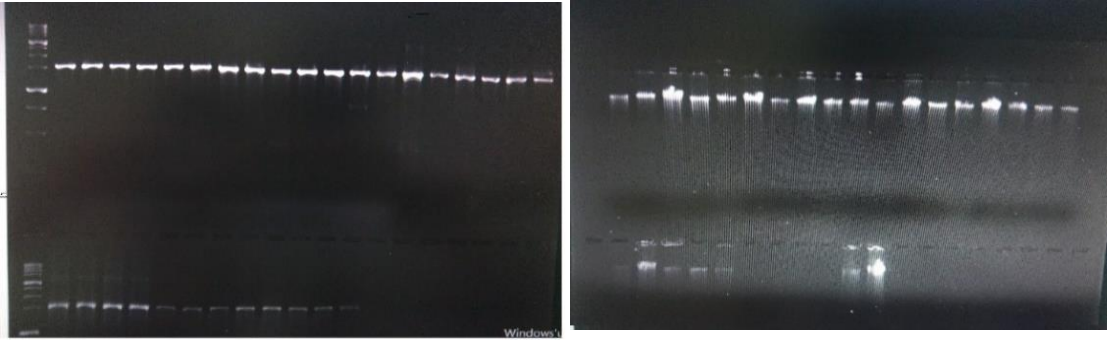
4.3. EPS Üreticisi Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Tanımlanması

Tez çalışma kapsamında Samsun ili sınırları içerisinde farklı zamanlarda ve farklı yerlerden temin edilen toplam 40 fermente gıda örneğinden (Tablo 3.1) MRS, MRS-5 ve M17 agar besiyerleri kullanılarak laktik asit bakterilerinin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. MRS ve MRS-5 agar *Lactobacillus* spp., M17 agar da *Lactococcus* spp. ve *Streptococcus* spp. izolasyonu şansını artırabilmek amacıyla kullanılmıştır. Her bir fermente gıda örneğinden üç farklı besiyerine ekimler yapılmış ve farklı morfolojiye sahip toplam 616 adet koloni seçilerek izole edilmiştir. Seçilen tüm izolatlara Gram boyama ve katalaz testi uygulanıp Gram (+), katalaz (-) olarak saptanan toplam 520 adet muhtemel LAB izolatu EPS üretiminin test edilmesi amacıyla kullanılmak üzere -20°C'de saklanmıştır.

Çalışmada kullanılmak üzere seçilen ve -20°C'de saklanan 520 adet muhtemel LAB izolatu MRS-Sukroz sıvı besiyerinde aktiveleştirildikten sonra MRS-sukroz katı besiyerine ekilmiş, yapışkan ve 5 mm veya daha fazla uzama özelliği gösteren 84 adet koloniyi oluşturan izolatlara potansiyel EPS üreticileri olarak seçilmiştir. Bakterilerde EPS üretim özelliklerinin belirlenmesinde koloni uzama özelliği araştırılması pratik uygulamalardan birisi (Ruas-Madiedo and De Los Reyes-Gavilán, 2005) olmakla birlikte bazı izolatlara uzama özelliği gösterse de EPS üretici olmayabilmektedir. Bu nedenle yapılan testi doğrulamak amacıyla 84 potansiyel EPS üreticisi izolattan farklı özelliklere sahip olan (yüksek uzama özelliği, gelişmiş olduğu besiyeri, koloni morfolojisi, kaynak gıda, örneğin alındığı yer) 41 adedi 100 mL'lik MRS-Sukroz sıvı besiyerinde çoğaltılarak EPS üretimleri test edilmiş ve üretilen EPS'ler izole edilmiştir. 100 mL'lik kültürde EPS üretimi en yüksek/verimli olan ve farklı özelliklere sahip olan (gelişmiş olduğu besiyeri, koloni morfolojisi, hücre morfolojisi, kaynak gıda ve örneğin alındığı yer) izolatlardan 10 adedi çalışmanın devamında kullanılmak için EPS üreticisi izolat olarak seçilmiştir.

EPS üreticisi olarak seçilen 10 adet LAB izolatının 16S rDNA dizi analizi ile tanımlanması için öncelikle genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. Takiben elde edilen genomik DNA'ların 16S rDNA kodlayan bölgesinin PZR amplifikasyon ürünleri elde edilmiş ve PZR pürifikasyon kiti ile saflaştırılarak dizi analizinde

kullanılmıştır. Seçilen izolatların genomik DNA ve PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jelde elde edilen bant görüntüleri Şekil 4.5’de sunulmuştur.



Genomik DNA

16S rDNA Bölgesi

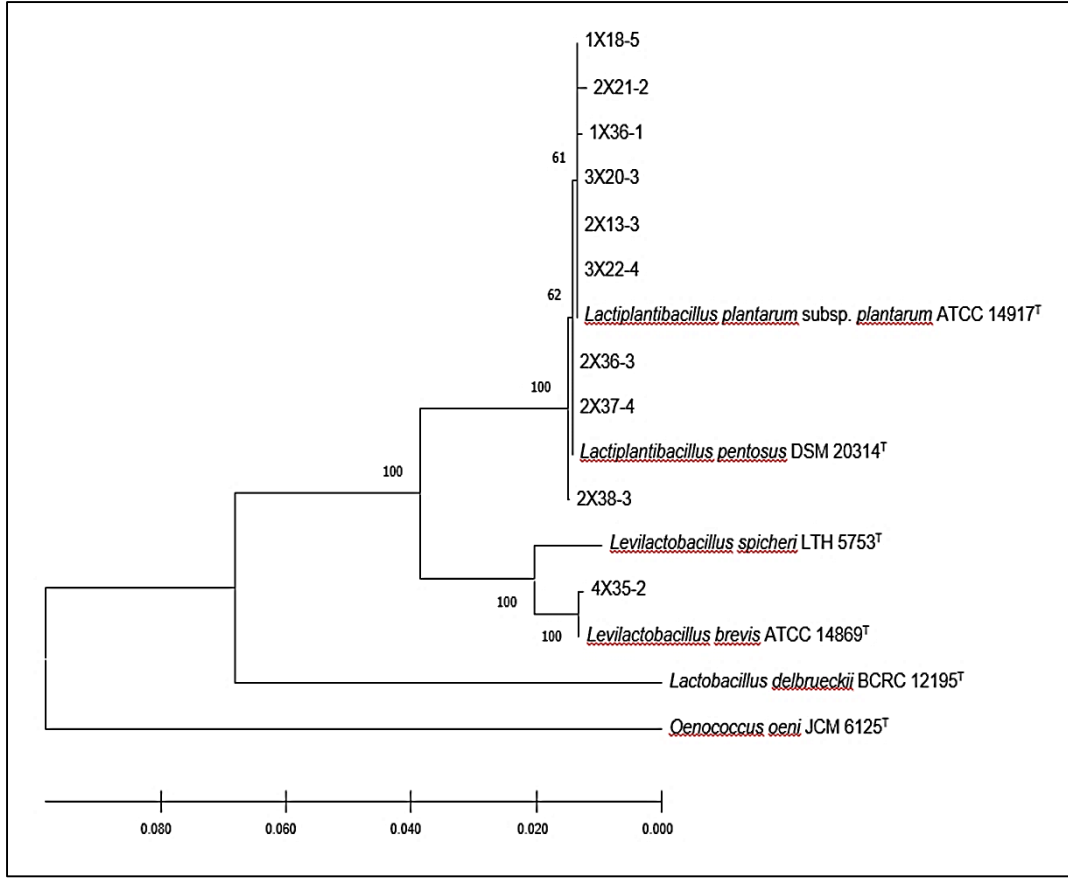
Şekil 4.5. Seçilmiş LAB izolatlarının genomik DNA ve 16S rDNA bölgesinin PZR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel bant görüntüleri

LAB izolatlarının 16S rDNA gen bölgesinin dizi analizi hizmet alım (Macrogen Ltd.Şti.Hollanda) ile yaptırılmıştır. Dizi analizi sonuçlarının ABI formatındaki kromatogram dosyaları birleştirilmiş ve en yakın akraba organizmalarla olan 16S rDNA gen bölgesi nükleotit benzerliği belirlenmiştir. Elde edilen en yakın akraba suş, benzerlik oranı ve nükleotit farkı Tablo 4.3’de verilmiş

Tablo 4.5. EPS üreticisi LAB izolatlarının 16S rDNA dizi analiz sonuçları

| İzolat Kodu | En Yakın Tip Türü | % Benzerlik | Nükleotit Farkı |
|-------------|---|-------------|-----------------|
| 2X13-3 | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> ATCC 14917 | 100,00 | 0/1400 |
| 1X18-5 | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> ATCC 14917 | 100,00 | 0/1407 |
| 3X20-3 | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> ATCC 14917 | 100,00 | 0/1437 |
| 2X21-2 | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> ATCC 14917 | 99,79 | 3/1399 |
| 3X22-4 | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> ATCC 14917 | 99,44 | 8/1420 |
| 4X35-2 | <i>Levilactobacillus brevis</i> ATCC 14869 | 99,93 | 1/1399 |
| 1X36-1 | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> ATCC 14917 | 99,37 | 9/1421 |
| 2X36-3 | <i>Lactiplantibacillus pentosus</i> DSM 20314 | 100,00 | 0/1429 |
| 2X37-4 | <i>Lactiplantibacillus pentosus</i> DSM 20314 | 100,00 | 0/1398 |
| 2X38-3 | <i>Lactiplantibacillus pentosus</i> DSM 20314 | 99,86 | 2/1414 |

Laktik asit bakterilerinin yeni taksonomisinde *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* türü, *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* olarak, *Lactobacillus brevis* türü *Levilactobacillus brevis* olarak, *Lactobacillus pentosus* türü de *Lactiplantibacillus pentosus* olarak isimlendirilmektedir (Anonymous., 2021). LAB izolatların gen bölgelerine göre filogenetik ağaç yerleşimi Şekil 4.6’da sunulmuştur.



Şekil 4.6. LAB izolatlarının filogenetik ağacı (Saitou and Nei, 1987; Felsenstein, 1985; Jukes and Cantor, 1969; Kumar et al., 2018)

Tanımlama testleri sonucu EPS üreticisi 10 adet izolatın 6 adedi *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*, 3 adedi *Lactobacillus pentosus*, 1 adedi *Lactobacillus brevis* olarak tanımlanmıştır. İzolatlar en az %99,50 benzerlikle tanımlanmıştır. Bu türler tez çalışmasında kullanılan fermente gıdaların fermantasyon mikroflorası için yapılan literatürdeki diğer çalışmalar ile uyumludur. Özlü ve Atasever (2019) Erzurum ilinde toplanan peynir örneklerden izole edilen toplam 184 LAB izolatının 16S rDNA dizi analizi ile tanımlama çalışması sonucunda 45 adedinin *Lb. plantarum* ve 42 adedinin *Lb. brevis* olarak tanımlandığını bildirmiştir. Yusuf ve Dığrak (2012) tarafından geleneksel yolla üretilen turşulardan izole edilen 40 adet LAB'sinin 22 adedinin *Lb. plantarum* olarak tanımlandığını bildirilmiştir. Ghotbi et al. (2011) olgunlaşmış Lighvan peynirinden izole edilmiş LAB'ni recA genini kullanarak moleküler düzeyde tanımlamalarında %86'sını *Lb. pentosus* ve %14'ünü *Lb. plantarum* olarak tanımlanmışlardır. Azadnia and Khan Nazer (2009) tarafından yoğurt örneklerden izole edilen 673 adet LAB'lerin morfolojik, fizyolojik,

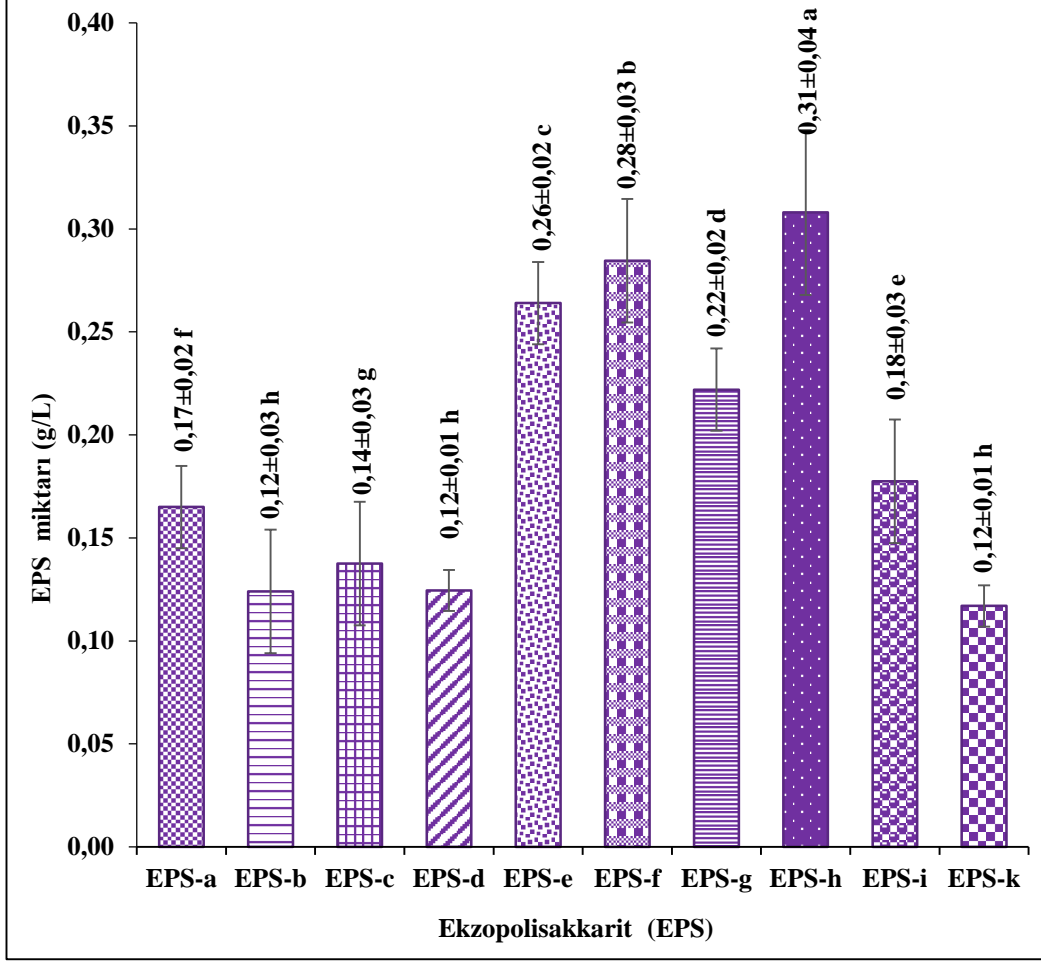
biyokimyasal özelliklerini de inceledikleri çalışmalarında 124 adedinin (%22,3) *Lb. plantarum* ve 117 adedinin *Lb. brevis* (%21) olarak tanımlandığını bildirmişlerdir. Bu çalışmalar da laktik fermente gıdalardan *Lactobacillus* bakterileri arasında *Lb. plantarum*, *Lb. brevis* ve *Lb. pentosus* türlerinin bulunma ihtimalinin yüksek olduğunu göstermektedir. *Lb. plantarum*, *Lb. brevis* ve *Lb. pentosus* türler birçok fermente gıdaların mikroflorasının temel üyeleri olmasında büyük bir genom yapısına sahip olması nedeniyle adaptasyon gücünün de yüksek olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (Makarova et al., 2006; Makarova and Koonin, 2007).

4.4. Laktik Asit Bakterilerinin Ekzopolisakkarit Üretim Miktarı

En yüksek/verimli ekzopolisakkarit üreticisi olarak belirlenen 10 adet LAB izolatı 1 L'lik MRS-Sukroz kültüründe 48 saat geliştirip EPS'leri üretmiştir. Daha sonra üretilen EPS'leri saflaştırıldıktan sonra liyofilize edilip kuru ağırlığına göre EPS üretim miktarı hesaplanmıştır. Seçilmiş LAB'lerinin ürettikleri EPS kodları Tablo 4.4'de üretim miktarları da Şekil 4.7'de gösterilmiştir.

Tablo 4 6. LAB tarafından üretilen EPS'ler

| Üretici İzolat | Üretilen EPS |
|-----------------------------|--------------|
| <i>Lb. plantarum</i> 2X13-3 | EPS-a |
| <i>Lb. plantarum</i> 1X18-5 | EPS-b |
| <i>Lb. plantarum</i> 3X20-3 | EPS-c |
| <i>Lb. plantarum</i> 2X21-2 | EPS-d |
| <i>Lb. plantarum</i> 3X22-4 | EPS-e |
| <i>Lv. brevis</i> 4X35-2 | EPS-f |
| <i>Lb. plantarum</i> 1X36-1 | EPS-g |
| <i>Lb. pentosus</i> 2X36-3 | EPS-h |
| <i>Lb. pentosus</i> 2X37-4 | EPS-i |
| <i>Lb. pentosus</i> 2X38-3 | EPS-k |



*Kolonlar üzerinde farklı harfle (a-h) işaretli ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05)

Şekil 4.7. LAB izolatlarının EPS üretim miktarları

Çalışma kapsamında kullanılmaya devam edilen 10 adet LAB'lerin EPS üretim miktarı 0,12-0,31 g/L arasında tespit edilmiştir. EPS üretimi *Lb. plantarum* 1X18-5, *Lb. plantarum* 2X21-2 ve *Lb. pentosus* 2X38-3 izolatlarının daha düşük üretime sahip oldukları, en yüksek üretimin ise *Lb. pentosus* 2X36-3 izolatı tarafından gerçekleştirildiği tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçları daha önce yapılmış benzer çalışmalarının verileri ile kıyaslanmak istendiğinde literatürde şu verilere ulaşılmıştır: Zhou et al. (2016) tarafından *Lb. plantarum* BC-25 şuşunun saf EPS üretim miktarının 0,325 g/L olarak tespit edildiği; Adebayo-Tayo and Onilude (2008) tarafından da Japon geleneksel fermente gıdalardan izole edilen *Lb. plantarum* izolatlarının üretim miktarının 0,001-0,185 g/L ve *Lv. brevis* izolatlarının üretim miktarının 0,08-0,197 g/L aralığında tespit edildiği bildirilmiştir.

İsmail and Nampoothiri (2010) tarafından sütten izole edilmiş *Lb. plantarum* MTCC 9510 izolatının 0,14 g/L EPS ürettiği, Tsuda and Miyamoto (2010) tarafından da *Lb. plantarum* 301102S izolatının 0,145 g/L EPS ürettiği tespit edilmiştir. Adesulu-Dahunsi et al. (2018) tarafından fermente gıdalardan izole edilmiş EPS üreticisi olarak belirlenen *Lb. plantarum* YO175 izolatının 0,013 g/L, *Lb. plantarum* OF101 izolatının da 0,011g/L ürettiğinin tespit edildiği söylenebilir. Sönmez et al. (2018) peynir çeşitlerinden izole edilen *Lb. brevis* türlerinin EPS üretiminin incelendiği bir çalışmanın sonucunda izolatların 0,012-0,045 g/L arasında üretim yaptığı tespit edilmiştir.

Sánchez et al. (2006) tarafından yapılan yeşil zeytin turşusundan izole edilen *Lb. pentosus* LPS26 izolatının farklı şeker (glukoz, mannoz ve ramnoz) içeren ortamlarda EPS üretim miktarının 0,081-0,166 g/L arasında değiştiği; Rodríguez-Carvajal et al. (2008) tarafından da sadece sukroz içeren ortamda *Lb. pentosus* LPS26 izolatından üretim miktarının 0,26 g/L olduğu bildirilmiştir. You et al. (2020) tarafından kefirde izole edilen *Lb. pentosus* LZ-R-17 izolatının üretim miktarının 0,185 g/L olduğu bildirilirken, Saif and Sakr (2020) tarafından yapılan çalışmada peynirden izole edilen *Lb. pentosus* 68FE izolatının EPS üretmediği bildirilmiştir. Literatürde LAB'nin EPS üretim sonuçları ile ilgili veriler incelendiğinde elde edilen sonuçlarımızın da benzer aralıklarda olduğu gözlemlenmektedir.

4.5. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Karakterizasyonu

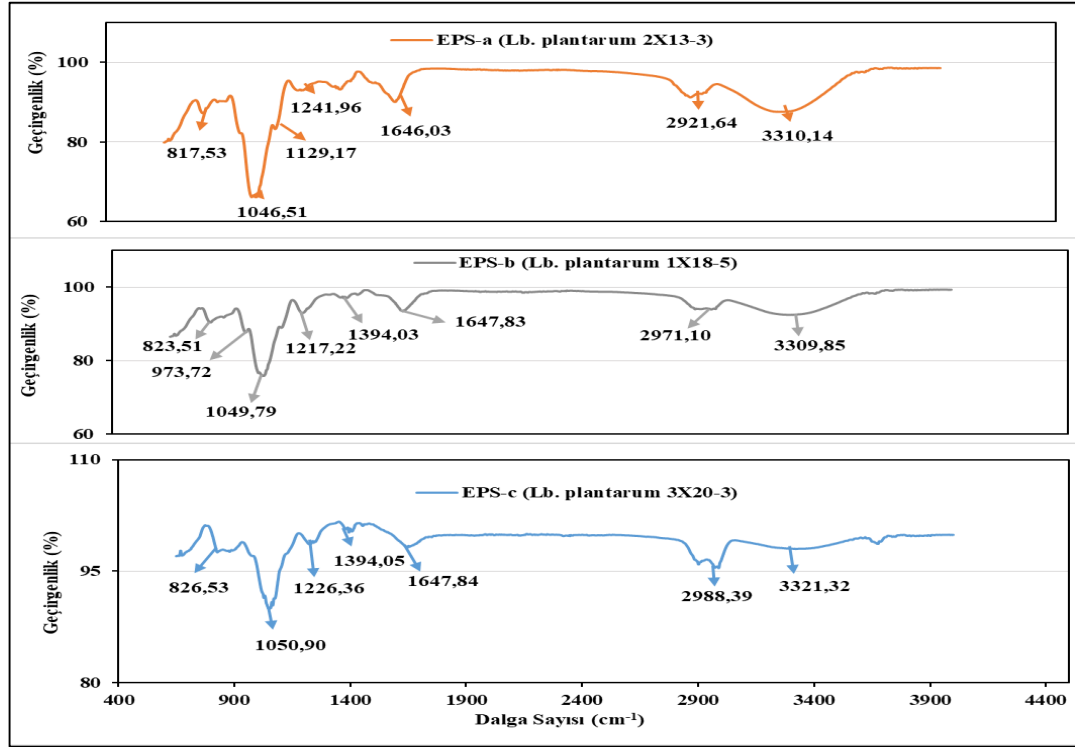
4.5.1. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Fonksiyonel Grupları

LAB tarafından üretilen EPS numunelerinin fonksiyonel grupları FTIR spektroskopisi ile incelenmiştir. EPS'lerin fonksiyonel gruplarına ait pik değerleri Tablo 4.5 ve FTIR spektrumları da Şekil 4.8-4.11'de sunulmuştur.

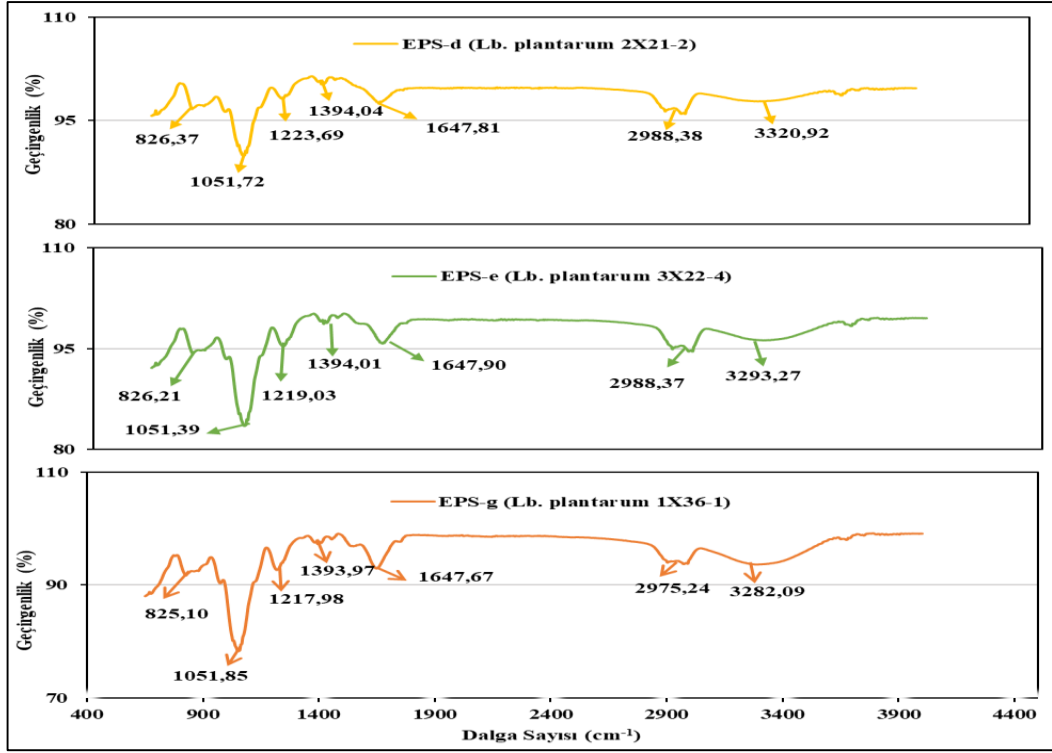
Tablo 4.7.LAB izolatları tarafından üretilen EPS'lerin fonksiyonel gruplarına ait FTIR spektrumu pik değerleri

| Üretici İzolat | Üretilen EPS | Pik Değerleri (cm ⁻¹) | | | | | | | |
|-----------------------------|--------------|-----------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| <i>Lb. plantarum</i> 2X13-3 | EPS-a | 817,53 | 1046,51 | 1129,17 | 1241,96 | 1646,03 | 2921,64 | 3310,14 | - |
| <i>Lb. plantarum</i> 1X18-5 | EPS-b | 823,51 | 973,72 | 1049,79 | 1217,22 | 1394,03 | 1647,83 | 2971,10 | 3309,85 |
| <i>Lb. plantarum</i> 3X20-3 | EPS-c | 826,53 | 1050,90 | 1226,36 | 1394,05 | 1647,84 | 2988,39 | 3321,32 | - |
| <i>Lb. plantarum</i> 2X21-2 | EPS-d | 826,37 | 1051,72 | 1223,69 | 1394,04 | 1647,81 | 2988,38 | 3320,92 | - |
| <i>Lb. plantarum</i> 3X22-4 | EPS-e | 826,21 | 1051,39 | 1219,03 | 1394,01 | 1647,90 | 2988,37 | 3293,27 | - |
| <i>Lv. brevis</i> 4X35-2 | EPS-f | 826,22 | 1051,87 | 1220,71 | 1394,03 | 1535,80 | 1647,34 | 2971,43 | 3279,35 |
| <i>Lb. plantarum</i> 1X36-1 | EPS-g | 825,10 | 1051,85 | 1217,98 | 1393,97 | 1647,67 | 2975,24 | 3282,09 | - |
| <i>Lb. pentosus</i> 2X36-3 | EPS-h | 825,25 | 1050,62 | 1217,21 | 1393,98 | 1647,45 | 2971,22 | 3285,07 | - |
| <i>Lb. pentosus</i> 2X37-4 | EPS-i | 816,26 | 974,12 | 1049,56 | 1219,48 | 1393,98 | 1648,04 | 2926,57 | 3320,30 |
| <i>Lb. pentosus</i> 2X38-3 | EPS-k | 820,34 | 973,10 | 1048,57 | 1216,38 | 1394,01 | 1647,79 | 2971,50 | 3281,29 |

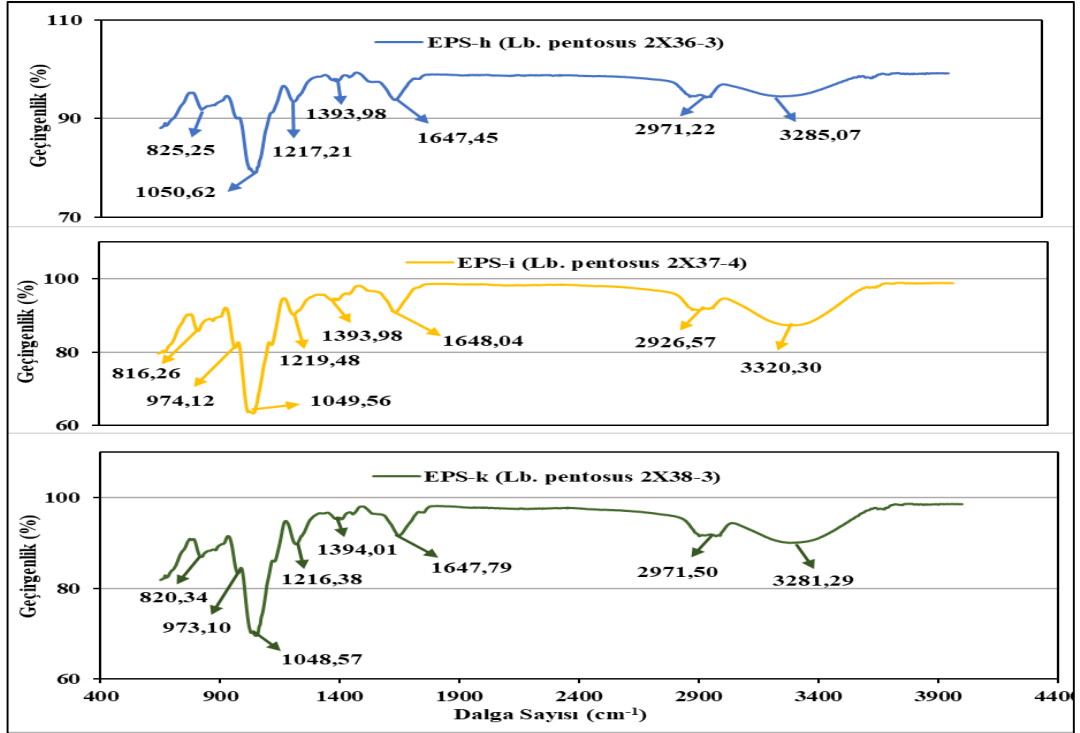
EPS numunelerinin FTIR spektrumu 817,53-3321,09 cm^{-1} aralığında pik değerlerine sahip olarak belirlenmiştir. EPS örneklerinde belirlenen 817,53-826,53 cm^{-1} aralığındaki pik α -D-glukoz, 912,05-973,72 cm^{-1} aralığındaki pik de α -D-glukosidik bağına işaret etmekte ve monosakkarit ile polisakkaritlerin varlığını kanıtlamaktadır (Saravanan and Shetty, 2016; Sasikumar et al., 2017; Ye et al., 2019). 1046,51-1051,87 cm^{-1} aralığındaki pikler polimer varlığına (Abinaya et al., 2018); 1216,38-1241,96 cm^{-1} gerilmesi karbonhidratların varlığına ve 1393,97-1535,80 cm^{-1} aralık da C-O, R-COO-R grubu olduğuna işaret etmektedir (Kansandee et al., 2019; Xu et al., 2019). 1646,03-1648,10 cm^{-1} aralık ise güçlü emilim noktası ve karboksil grubu varlığını doğrulamaktadır (Wang et al., 2014). Ayrıca 2921,64-2988,39 cm^{-1} aralıktaki pik C=H; C=O; O=H gerilme titreşimi gösterirken, 3281,29-3321,32 cm^{-1} aralıktaki pik hidroksil gruplarının varlığı nedeniyle polisakkarit olduğuna işaret etmektedir (Wang et al., 2014; Saravanan and Shetty, 2016; Abinaya et al., 2018; Ermiş vd., 2020). Elde edilen tüm piklerinin FTIR spektrumları Şekil 4.8-4.11’de gösterilmiştir.



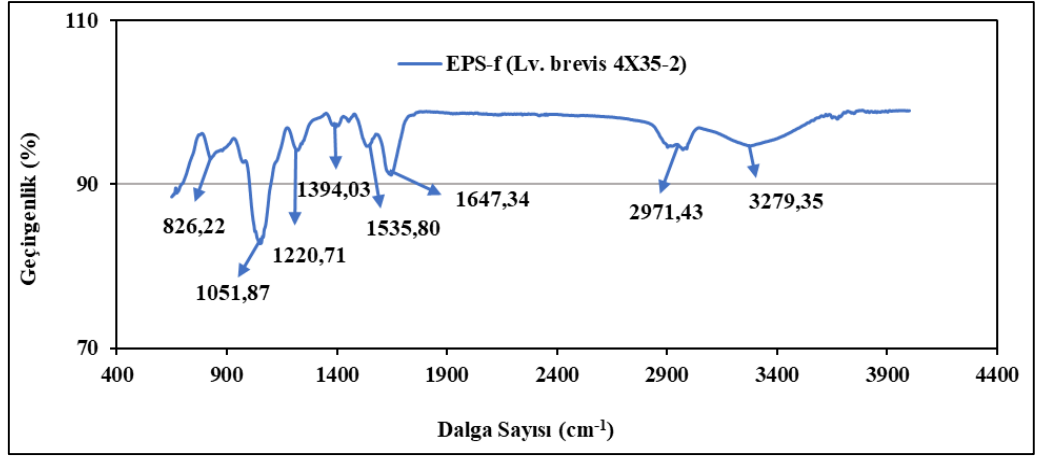
Şekil 4.8. *Lb. plantarum* 2X13-3, 1X18-5 ve 3X20-3 tarafından üretilen EPS’lerin FTIR spektrumları



Şekil 4.9. *Lb. plantarum* 2X21-2, 3X22-4 ve 1X36-1 tarafından üretilen EPS'lerin FTIR spektrumları



Şekil 4.10. *Lb. pentosus* 2X36-3, 2X37-4 ve 2X38-3 tarafından üretilen EPS'lerin FTIR spektrumları

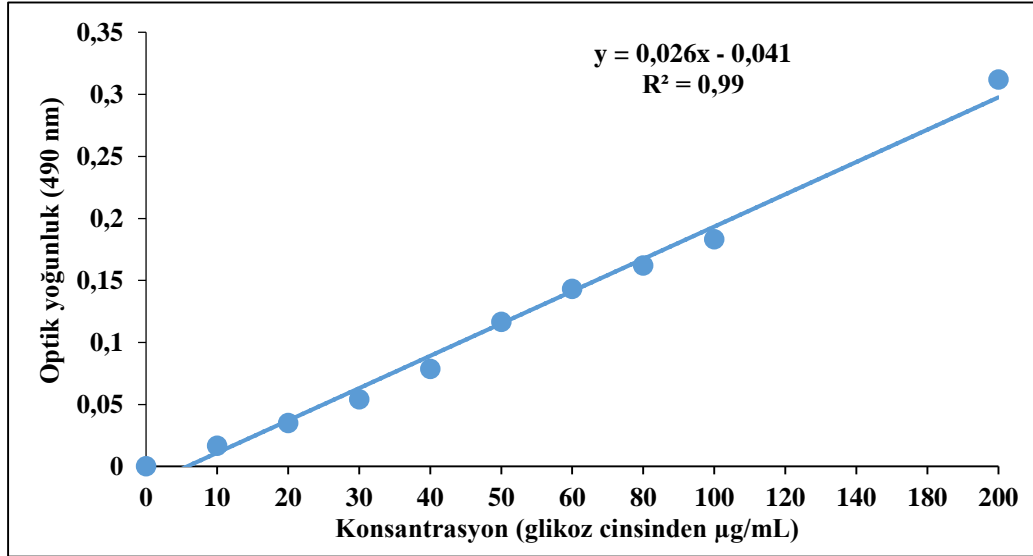


Şekil 4.11. *Lv. brevis* 4X35-2 tarafından üretilen EPS'nin FTIR spektrumu

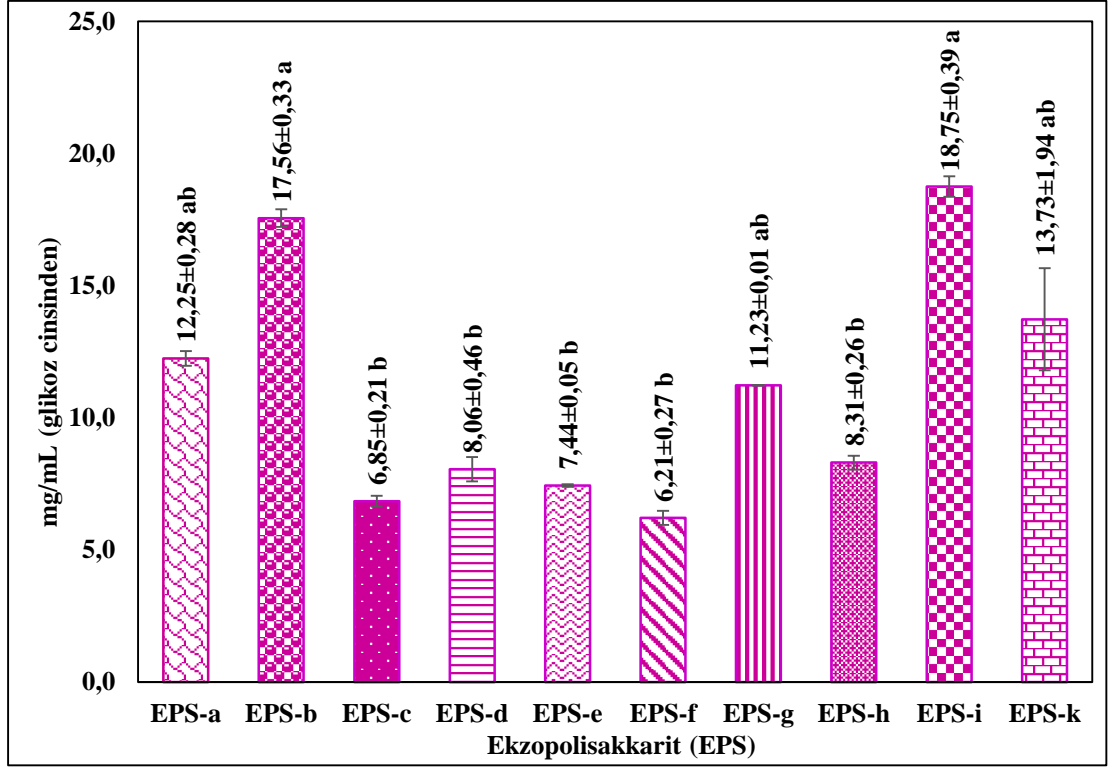
4.5.2. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Toplam Şeker Miktarı

Liyofilize edilmiş EPS'lerin toplam şeker miktarı ($\mu\text{g/mL}$), Şekil 4.12'de verilen standart glikoz eğrisi ve denklemini kullanılarak hesaplanmıştır. Glikoz eğrisi, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan glikoz solüsyonları 490 nm dalga boyundaki absorptans değerlerine göre optik yoğunluğu hesaplanarak oluşturulmuştur.

Şekil 4.12. Glikoz standart eğrisi



Standart glikoz eğrisi ve denklemini kullanılarak hesaplanan LAB EPS'lerinin toplam şeker miktarları da Şekil 4.13'de gösterilmiştir.



*Kolonlar üzerinde farklı harfle (a-b) işaretli ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).

Şekil 4.13. LAB EPS'lerinin toplam şeker miktarı

Çalışmada izole edilen LAB'lerin toplam şeker miktarı 6,21-18,75 mg/mL arasında tespit edilmiştir. Toplam şeker miktarı en düşük EPS'ler *Lv. brevis* 4X35-2 ve *Lb. plantarum* 3X20-3 izolatları tarafından üretilen EPS-f ve EPS-c olmuş ve bunlar istatistiki olarak benzer bulunmuştur ($p > 0,05$). En yüksek şeker miktarı ise *Lb. pentosus* 2X37-4 izolatı tarafından üretilen EPS-i'de saptanmış ve istatistiki olarak da diğerlerinden farklı bulunmuştur ($p < 0,05$). Çalışmada EPS'lerinin toplam şeker içeriği olarak elde edilen değerler literatürlerde verilen değerler ile benzerdir. Örneğin; Seo et al. (2015) tarafından Kore geleneksel fermente gıdası kimchi'den izole edilmiş *Lb. plantarum* YML009 şuşunun EPS'sinin 17,70 mg/mL şeker içerdiği; Tsuda and Miyamoto. (2010) tarafından *Lb. plantarum* 301102S şuşunun EPS'sinin 11,7 mg/mL şeker içerdiği; Klock et al. (2007) tarafından *Cynobacteria*'lardan üretilmiş EPS'lerin de ortalama 10,0 mg/mL şeker içerdiği bildirilmiştir.

4.5.3. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Şeker İçerikleri

EPS örneklerinin şeker içeriği kompozisyonunu belirlemek için gerçekleştirilen HPLC analizi sonucu liyofilize edilmiş EPS örneklerinin maltoz,

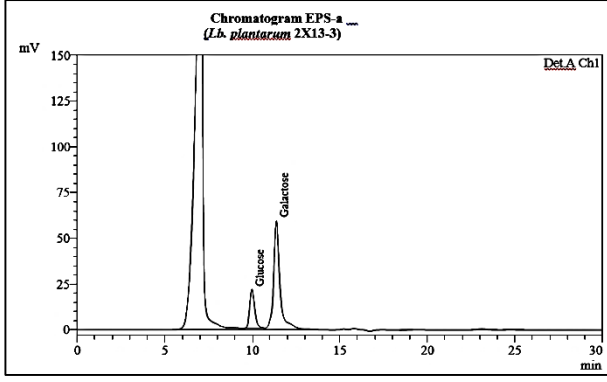
glukoz, galaktoz ve fruktoz şekerlerini içerdikleri belirlenmiştir. Her bir EPS'nin içerdiği şeker türleri ve miktarı Tablo 4.6'da sunulmuş ve EPS'lere ait kromatogramlar da Şekil 4.14-4.23'de verilmiştir.

Tablo 4.8. EPS'lerin şeker içerikleri

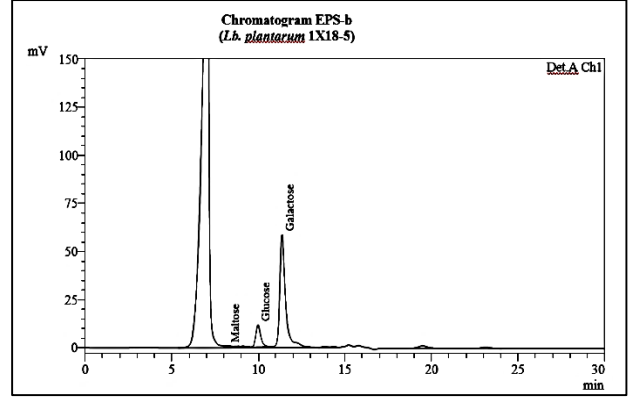
| Üretici İzolat | EPS | Şeker İçeriği (mg/mL) | | | |
|-----------------------------|-------|------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| | | Maltoz | Glukoz | Galaktoz | Fruktoz |
| <i>Lb. plantarum</i> 2X13-3 | EPS-a | - | 3,24±0,52 ^b | 11,49±0,47 ^a | 0,10±0,08 ^b |
| <i>Lb. plantarum</i> 1X18-5 | EPS-b | 0,04±0,01 ^a | 1,80±0,36 ^d | 10,41±0,31 ^b | 0,11±0,02 ^b |
| <i>Lb. plantarum</i> 3X20-3 | EPS-c | - | 4,78±0,23 ^a | 7,93±0,24 ^c | 0,11±0,01 ^b |
| <i>Lb. plantarum</i> 2X21-2 | EPS-d | - | 1,69±0,21 ^{de} | 10,76±0,40 ^b | 0,10±0,03 ^b |
| <i>Lb. plantarum</i> 3X22-4 | EPS-e | - | 2,20±0,11 ^{cd} | 6,92±0,70 ^d | - |
| <i>Lv. brevis</i> 4X35-2 | EPS-f | - | 1,52±0,41 ^e | 4,10±0,35 ^e | 0,11±0,37 ^b |
| <i>Lb. plantarum</i> 1X36-1 | EPS-g | - | 1,84±0,17 ^d | 7,98±0,43 ^c | - |
| <i>Lb. pentosus</i> 2X36-3 | EPS-h | - | 2,66±0,22 ^c | 6,01±0,06 ^d | 0,27±0,12 ^a |
| <i>Lb. pentosus</i> 2X37-4 | EPS-i | - | 2,20±0,41 ^{cd} | 11,47±0,54 ^a | 0,10±0,03 ^b |
| <i>Lb. pentosus</i> 2X38-3 | EPS-k | - | 4,41±0,31 ^a | 3,24±0,08 ^f | 0,11±0,50 ^b |
| Ortalama | - | - | 2,63±0,29 | 8,03±0,35 | 0,10±0,14 |

*Aynı sütunda farklı harfle (a-f) işaretli ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05).

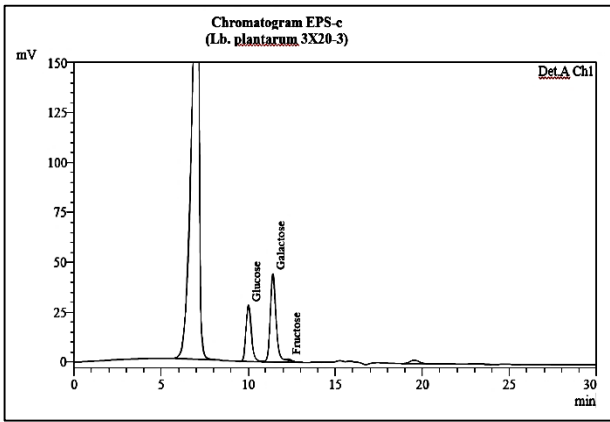
EPS'lerin şeker analizi sonucunda *Lb. plantarum* 1X18-5 izolatının ürettiği EPS-b'nin maltoz, glukoz galaktoz ve fruktoz şekerlerinin hepsini içerdiği; diğer bakterilere ait EPS'lerin hiçbirisinde maltoz bulunmadığı saptanmıştır. Glukoz ve galaktoz şekerleri tüm LAB'lerine ait EPS'lerde bulunurken; fruktoz şekeri *Lb. plantarum* 3X22-4 izolatına ait EPS-e ve *Lb. plantarum* 1X36-1 izolatına ait EPS-g' dışındaki izolatlarda saptanmıştır. En yüksek glukoz içeriğine *Lb. plantarum* 3X20-3 izolatının sahip olduğu (EPS-c, 4,78 mg/mL), bunu takip eden *Lb. pentosus* 2X38-3 izolatının üretim miktarının (EPS-k, 4,41 mg/mL) istatistiki olarak farksız olduğu (p>0,05) belirlenmiştir. En yüksek galaktoz içeriğine *Lb. plantarum* 2X13-3 izolatının ürettiği EPS-a'nın sahip olduğu (11,49 mg/mL) ve bunu takip eden *Lb. pentosus* 2X37-4 izolatının ürettiği EPS-i'nin galaktoz içeriğinin (11,47 mg/mL) istatistiki olarak benzer olduğu saptanmıştır. En yüksek früktoz miktarını da *Lb. pentosus* 2X36-3 izolatının ürettiği EPS-h (0,27 mg/mL) ürününün içerdiği ve üretim miktarının diğerlerinden farklı olduğu saptanmıştır (p<0,05). Galaktozun tüm EPS'lerde en yüksek oranda bulunan şeker olduğu belirlenmiştir



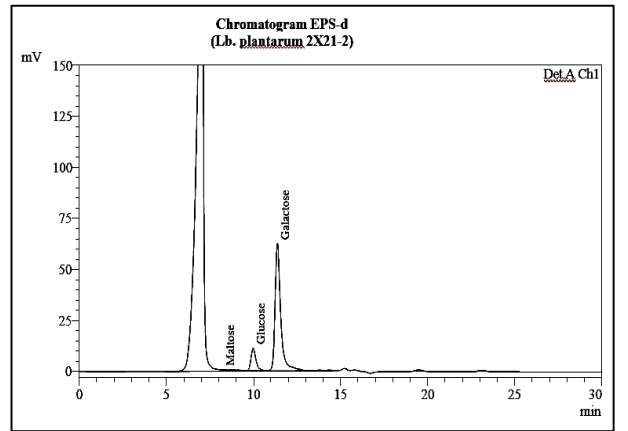
Şekil 4.14. *Lb. plantarum* 2X13-3 tarafından üretilen EPS-a'nın şeker içeriği kromatogramı



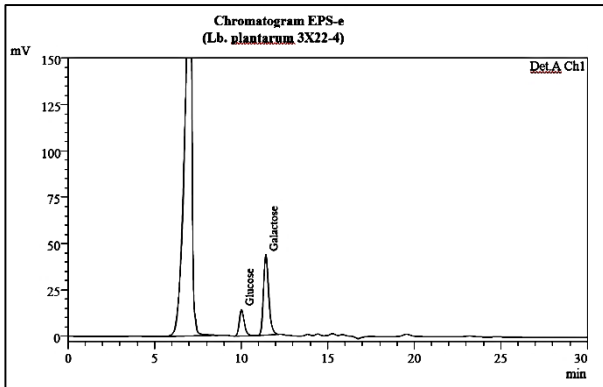
Şekil 4.15. *Lb. plantarum* 1X18-5 tarafından üretilen EPS-b'nin şeker içeriği kromatogramı



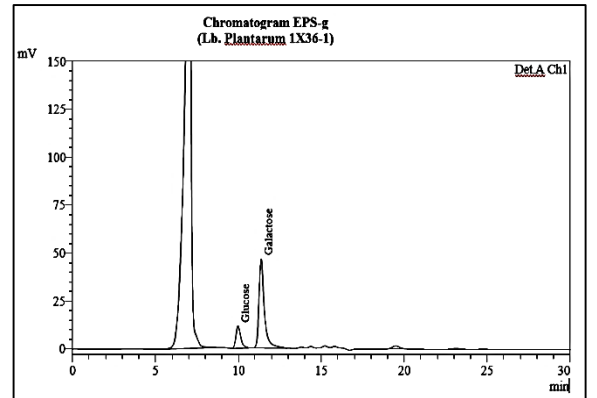
Şekil 4.16. *Lb. plantarum* 3X20-3 tarafından üretilen EPS-c'nin şeker içeriği kromatogramı



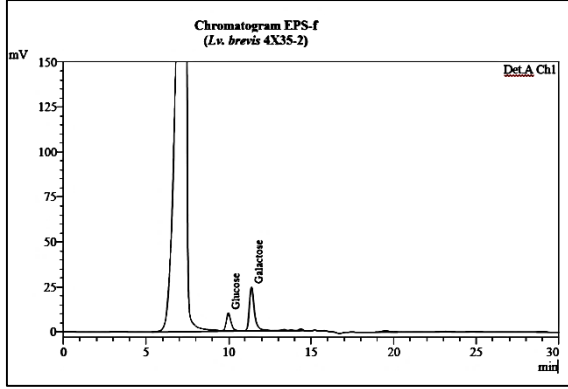
Şekil 4.17. *Lb. plantarum* 2X21-2 tarafından üretilen EPS-d'nin şeker içeriği kromatogramı



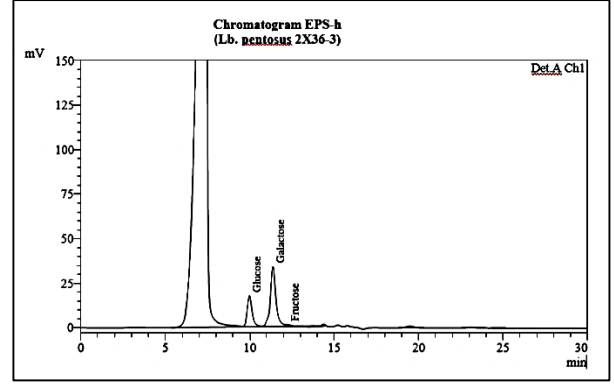
Şekil 4.18. *Lb. plantarum* 3X22-4 tarafından üretilen EPS-e'nin şeker içeriği kromatogramı



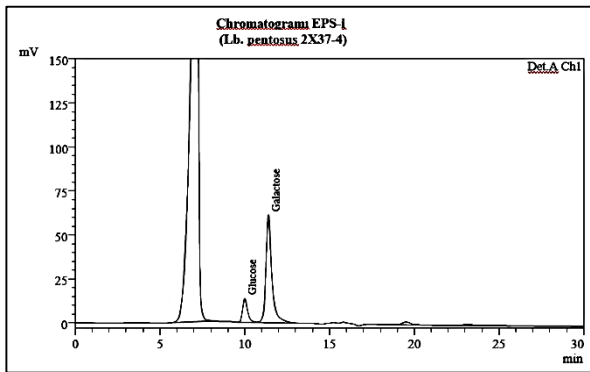
Şekil 4.19. *Lb. plantarum* 1X36-1 tarafından üretilen EPS-g'nin şeker içeriği kromatogramı



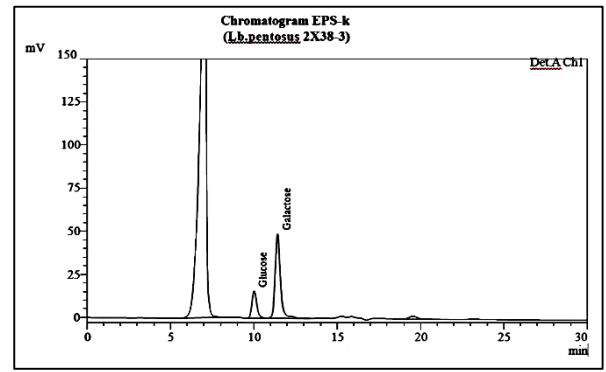
Şekil 4.20. *Lv. brevis* 4X35-2 tarafından üretilen EPS-f'nin şeker içeriği kromatogramı



Şekil 4.21. *Lb. pentosus* 2X36-3 tarafından üretilen EPS-h'nin şeker içeriği kromatogramı



Şekil 4.22. *Lb. pentosus* 2X37-4 tarafından üretilen EPS-i'nin şeker içeriği kromatogramı



Şekil 4.23. *Lb. pentosus* 2X38-3 tarafından üretilen EPS-k'nin şeker içeriği kromatogramı

Pintado et al. (2020) farklı fermantasyon ortamında laktik asit bakterileri tarafından üretilen EPS'nin 1,43 mg/mL glukoz ve 0,05 mg/mL galaktoz içerdiği; Li et al. (2020) tarafından da *Lactobacillus paracasei* H9 tarafından üretilen EPS-S11'in mannoz (0,94 mg/mL), glukoz (1,16 mg/mL) ve galaktoz (1,00 mg/mL) şekerlerini içerdiği bildirilmiştir. İspirli et al. (2019) *Lactobacillus reuteri* tarafından üretilen EPS'nin sadece glukoz içerdiğini ve EPS'nin glukan tipi olduğunu rapor etmiştir. Ismail and Nampoothiri (2010) tarafından yapılan çalışma sonucunda *Lactobacillus plantarum* MTCC 9510 tarafından üretilen EPS'nin mannoz ve glukoz şekerlerini içerdiğinin saptandığı bildirilmiştir. Şentürk et al. (2020) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise tarhanadan izole edilen 6 adet *Lb. plantarum* tarafından üretilen EPS'lerin 2 tanesinin (PFC308E ve PFC311E) fruktoz, glukoz ve galaktoz içerdiği; diğer 4 izolatin ürettiği EPS'lerin ise glukoz ve galaktoz içerdiği bildirilmiştir. Literatürde verilen laktik asit bakterilerden üretilen EPS'lerin şeker içeriğinin çalışma sonuçları ile uyumlu olduğu gözlenmektedir.

4.5.4. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Termal Özellikleri

EPS'nin termal davranış özelliği, yüksek sıcaklıkta ısıl işlem uygulanan gıdaların üretimi için endüstride kullanılabilmesine dair bilgi sağlamaktadır. Bu nedenle fermente gıdalardan izole edilen LAB'nin ürettiği EPS'lerin termal davranış özellikleri diferansiyel tarama kalorimetresi kullanılarak (DSC) belirlenmiş ve EPS'lerin ısıtılması sürecinde oluşan değişimler (geçişler) termogramlarla izlenmiştir. EPS'lerin termogramlarında görünen endotermik pik değerleri Tablo 4.7'de verilmiş ve termogramları da Şekil 4.24-4.27'de gösterilmiştir.

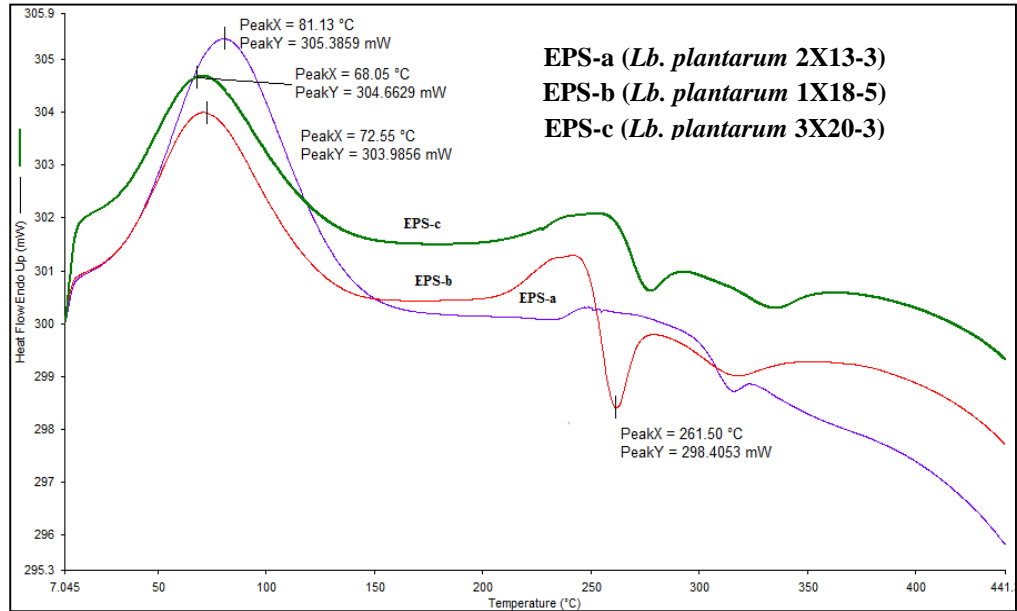
Tablo 4.9. EPS'lerin endotermik pik değerleri

| Üretici İzolat | EPS | Kristallenme Sıcaklığı (°C) | Erime Sıcaklığı (°C) |
|-----------------------------|-------|-----------------------------|----------------------|
| <i>Lb. plantarum</i> 2X13-3 | EPS-a | - | 81,13 |
| <i>Lb. plantarum</i> 1X18-5 | EPS-b | 72,55 | 261,50 |
| <i>Lb. plantarum</i> 3X20-3 | EPS-c | - | 68,05 |
| <i>Lb. plantarum</i> 2X21-2 | EPS-d | 76,90 | 260,74 |
| <i>Lb. plantarum</i> 3X22-4 | EPS-e | 75,00 | 230,90 |
| <i>Lv. brevis</i> 4X35-2 | EPS-f | 86,35 | 236,84 |
| <i>Lb. plantarum</i> 1X36-1 | EPS-g | - | 74,51 |
| <i>Lb. pentosus</i> 2X36-3 | EPS-h | - | 76,18 |
| <i>Lb. pentosus</i> 2X37-4 | EPS-i | - | 269,28 |
| <i>Lb. pentosus</i> 2X38-3 | EPS-k | 74,11 | 301,58 |

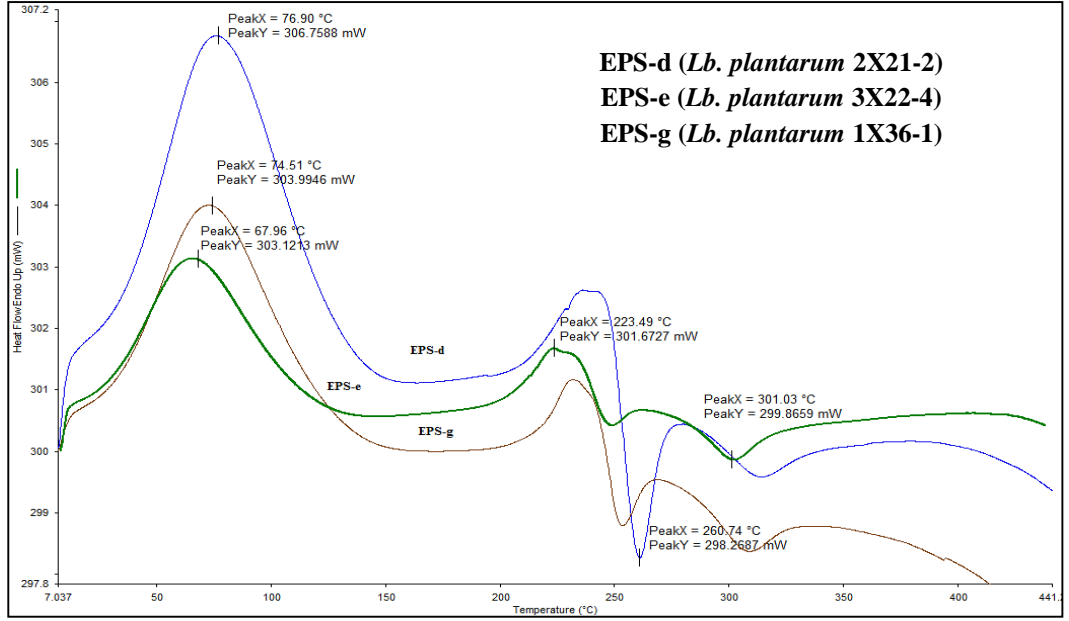
EPS'lerin termogram pik değerleri incelendiğinde 5 adet örnekte kristalleşme sıcaklığı belirlenemez iken diğer 5 örneğin kristallenme sıcaklık piklerinin 72,55°C-86,35°C aralığında olduğu görülmektedir. EPS numunelerinin erime (bozulma) sıcaklıklarının 68,05-301,58°C arasında değiştiği; en düşük erime (bozulma) sıcaklığına *Lb. plantarum* 3X20-3 izolatinin ürettiği EPS-c (68,05°C), en yüksek erime sıcaklığına da *Lb. pentosus* 2X38-3 izolatinin ürettiği EPS-k (301,58°C) ekzopolisakkaritlerinin sahip olduğu belirlenmiştir.

Kavita et al. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada *Vibrio parahaemolyticus*'dan elde edilerek test edilen EPS'lerin kristallenme sıcaklığının (107,35°C) çalışmamızda elde edilen değerlerden daha yüksek olduğu; erime sıcaklığının (249,60°C) ise 4 örnekte elde edilenden daha düşük, diğerlerinden yüksek olduğu saptanmıştır. Literatürde benzer çalışmalarda: *Lb. plantarum* BR2

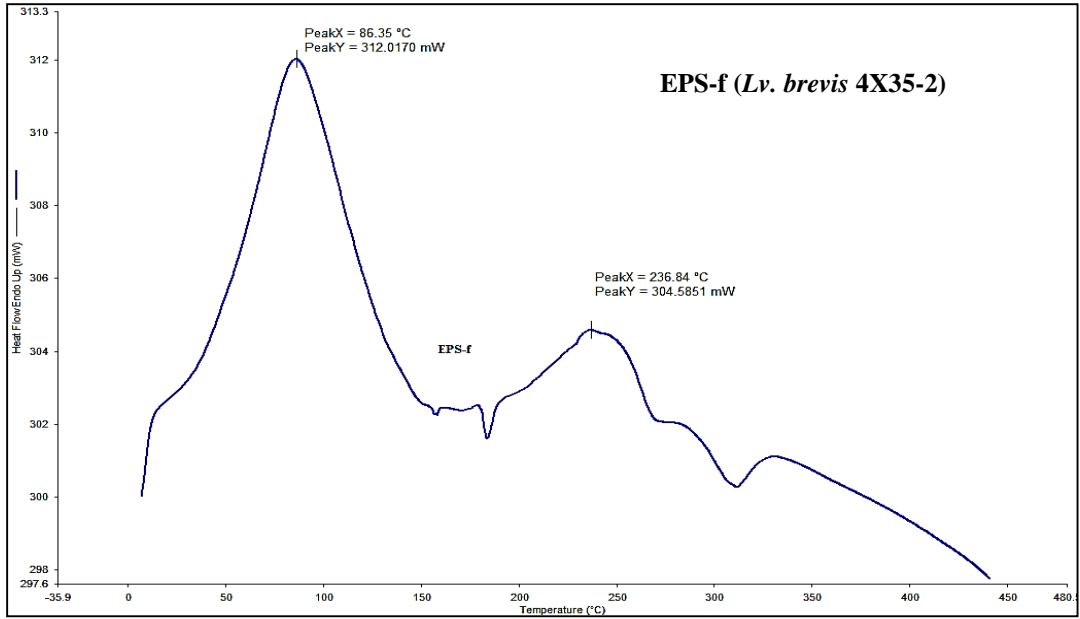
tarafından üretilen EPS'nin erime sıcaklık değerinin 260°C olduğu; *Lb. plantarum* YW32 tarafından üretilen EPS'nin de 283,50°C sıcaklığı tolere etme yeteneğinin bulunduğu bildirilmiştir (Wang et al., 2015; Sasikumar et al., 2017). Çalışmamızda *Lb. plantarum* izolatlarından 3'ü tarafından üretilen EPS'lerin erime noktalarının bu çalışma sonuçları ile benzer iken, diğer 3'üne ait EPS'lerin erime noktasının daha düşük olduğu belirlenmiştir. Çalışmada *Lv. brevis* 4X35-2 tarafından üretilen EPS-f'nin erime sıcaklığının (236,84°C), Karasu ve Ermiş (2019) tarafından *Lactobacillus brevis* E25 tarafından üretilen EPS'nin erime sıcaklığından (116°C) yüksek olduğu gözlenmektedir. İlaveten *Lb. plantarum* ve *Lb. pentosus* izolatları tarafından üretilen toplam 5 adet EPS'nin erime noktası da bu değerden daha yüksektir. Taylan et al. (2019) tarafından *Leuconostoc mesenteroides*'in ürettiği EPS için bildirilen erime sıcaklık değeri de (147,41°C) 6 örneğimizde elde edilen değerlerden daha düşük, 4 örneğimizde elde edilen değerlerden ise daha yüksektir. Hem çalışma sonuçlarımız hem de literatür verileri LAB tarafından üretilen EPS'lerin hem kristalizasyon hem de erime sıcaklıklarının çok farklı olabileceğini göstermektedir. Bu sonuç üreticilerin endüstriyel olarak farklı ürünlerde kullanılmak üzere farklı termal davranış özelliğine sahip EPS veya EPS üreticisi starter kültür kullanma şansına sahip olduklarına işaret etmektedir.



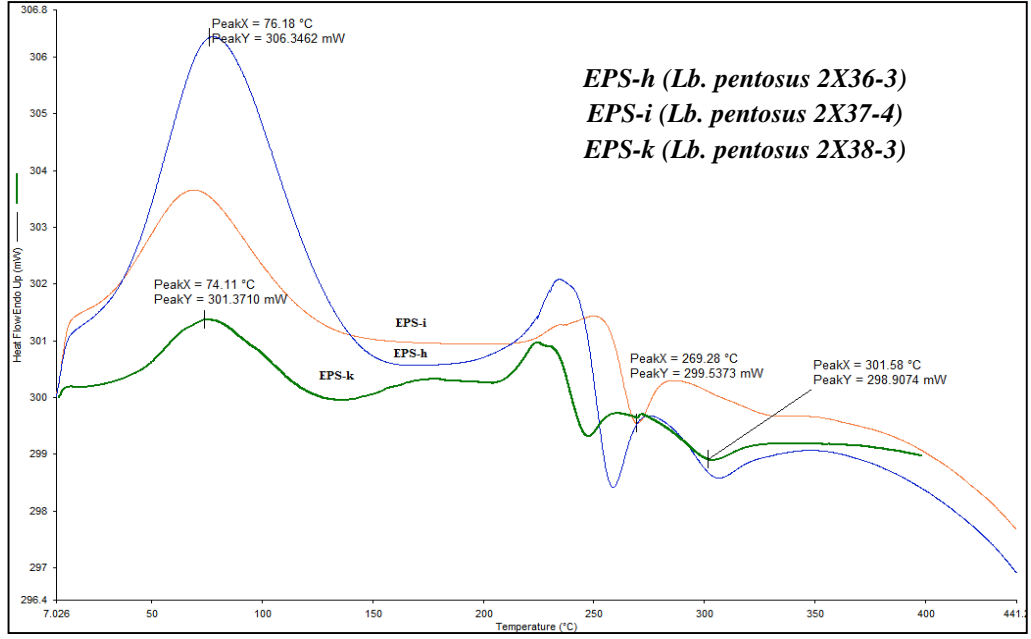
Şekil 4.24. *Lb. plantarum* 2X13-3, 1X18-5 ve 3X20-3 tarafından üretilen EPS'lerin termogramı



Şekil 4.25. *Lb. plantarum* 2X21-2, 3X22-4 ve 1X36-1 tarafından üretilen EPS'lerin termogramı



Şekil 4.26. *Lv. brevis* 4X35-2 tarafından üretilen EPS-f'nin termogramı

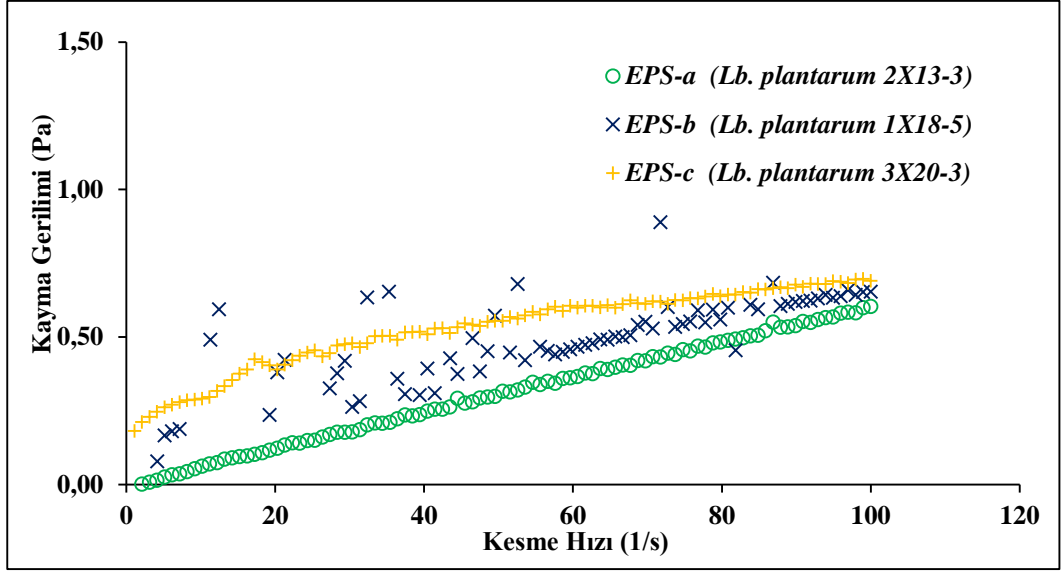


Şekil 4.27. *Lb. pentosus* 2X36-3, 2X37-4 ve 2X38-3 tarafından üretilen EPS'lerin termogramı

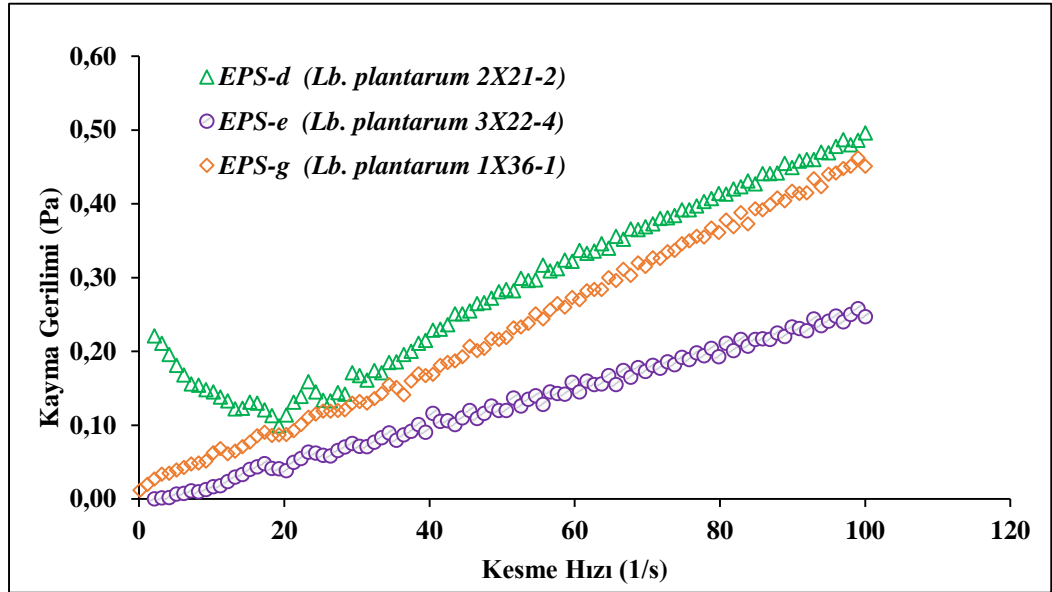
4.5.5. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Reolojik Özellikleri

4.5.5.1. Ekzopolisakkaritlerin Yatışkan Fazdaki Reolojik Özellikleri

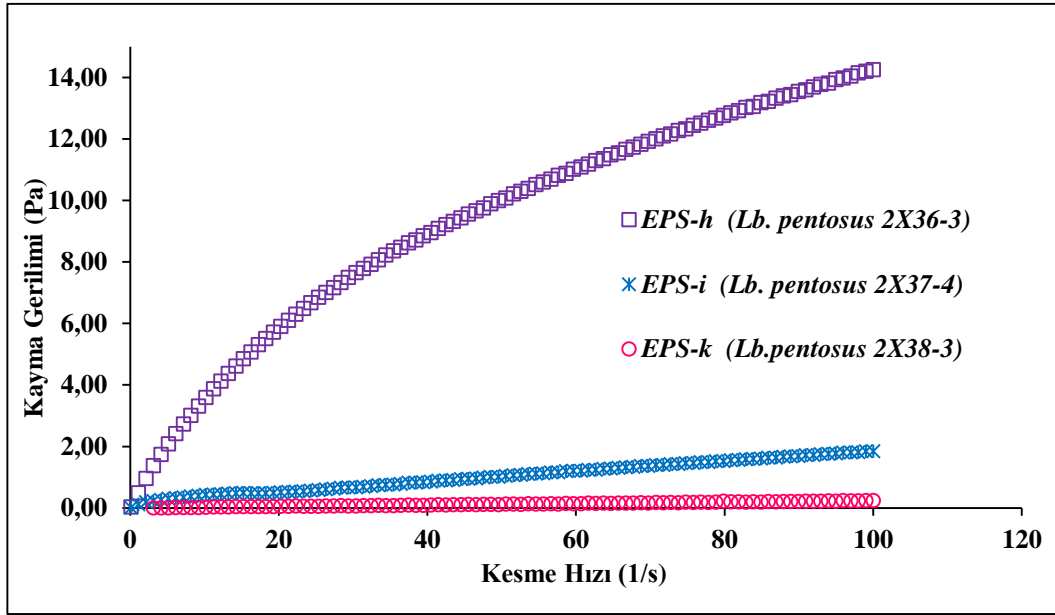
EPS'lerin reolojik özelliklerinin bilinmesinin gıda endüstrisinde kullanılabileceği alanların tahminlenmesinde önem taşıması dolayısıyla izole edilen EPS'lerin reolojik özellikleri belirlenmiş ve EPS örneklerine ait yatışkan fazdaki kesme hızına bağlı kayma gerilimi değişim sonuçlarının reogramları Şekil 4.28-4.31'de gösterilmiştir



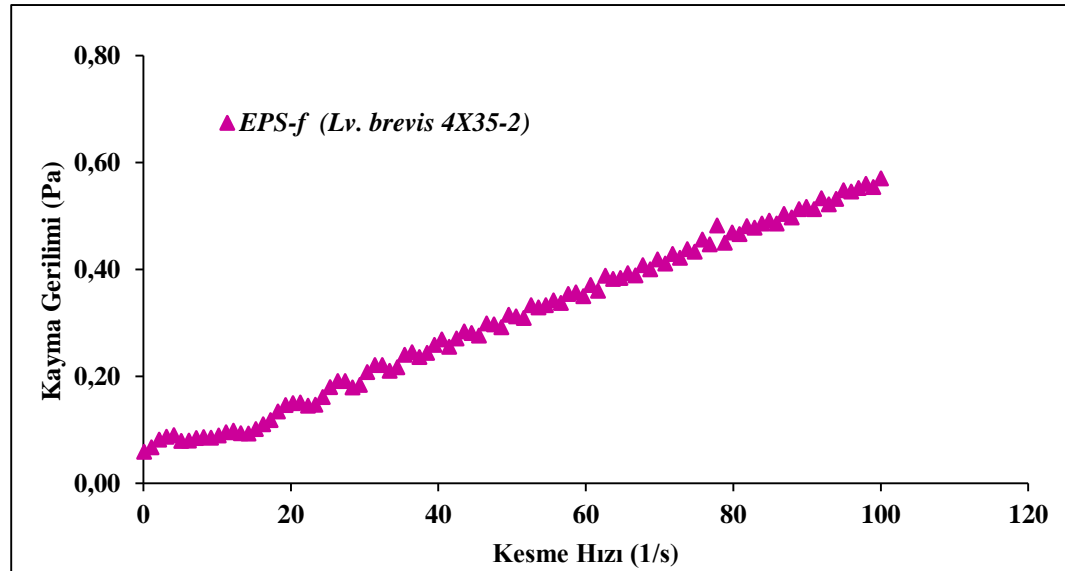
Şekil 4.28. *Lb. plantarum* 2X13-3, 1X18-5 ve 3X20-3 tarafından üretilen EPS'lerin kesme hızına bağlı kayma gerilim değişim reogramı reogramı



Şekil 4.29. *Lb. plantarum* 2X21-2, 3X22-4 ve 1X36-1 tarafından üretilen EPS'lerin kesme hızına bağlı kayma gerilim değişim reogramı



Şekil 4.30. *Lb. pentosus* 2X36-3, 2X37-4 ve 2X38-3 tarafından üretilen EPS'lerin kesme hızına bağlı kayma gerilim değişim reogramı



Şekil 4.31. *Lv. brevis* 4X35-2 tarafından üretilen EPS'nin kesme hızına bağlı kayma gerilim değişim reogramı

Şekillerde gözlemlendiği gibi EPS'lerin kayma gerilimi değerlerinin kesme hızına bağlı olarak arttığını görünmektedir. Kesme hızı yeterince yüksek olduğunda EPS'lerin yapısını parçalanarak oluşturan monosakkaritlerin boyutun küçülmesi nedeniyle kesme hızı ile orantılı olarak kayma gerilimi arttığını bildirilmektedir (Ratkovich et al., 2013; De Souza et al., 2015). EPS'lerin analizi sonucunda *Lb. pentosus* 2X36-3 izolatinin ürettiği EPS-h'nin en yüksek akış davranışına sahip olup psedoplastik davranış gösterdiği, fakat diğer izolatlarla ait EPS'lerin Newton davranışı gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca *Lb. plantarum* 1X18-5 izolatinin ürettiği EPS-b düşük akış davranışına sahip olup şekilde çok dağılma göstermiştir. Bu

dağılmaya EPS-b’de monosakkaritler dışındaki diğer bileşiklerin bulunması neden olabilir (De Souza et al., 2015). *Lb. plantarum* EPS’lerinin viskozite değerleri; Şentürk et al. (2020) tarafından yapılan çalışmada *Lb. plantarum* şuşlarının ürettiği EPS’lerin viskozite değerleri (0,005-0,01 Pa.s) ile benzerlik gösterirken, Özkaya (2017) tarafından melastan izole edilen *Leuc. mesenteroides* şuşlarının ürettiği EPS’lerinin (dekstran) viskozite değerlerinden (0,13-32,44 Pa.s) daha düşük olduğu saptanmıştır.

Elde edilen kesme hızına bağlı kayma basıncı değerleri Herschel–Bulkley modeline fit edilerek model katsayıları hesaplanmıştır. EPS’lere ait model katsayıları ve 50 s⁻¹ kesme hızındaki görünür viskozite değerleri (η_{50}) Tablo 4.8’de gösterilmiştir.

Tablo 4.10. EPS’lere ait Herschel-Bulkley model katsayıları ve görünür viskozite değerleri

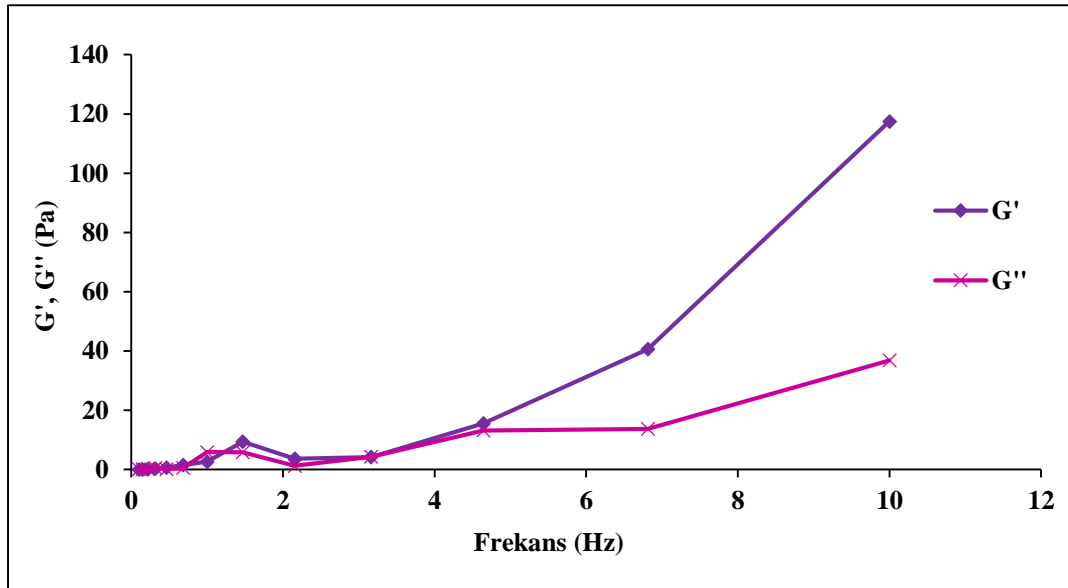
| Üretici İzolat | EPS | Herschel–Bulkley Katsayıları | | | η_{50} (Pa.s) |
|-----------------------------|-------|------------------------------|----------|----------------|-----------------------|
| | | K (Pa.s) | τ^0 | R ₂ | |
| <i>Lb. plantarum</i> 2X13-3 | EPS-a | 0,0092 | 0,0214 | 0,9992 | 0,0060 |
| <i>Lb. plantarum</i> 1X18-5 | EPS-b | 1,4040 | 0,0405 | 0,9808 | 0,0116 |
| <i>Lb. plantarum</i> 3X20-3 | EPS-c | 0,1275 | 0,0542 | 0,9963 | 0,0112 |
| <i>Lb. plantarum</i> 2X21-2 | EPS-d | 0,1119 | 0,0526 | 0,9749 | 0,0057 |
| <i>Lb. plantarum</i> 3X22-4 | EPS-e | 0,0049 | 0,0219 | 0,9935 | 0,0024 |
| <i>Lv. brevis</i> 4X35-2 | EPS-f | 0,0054 | 0,0413 | 0,9975 | 0,0064 |
| <i>Lb. plantarum</i> 1X36-1 | EPS-g | 0,0022 | 0,0221 | 0,9990 | 0,0044 |
| <i>Lb. pentosus</i> 2X36-3 | EPS-h | 1,7570 | 1,4690 | 0,9992 | 0,2020 |
| <i>Lb. pentosus</i> 2X37-4 | EPS-i | 0,0198 | 0,1707 | 0,9983 | 0,0206 |
| <i>Lb. pentosus</i> 2X38-3 | EPS-k | 0,0055 | 0,0177 | 0,9925 | 0,0023 |

EPS’lerin Herschel-Bulkley modeline ait katsayı (R₂) değerleri 0,9749-0,9992 arasında değişmektedir. R₂ değerlerinin 1’e yakın olmasından Herschel-Bulkley modelinin EPS örneklerinin akış davranışını başarılı bir şekilde tanımladığı anlaşılmaktadır. EPS örneklerinin kıvam katsayısı (K) değerleri 0,0022-1,7570 Pa.s arasında değişmişken akış davranış değerleri (τ^0) ise 0,0214-1,4690 arasında değişmiştir. Örneklerinin ağızdaki kesme hızı olarak kabul edilen 50 s⁻¹ deki viskozite değerleri (η_{50}) ise 0,0023-0,2020 Pa.s arasında tespit edilmiştir. EPS’lerden *Lb. pentosus* 2X36-3 izolatının ürettiği EPS-h en yüksek akış davranış değerine (1,4690 Pa.s) sahipken, diğer EPS’lerde bu değer 1’den oldukça küçük bulunmuştur. Elde edilen akış davranış (viskozite) sonuçları literatür ile karşılaştırıldığında; Serin (2016) tarafından bildirilen *Lc. lactis* F39 şuşunun

EPS'sinin viskozite değerlerinden (0,0014-0,0059 Pa.s) yüksek olduğu; Pinheiro (2013) tarafından bildirilen *Enterobacter* A47 DSM 23139 EPS'sinin viskozite değerinden ise (0,2–0,3 Pa.s) *Lb. pentosus* 2X36-3 izolatının ürettiği EPS-h yüksek, diğer EPS'ler daha düşük değere sahiptir.

4.5.5.2. Ekzopolisakkaritlerin Dinamik Fazdaki Reolojik Özellikleri

EPS örneklerinin yatışkan fazdaki en yüksek akış davranış değerine sahip, psedoplastik davranış gösteren ve *Lb. pentosus* 2X36-3 izolatı tarafından üretilen EPS-h'nin frequency sweep testleri gerçekleştirilerek doğrusal visko-elastik özellikleri belirlenerek G' (elastikiyet modülü) ve G'' (viskoz modülü) değerlerindeki değişim gözlenmiştir. Diğer bakterilere ait EPS'lerin yatışkan fazdaki akış davranış değerlerinin 1'den küçük olması ve Newton davranış göstermesi nedeni ile doğrusal visko-elastik özellikleri belirlenmemiştir. *Lb. pentosus* 2X36-3 izolatı tarafından üretilen EPS-h'nin açısız hıza bağlı olarak G' (elastikiyet modülü) ve G'' (viskoz modülü) değerlerindeki değişimi gösteren reogram Şekil 4.32'de gösterilmiştir.



Şekil 4.32. *Lb. pentosus* 2X36-3 tarafından üretilen EPS-h'nin açısız hıza bağlı G' ve G'' değerlerinin değişim reogramı

Lb. pentosus 2X36-3 izolatı tarafından üretilmiş EPS-h'nin dinamik titreşimli kayma özelliklerinin belirlenmesi için uygulanan frequency sweep testi elastikiyet modülü (G') ve viskozite modülü (G'') değerlerinin açısız hız arttıkça arttığını göstermiştir. Elde edilen G' değerinin G'' değerinden yüksek bulunması da bu örneğin viskoz davranışının düşük olduğunu ve elastik davranışın hakim olduğunu

göstermektedir. G' elastik davranış değerinin yüksek olması jele benzer davranış gösterebileceğine (Yılmaz vd., 2014; Abreu et al., 2019) işaret etmektedir.

Elde edilen veriler kullanılarak aynı örneğin kayma gerilim (K' , K'') ve eğim değerleri (n' , n'') de hesaplanmış ve Tablo 4.9'de sonuçları verilmiştir.

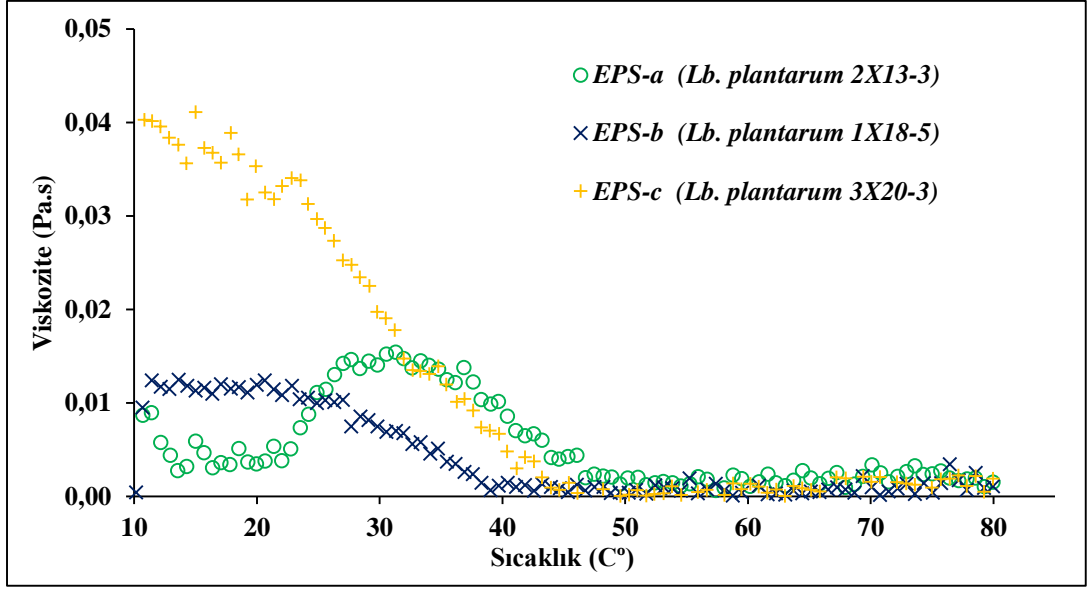
Tablo 4.11. *Lb. pentosus* 2X36-3 tarafından üretilen EPS-h örneğine ait K' , n' , K'' , n'' ve R_2 değerleri

| Üretici LAB | EPS | $G' = K'(\omega)n'$ | | | $G'' = K''(\omega)n''$ | | |
|----------------------------|-------|---------------------|--------|--------|------------------------|--------|--------|
| | | K (Pa.sn) | n' | R_2 | K (Pa.sn) | n'' | R_2 |
| <i>Lb. pentosus</i> 2X36-3 | EPS-h | 0,6627 | 2,1560 | 0,9995 | 2,0910 | 1,8050 | 0,9908 |

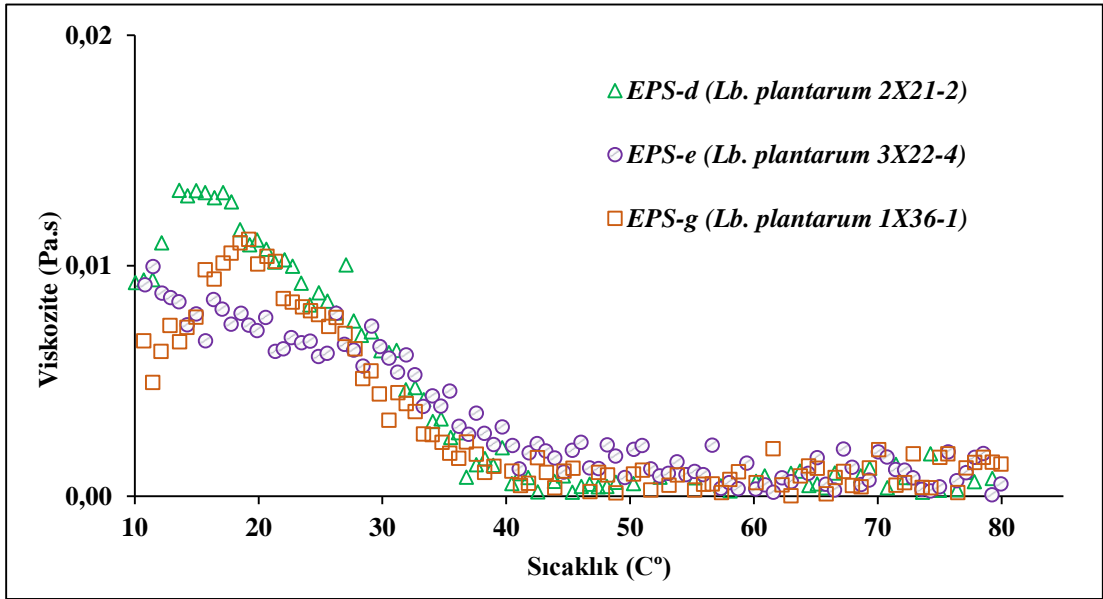
Lb. pentosus 2X36-3 izolatu tarafından üretilmiş EPS-h'nin G' ve G'' değerlerindeki R_2 değerinin bulunması için power-law model uygulanmıştır. R_2 değerleri G' ve G'' değerleri ilişkisinin power-law modeline uygun olduğunu göstermektedir. Elde edilen değerler Abreu et al. (2019) ve Sarıcaoğlu (2020) tarafından yapılan çalışmalarının sonuçları ile de benzerlik göstermektedir.

4.5.5.3. Ekzopolisakkaritlerin Sıcaklığa Bağlı Akış Davranış Reolojik Özellikleri

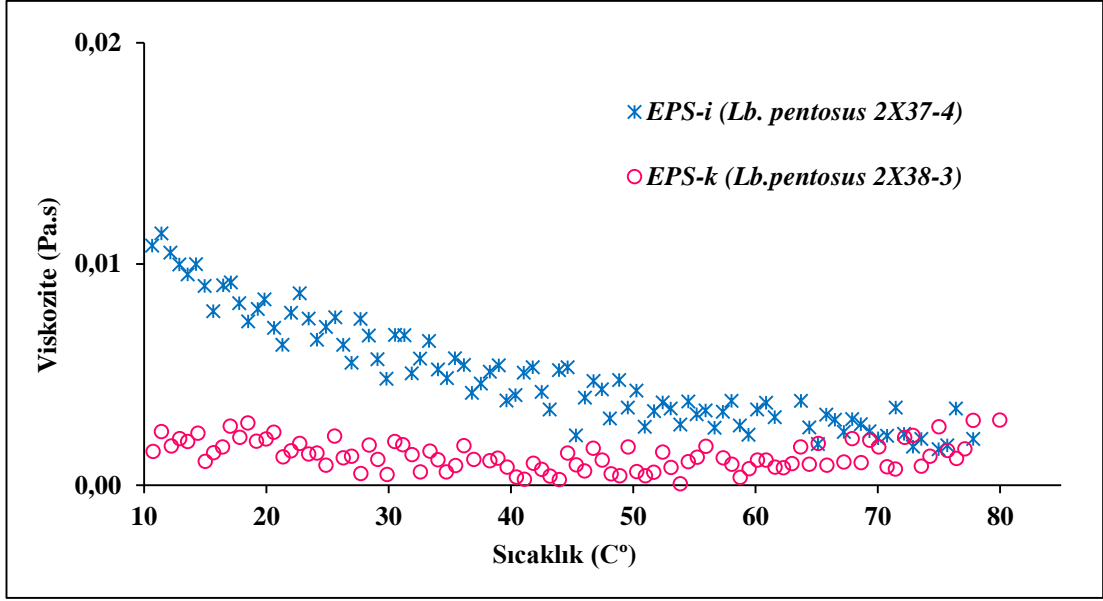
Ekzopolisakkaritlerinin gıda endüstrisinde uygulanan ısıl işlem sırasındaki davranışlarının son ürünün özellikleri açısından oldukça önemli olması nedeniyle tüm EPS örneklerinin sıcaklığa bağlı davranışları incelenmiştir. Örneklerinin sıcaklığa bağlı akış davranış sonuçlarının reogramları Şekil 4.33-4.37'de gösterilmiştir.



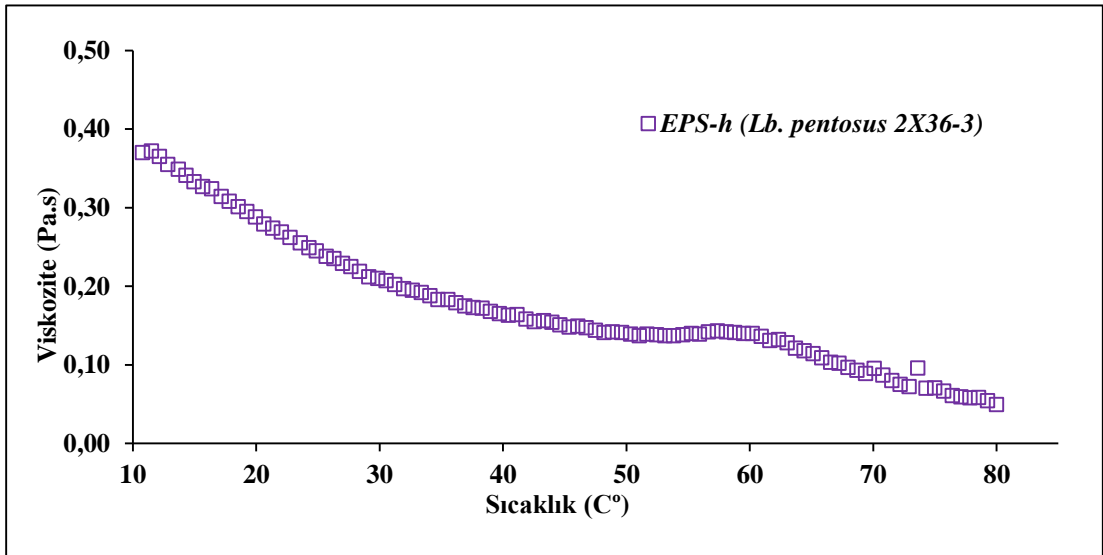
Şekil 4.33. *Lb. plantarum* 2X13-3, 1X18-5 ve 3X20-3 tarafından üretilen EPS'lerin sıcaklığa bağlı akış davranış reogramı



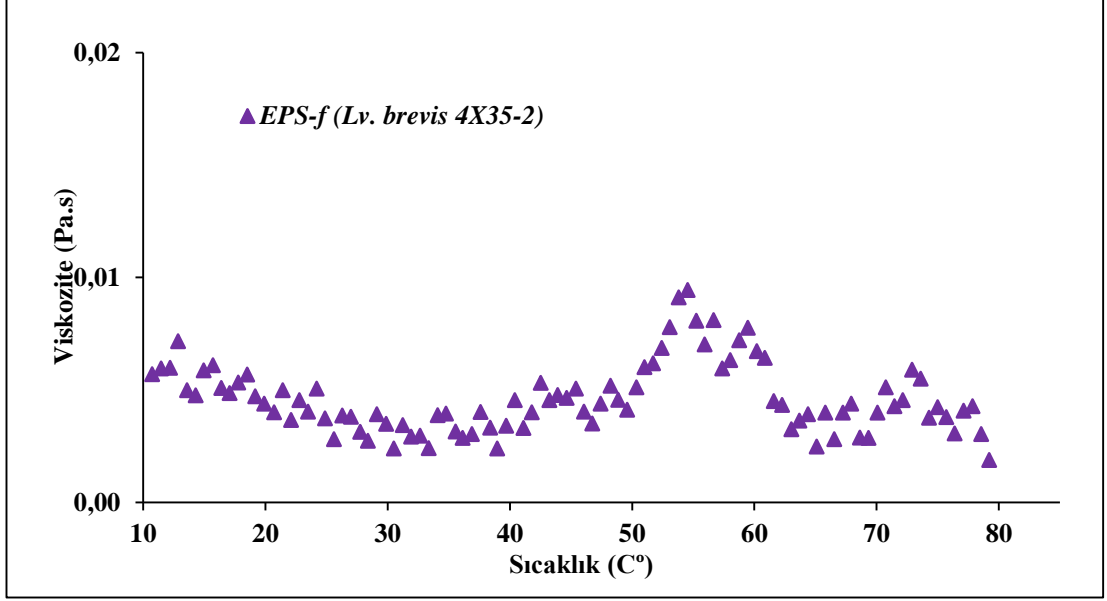
Şekil 4.34. *Lb. plantarum* 2X21-2, 3X22-4 ve 1X36-1 tarafından üretilen EPS'lerin sıcaklığa bağlı akış davranış reogramı



Şekil 4.35. *Lb. pentosus* 2X37-4 ve 2X38-3 tarafından üretilen EPS'lerin sıcaklığa bağlı akış davranış reogram



Şekil 4.36. *Lb. pentosus* 2X36-3 tarafından üretilen EPS'nin sıcaklığa bağlı akış davranış reogram



Şekil 4.37. *Lv. brevis* 4X35-2 tarafından üretilen EPS'nin sıcaklığa bağlı akış davranış reogram

Örneklerinin sıcaklığa bağlı akış davranış sonuçlarını gösteren reogramlar incelendiğinde EPS örneklerinin viskozitesinin genel olarak sıcaklık arttıkça azaldığı gözlenmektedir. *Lb. pentosus* 2X36-3 izolatu tarafından üretilen EPS-h'nin 70°C'ye kadar viskozitesinin 0,1 Pa.s değerinin üzerinde kalması gıda sistemlerinde doku ve reolojik özelliklerin iyileştirilmesinde önemli rol oynayabileceğine işaret etmektedir. Diğer LAB izolatlarına ait EPS'lerin ise 40°C sıcaklığa ulaşıldığında önemli viskozite kaybı yaşadığı belirlenmiştir.

Elde edilen sıcaklığa bağlı akış davranış değerleri Arrhenius modeline fit edilerek model katsayıları da hesaplanmış ve Tablo 4.10'da verilmiştir

Tablo 4.12. EPS'lere ait Arrhenius model katsayıları

| Üretici İzolat | EPS | Arrhenius Katsayıları | | |
|-----------------------------|-------|-----------------------|--------|----------------|
| | | K (Pa.s) | E | R ₂ |
| <i>Lb. plantarum</i> 2X13-3 | EPS-a | 10,00 | 0,0002 | 0,0324 |
| <i>Lb. plantarum</i> 1X18-5 | EPS-b | 10,00 | 0,0002 | 0,0315 |
| <i>Lb. plantarum</i> 3X20-3 | EPS-c | 10,00 | 0,0020 | 0,1668 |
| <i>Lb. plantarum</i> 2X21-2 | EPS-d | 10,00 | 0,0194 | 0,1677 |
| <i>Lb. plantarum</i> 3X22-4 | EPS-e | 10,00 | 0,0006 | 0,0629 |
| <i>Lv. brevis</i> 4X35-2 | EPS-f | 10,00 | 0,0101 | 0,0928 |
| <i>Lb. plantarum</i> 1X36-1 | EPS-g | 10,00 | 0,0011 | 0,0986 |
| <i>Lb. pentosus</i> 2X36-3 | EPS-h | 10,00 | 0,0085 | 0,3155 |

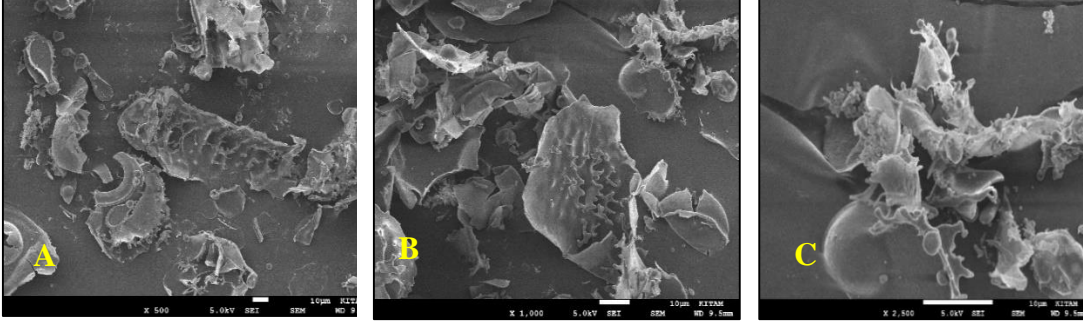
Tablo 4.13. (Devam)

| Üretici İzolat | EPS | Arrhenius Katsayıları | | |
|----------------------------|-------|-----------------------|--------|----------------|
| | | K (Pa.s) | E | R ₂ |
| <i>Lb. pentosus</i> 2X37-4 | EPS-i | 10,00 | 0,0626 | 0,1301 |
| <i>Lb. pentosus</i> 2X38-3 | EPS-k | 10,00 | 0,5628 | 0,0870 |

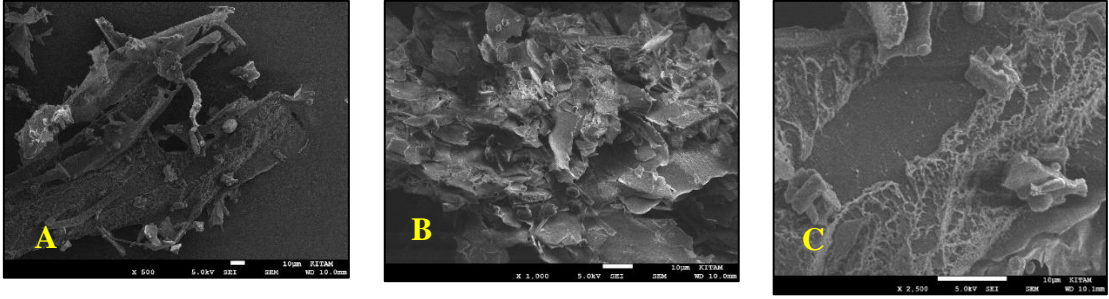
Sıcaklığa bağlı akış davranış test sonuçları, Ayyash vd. (2020a) tarafından *Lactobacillus plantarum* C70 şuşundan üretilen EPS'nin sıcaklığa bağlı akış davranış özelliklerinin incelendiği çalışma sonuçları (0,002-0,007 Pa.s) ile benzerdir. Cruz et al. (2011) tarafından *Enterobacter* A47 (DSM 23139) şuşu EPS'si için bildirilen sıcaklığa bağlı akış davranış değeri (0,35 Pa.s) ise *Lb.pentosus* ürettiği 2X37-4 ve 2X38-3 tarafından üretilen EPS-i ve EPS-k'nın değerlerinden daha düşük, diğer EPS'lerin değerlerinden daha yüksektir.

4.5.6. Liyofilize Ekzopolisakkaritlerin Yüzey Yapısı

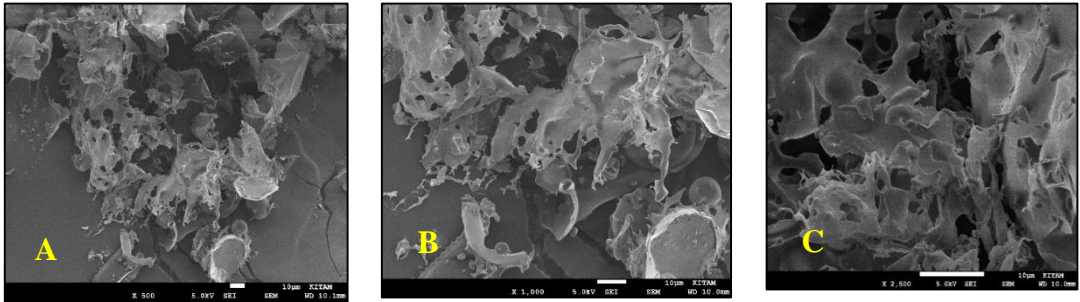
EPS'lerin yüzey morfolojileri taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak belirlenmiş ve elde edilen örnek görüntüleri aşağıda Şekil 4.38-4.47'de sunulmuştur.



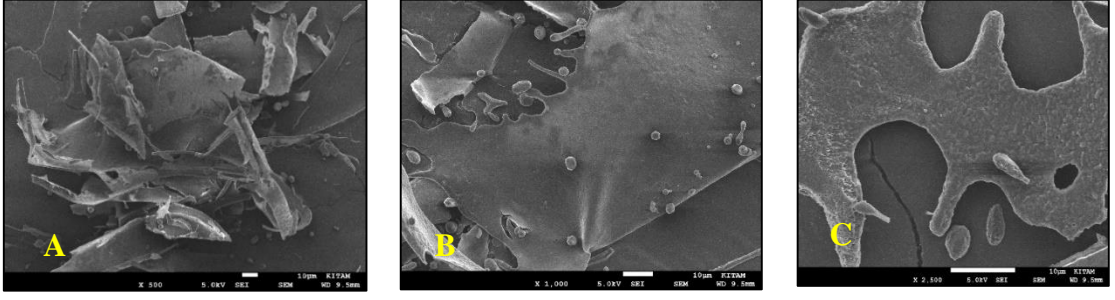
Şekil 4.38. *Lb. plantarum* 2X13-3 tarafından üretilen EPS-a'nın SEM görüntüsü (A:500×, B: 1000×; C:2500×)



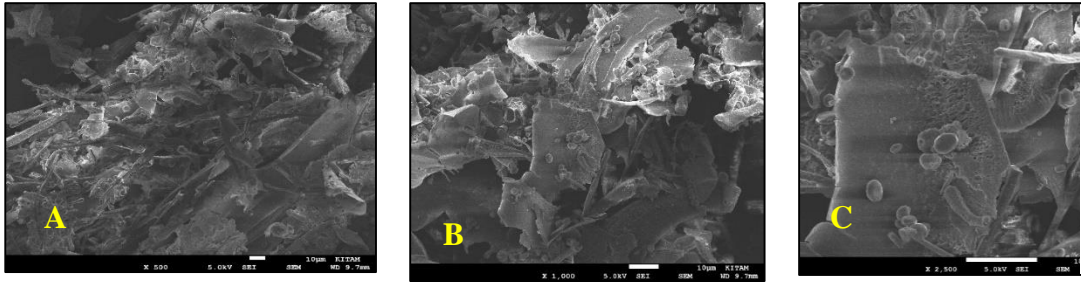
Şekil 4.39. *Lb. plantarum* 1X18-5 tarafından üretilen EPS-b'nin SEM görüntüsü (A:500×, B: 1000×; C:2500×)



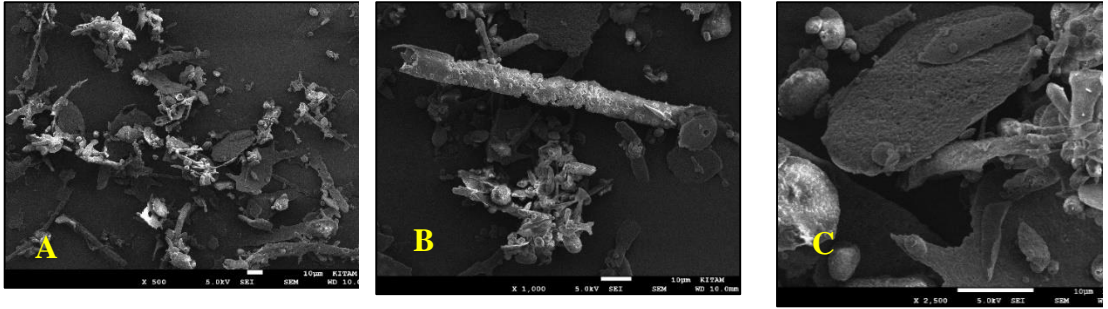
Şekil 4.40. *Lb. plantarum* 3X20-3 tarafından üretilen EPS-c'nin SEM görüntüsü (A:500×, B: 1000×; C:2500×)



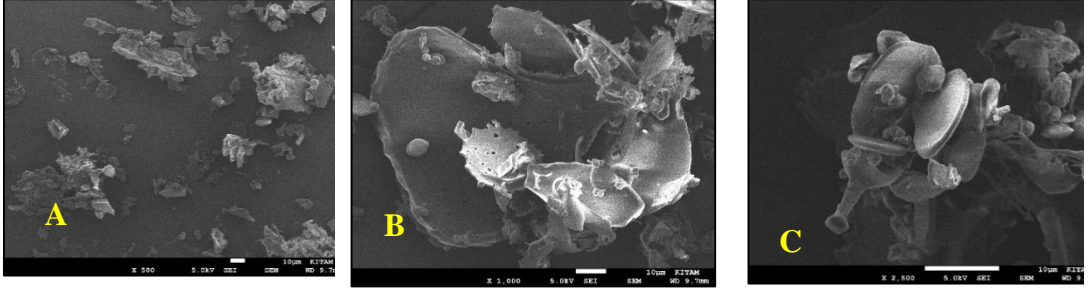
Şekil 4.41. *Lb.plantarum* 2X21-2 tarafından üretilen EPS-d'nin SEM görüntüsü (A:500×, B: 1000×; C:2500×)



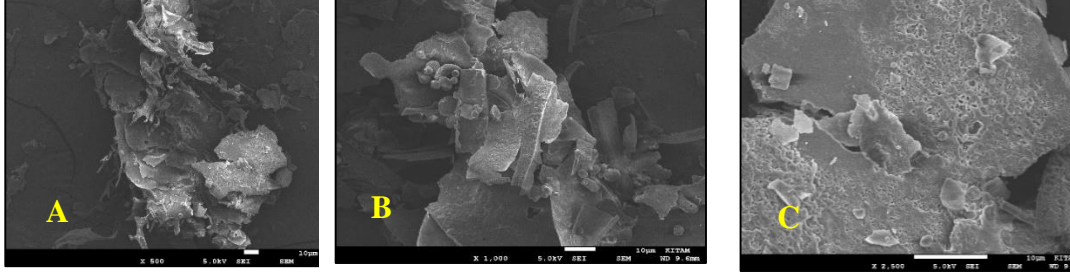
Şekil 4.42. *Lb.plantarum* 3X22-4 tarafından üretilen EPS-e'nin SEM görüntüsü (A:500×, B: 1000×; C:2500×)



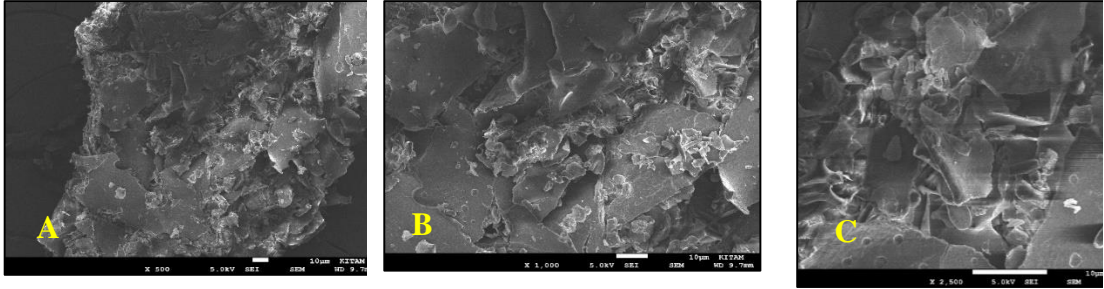
Şekil 4.43. *Lv. brevis* 4X35-2 tarafından üretilen EPS-f'nin SEM görüntüsü (A:500×, B: 1000×; C:2500×)



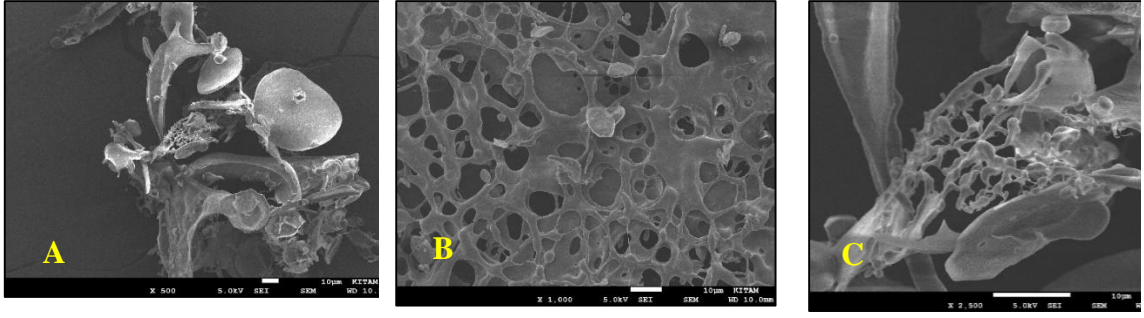
Şekil 4.44. *Lb. plantarum* 1X36-1 tarafından üretilen EPS-g'nin SEM görüntüsü (A:500×, B: 1000×; C:2500×)



Şekil 4.45. *Lb. pentosus* 2X36-3 tarafından üretilen EPS-h'nin SEM görüntüsü (A:500×, B: 1000×; C:2500×)



Şekil 4.46. *Lb. pentosus* 2X37-4 tarafından üretilen EPS-i'nin SEM görüntüsü (A:500×, B: 1000×; C:2500×)



Şekil 4.47. *Lb. pentosus* 2X38-3 tarafından üretilen EPS-k'nın SEM görüntüsü (A:500×, B: 1000×; C:2500×)

EPS'lerin taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile üç farklı boyutta gözlenen yüzey yapısı görüntülerinden 500x ve 1000x büyütmelerde; düzgün yüzeyli elipsoik topak, dökülmüş yaprak, bal peteği, pürüzsüz yüzeyli pul veya tabakalar gibi çok farklı şekillerde yapıların görüldüğü tespit edilmiştir. 2500x büyütmede ise EPS'nin küresel, gözenekli, düzensiz şekillere ve pürüzsüz veya pürüzlü yüzeylere sahip yapılar içerdikleri görülmüştür. Wang et al. (2010) *Lb. plantarum* KF5 şuşundan üreten EPS'nin yüzey yapısının taramalı elektron mikroskobunda 10000x büyütmede pürüzsüz yüzeye sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Taramalı elektron mikroskobu ile bakteriyel EPS'lerin yüzey yapıları incelenen diğer çalışmaların sonucunda da Asgher et al. (2020); Ayyash et al. (2020a) düzgün pul, katman ve yaprak yapısına benzer yapıların görüldüğü, ancak daha yüksek büyütmelerde yüzeylerin düzensiz ve pürüzlü bir yapıya sahip olduğu belirtilmiştir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında, Samsun İl sınırları içerisinde temin edilen geleneksel olarak üretilmiş 37 adet fermente gıda ve 3 adet çiğ süt örneği ekzopolisakkarit üreticisi laktik asit bakteri izolasyonu için kaynak olarak kullanılmıştır. İzolasyon kaynağı olarak kullanılan gıdaların izolat çeşitliliğini etkileyeceği düşünülen temel özellikleri ile ekzopolisakkarit üreticisi laktik asit bakteri şuşlarının izolasyonu, tanımlanması ve üretilen EPS'lerin karakterizasyonu ve reoloji özellikleri belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar ve öneriler aşağıda özetlenmiştir.

1. Temin edilen fermente gıdalar ve çiğ sütü örneklerinin toplam asitlik, pH ve kuru madde özellikleri belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan yoğurt örneklerinin ortalama titrasyon asitliği değeri (laktik asit cinsinden) %1,03, pH değeri de 3,90, toplam kuru madde oranı ise %13,67 olarak tespit edilmiştir. Ama süzme yoğurt örneklerinin ortalama titrasyon asitliği değeri (laktik asit cinsinden) %1,63, pH değeri 4,23, toplam kuru madde oranı da %23,84 olarak belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan peynir örneklerinin ortalama titrasyon asitliği değerinin (laktik asit cinsinden) %0,52, pH değerinin 5,29, toplam kuru madde oranının da %32,80 olduğu tespit edilmiştir. Çökelek örneklerinin ortalama titrasyon asitlik değeri (laktik asit cinsinden) %0,15, pH değeri 5,51, toplam kuru madde oranı da %29,28 olarak tespit edilmiştir. Çiğ süt örneklerinin titrasyon asitlik değeri ortalama %0,16 olarak (laktik asit cinsinden), pH değeri 6,14, toplam kuru madde içeriği de %13,65 olarak belirlenmiştir. Turşu örneklerinin ortalama titrasyon asitliği %1,02 (laktik asit cinsinden), pH değeri 3,75, toplam kuru madde içeriği de %6,98 olarak tespit edilmiştir.
2. Temin edilen tüm fermente gıdalar ve çiğ sütü örneklerinin mikrobiyolojik özellikleri belirlenmiştir. Çalışma kapsamında kullanılan yoğurt örneklerin ortalama *Lactobacillus* spp. sayısı 7,1 log kob/g; *Lactococcus* spp. sayısı 7,74 log kob/g; TAMB sayısı da 6,18 log kob/g ve maya-küf sayısı 5,3 log kob/g olarak belirlenmiştir. Peynirlerin ortalama *Lactobacillus* spp. sayısı 6,9 log kob/g, *Lactococcus* spp. sayısı 7,08 log kob/g, TAMB sayısı 7,28 log kob/g ve maya-küf sayısı 5,93 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Ama süzme yoğurt

örneklerinin ortalama *Lactobacillus* spp. sayısı 6,27 log kob/g; *Lactococcus* spp. sayısı 6,11 log kob/g; TAMB sayısı da 6,68 log kob/g ve maya-küf sayısı 6,18 log kob/g olarak belirlenmiştir. Çökelek örneklerinin mikrobiyolojik analizleri sonucunda da; ortalama TAMB sayısı 6,28 log kob/g, *Lactobacillus* spp.bakteri sayısı 5,92 log kob/g, *Lactococcus* spp.bakteri sayısı 6,42 log kob/g ve maya-küf sayısı 6,11 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Çiğ sütün mikrobiyolojik analizleri sonucunda da ortalama TAMB sayısı 7,12 log kob/g, *Lactobacillus* spp.sayısı 6,29 log kob/g, *Lactococcus* spp.sayısı 6,83 log kob/g ve maya-küf sayısı 3,17 log kob/g olarak saptanmıştır. Turşu örneklerinde ortalama TAMB sayısı 6,52 log kob/g, *Lactobacillus* spp.sayısı 6,58 log kob/g, *Lactococcus* spp.sayısı 6,33 log kob/g ve maya-küf sayısı 5,5 log kob/g olarak saptanmıştır.

3. İzolasyon kaynağı olarak kullanılan fermente gıdalar ve çiğ süt örneklerinden farklı koloni morfolojisine sahip olmalarına da dikkat edilerek toplam 616 adet LAB koloni seçilmiş ve saf kültür olarak geliştirilmiştir. Tüm izolatlar Gram boyama ve katalaz testi uygulanmış ve Gram (+), katalaz (-) olarak saptanan toplam 520 adet muhtemel LAB izolatı elde edilmiştir.
4. Muhtemel LAB izolatlarının EPS üretimi katı besiyerinde test edilmiş ve uzama özelliği gösteren toplam 84 adet izolat potansiyel EPS üreticileri olarak seçilmiştir. Potansiyel EPS üreticisi olarak seçilen izolatlardan farklı özelliklere sahip olan 41 adet LAB izolatı 100 mL kültürde çoğaltılarak EPS üretmeleri sağlanmıştır. EPS üretimi en yüksek/verimli olan ve farklı türlere ait olabileceği düşünülen toplam 10 adet izolat seçilerek EPS üretici olarak çalışmada devam edilmiştir ve 16S rDNA dizi analiz yapılmıştır. LAB izolatlarının 16S rDNA dizi analizi sonucunda en az %99,50 benzerlikle 6 adedi *Lactiplantibacillus plantarum subsp. plantarum*, 3 adedi *Lactiplantibacillus pentosus*, 1 adedi *Levilactobacillus brevis* olarak tanımlanmıştır. Bu sonuçlara göre analiz edilen gıdaların florasında bulunan EPS üreticilerinin *Lb. plantarum* türlerinin ağırlıklı olduğu anlaşılmıştır.
5. 16S rDNA dizi analize göre tanımlanmış çalışma kapsamında kullanılmaya devam edilen 10 adet LAB'lerden ekzopolisakkarit üretimi sağlayıp EPS'lerin miktarı belirlenmiştir. LAB'lerin EPS üretim miktarı 0.12 g/L - 0.31 g/L

arasında olduğunu anlaşıldı. EPS üretim miktarı bakteri türlerine göre baktığımızda en düşük EPS üretimi *Lb. plantarum* 1X18-5, *Lb. plantarum* 2X21-2 ve *Lb.pentosus* 2X38-şuşlarında, en yüksek üretimi ise; *Lb. pentosus* 2X36-3 şuş tarafından tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlarımız düşük oran da olsa da benzer çalışmalarda tespit edilen sonuçlar ile benzer olduğunu anlaşılmıştır.

6. 10 adet LAB'lerin üretilen EPS'lerin ana fonksiyonel grup içerikleri belirlendiğinde; FTIR spektrumunun 817,53 - 3321,09 cm⁻¹ aralığında pik değerlerine sahip olduğu ve bunun monosakkaritler, polisakkaritler ve karbonhidratların varlığına işaret ettiği belirlenmiştir. Takiben EPS'lerin maltoz, glukoz, galaktoz ve fruktoz şekerlerini içerdikleri saptanmıştır. Ayrıca galaktozun tüm EPS'lerde en yüksek oranda bulunan şeker olduğu gözlenmiştir. Ardından EPS'lerinin termal davranış özelliği belirlenmiştir. EPS numunelerin termal davranış özelliklerine baktığımızda kristallenme sıcaklık pik değerleri 72,55°C – 86,35°C aralığında görülürken erime sıcaklık pik değerleri 68,05°C – 301,58°C arasında olup her bir EPS'nin bozulma (erime) sıcaklığının farklı olduğu anlaşılmıştır. Böylece EPS'lerin karakterizasyonu sonucu elde edilen tüm analiz sonuçlarının benzer çalışmaların sonuçlarından farklılık göstermediği anlaşılmıştır.
7. EPS'lerinin gıda endüstrisinde kullanılabilmesi ve kullanılmasını kolaylaştırmasına dair bilgi almak amacıyla reolojik özelliklerini belirlenmiştir. Analiz sonucunda EPS'lerin kayma basıncı değerleri (viskozite) kesme hızına bağlı olarak azaldığını ve 2X36-3 izolat kodlu *Lb.pentosus* üretilen EPS-h en yüksek viskozite değerine sahip olup psedoplastik davranış gösterdiği gözlenmiştir. Ayrıca EPS-h'sinin dinamik fazdaki reolojik özelliği belirlendiğinde elastik davranış yüksek olduğunu anlaşılmıştır. Takiben çalışmaya dahil edilen tüm EPS'lerinin sıcaklığa bağlı akış davranış özellikleri belirlendiğinde; EPS-h'den hariç tüm EPS numunelerinin genel olarak 40°C sıcaklığa ulaştığında yapısal olarak tamamen bozulduğu gözlenmiştir. Ancak EPS-h örneğimiz sıcaklık 70°C ulaştığında viskozite değeri 0,1 (Pa.s) olup daha yüksek sıcaklıklarda azalma göstermiştir.

Bu çalışmanın sonuca göre *Lb.pentosus* 2X36-3 izolatı tarafından üretilen EPS-h'nin, temel ve viskozite özellikleri nedeniyle gıdaların yapısal özelliklerinin iyileştirilmesinde kullanılması önerilmektedir. Ancak diğer LAB tarafından üretilen EPS'lerin viskozite özellikleri düşük olmasına rağmen EPS üretici suşların starter olarak fermente gıda üretiminde kullanılması ürün yapısına olumlu katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Abinaya, M., Vaseeharan, B., Divya, M., Vijayakumar, S., Govindarajan, M., Alharbi, N. S., Benelli, G. (2018). Structural characterization of bacillus licheniformis dahb1 exopolysaccharide antimicrobial potential and larvicidal activity on malaria and zika virus mosquito vectors. *Environmental Science and Pollution Research*, 25 (19), 18604-18619.
- Abreu, H., Simas, F. F., Smiderle, F. R., Sovrani, V., Dallazen, J.L., Maria-Ferreira, D., Iacomini, M. (2019). Gelling functional property, anti-inflammatory and antinociceptive bioactivities of β -D-glucan from the edible mushroom pholiota nameko. *International Journal of Biological Macromolecules*, 122, 1128-1135.
- Adebayo-Tayo, B. C., Onilude, A. A. (2008). Screening of lactic acid bacteria strains isolated from some nigerian fermented foods for EPS production. *World Applied Sciences Journal*, 4 (5), 741-747.
- Adesulu-Dahunsi, A. T., Jeyaram, K., Sanni, A. I., Banwo, K. (2018). Production of exopolysaccharide by strains of *Lactobacillus plantarum* YO175 and OF101 isolated from traditional fermented cereal beverage. *Peer Journal*, 6, 5326.
- Ahi, S. (2011). Bazı laktik asit bakterilerinin ekzopolisakkarit (EPS) üretimi ile antibiyotik dirençliliklerinin araştırılması. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara 2011.
- Akın, M. S., Yapık, Ö., Akın, M. B. (2016). Adıyaman ilinde süt üretim çiftliklerinden ve toplayıcılardan sağlanan sütlerin bazı özellikleri. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 20 (4), 253-265.
- Aljahani, A.H. (2020). Microbiological and physicochemical quality of vegetable pickles. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 19 (6), 415-421.
- Ambalam, P., Kondepudi, K. K., Nilsson, I., Wadström, T., Ljungh, A. (2012). Bile stimulates cell surface hydrophobicity, Congo red binding and biofilm formation of *Lactobacillus* strains. *Federation of European Microbiological Societies. Microbiology Letters*, 333 (1), 10-19.
- Anonim (2009). Türk gıda kodeksi fermente süt ürünleri tebliği, Ankara, Türkiye, 2009.
- Anonim (2017). Türk gıda kodeksi çiğ sütün arzına dair tebliği, Ankara, Türkiye, 2017.
- Anonim, (2017). Türk Gıda Kodeksi Çiğ Sütün Arzına Dair Tebliğ (No: 2017/20) 27 Nisan 2017 tarihli Resmi Gazete, Sayı: 30050, Ankara, 2017.
- Anonymous, (2020). List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN). Founded in 1997 by Jean P. Euzéby, <https://lpsn.dsmz.de/> (Erişim: 03.11.2020).

- Anonymous, (2021). List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN). Founded in 1997 by Jean P. Euzéby, <https://lpsn.dsmz.de/> (Erişim: 09.03.2021).
- Arabacı, Ç. (2019). Streptokoklar. Tıbbi Mikrobioloji Uzmanı, S.B.Ü. Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi cigdem.arabaci@okmeydani.gov.tr
- Arendt, E. K., Ryan, L. A., Dal Bello, F. (2007). Impact of sourdough on the texture of bread. *Food Microbiology*, 24 (2), 165-174.
- Arık, G. (2018). Çeşitli gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin (LAB) tanımlanması ve biyofilm oluşturma yetenekleri ile antibiyotik dirençliliklerinin araştırılması. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Bursa 2018.
- Asgher, M., Urooj, Y., Qamar, S. A., Khalid, N. (2020). Improved exopolysaccharide production from *Bacillus licheniformis* MS3: optimization and structural/functional characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 151, 984-992.
- Aslan, D. (2017). Çiğ sütte asitlik tayini. Erciyes Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü *Gıda Analiz ve Teknolojisi Laboratuvar Föyü*, 1-5.
- Aslım, B. (1994). The effect of some physical and chemical mutagens on the metabolic and antimicrobial activity of the *L. bulgaricus* and *S. thermophilus*. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara 1994.
- Aydın, F., Ardıç, M. (2019). Farklı illerden toplanan sıkma peynirlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri. *Gıda*, 44 (5), 826-836.
- Aytar, P., Buruk, Y., Çabuk, A. (2013). *Streptococcus equi* ile hyaluronik asit üretiminde optimum koşulların plackett burman yöntemi ile belirlenmesi. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 11 (1): 28-35
- Ayyash, M., Abu-Jdayil, B., Itsaranuwat, P., Galiwango, E., Tamiello-Rosa, C., Abdullah, H., Hamed, F. (2020a). Characterization, bioactivities, and rheological properties of exopolysaccharide produced by novel probiotic *Lactobacillus plantarum* C70 isolated from camel milk. *International Journal of Biological Macromolecules*, 144, 938-946.
- Ayyash, M., Stathopoulos, C., Abu-Jdayil, B., Esposito, G., Baig, M., Turner, M. S., Osaili, T. (2020b). Exopolysaccharide produced by potential probiotic *Enterococcus faecium* MS79: characterization, bioactivities and rheological properties influenced by salt and pH. *Lebensmittel Wissenschaft Technologie*, 131, 109741.
- Azadnia, P., Khan Nazer, A.H. (2009). Identification of lactic acid bacteria isolated from traditional drinking yoghurt in tribes of Fars province. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 10 (3), 235-240.
- Bachtarzi, N., Kharroub, K., Ruas-Madiedo, P. (2019). Exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria isolated from traditional Algerian dairy

- products and their application for skim-milk fermentations. *Lebensmittel Wissenschaft Technologie*, 107, 117-124.
- Bakırcı, İ., Tohma, G. Ş., Yüksel, A. K. (2015). Erzurum piyasasında satışa sunulan yoğurtların fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerinin incelenmesi. *Akademik Gıda*, 13 (2), 127-134.
- Bıyıklı, A. (2020). *Lactococcus lactis*'te 4,6 alfa-glukanotransferaz enziminin hücre dışı rekombinat üretimi. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Yüksek Lisans Tezi, Denizli 2020.
- Bounaix, M. S., Gabriel, V., Morel, S., Robert, H., Rabier, P., Remaud-Simeon, M., Gabriel, B., Fontagne-Faucher, C. (2009). Biodiversity of exopolysaccharides produced from sucrose by sourdough lactic acid bacteria. *Journal Agricultural Food Chem.*, 57, 10889–10897.
- Bragadeeswaran, S., Jeevapriya, R., Prabhu, K., Rani, S.S., Priyadharsini S., Balasubramanian, T. (2011). Exopolysaccharide production by *Bacillus cereus* GU812900, fouling marine bacterium. *African Journal of Microbiology Research*, 5 (24), 4124-4132.
- Cai, Y., Pang, H., Kitahara, M., Ohkuma, M. (2012). *Lactobacillus nasuensis* sp. nov., a lactic acid bacterium isolated from silage, and emended description of the genus *Lactobacillus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62 (5), 1140-1144.
- Carr, F. J., Chill, D., Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28 (4), 281-370.
- Celem, E., Celik, O., Tarakci, Z. (2018). The effects of ripening on some physicochemical and microbiological characteristics of Çökelek cheeses: A market survey of fresh and skin-ripened Çökelek. *Journal of Central European Agriculture*, 19 (2), 335-348.
- Cerit, Z. G. (2020). Characterization of microbiota isolated from white cheese and milk processing facility. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara 2020.
- Ceyhan, N. (2008). Çeşitli sistemlerde sorun oluşturan hücre dışı polisakkarit üreten mikroorganizmaların polisakkaritlerinin biyo-parçalanması ve parçalanma etkinliğinin saptanması. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, İzmir 2008.
- Ceylan, Z., Biberoglu, Ö. (2013). Geleneksel olarak üretilen yoğurtların bazı kimyasal özellikleri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 8 (1), 43-51.
- Chun, J., Goodfellow, M. (1995). A Phylogenetic Analysis of the Genus *Nocardia* with 16S rRNA Gene Sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 45 (2), 240–245. <https://doi.org/10.1099/00207713-45-2-240>.
- Costa, N. E., Hannon, J. A., Guinee, T. P., Auty, M. A. E., McSweeney, P. L. H., Beresford, T. P. (2010). Effect of exopolysaccharide produced by isogenic

- strains of *Lactococcus lactis* on half-fat Cheddar cheeses. *Journal of Dairy Science*, 93 (8), 3469-3486.
- Coşkun, F., Arıcı, M. (2005). Sütlü biber turşusu yapımı üzerine bir araştırma. *Akademik Gıda*, 3(1), 13-15.
- Cruz, M., Freitas, F., Torres, C. A., Reis, M. A., Alves, V. D. (2011). Influence of temperature on the rheological behavior of a new fucose-containing bacterial exopolysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules*, 48 (4), 695-699.
- Çelik, H., Durak, Y., Uysal, A. (2016). Bazı ticari ve ev yapımı yoğurtlardan izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik duyarlılıkları. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 42 (2), 149-160.
- Çelik, M. N., Vural, A., Erkan, M. E. (2019). Diyarbakır yöresindeki çiğ koyun sütlerinin mikrobiyolojik, fiziko-kimyasal ve organoleptik özelliklerinin araştırılması. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16 (3), 178-183.
- Çetin, B., Azize, Atik., Karasu, S. (2014). Kırklareli’nde üretilen yoğurt ve ayranların fizikokimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi. *Akademik Gıda*, 12 (2), 57-60.
- Çetin, B., Yıldız, H., Çakmakçı, S. (2016). Turşu fermantasyonunda kullanılabilecek laktik asit bakterilerinin belirlenmesi ve probiyotik turşu üretimi için uygun şuşların seçimi. Tübitak 3001 Proje no: 214O719, Ankara 2017.
- Çetin, F. (2011). The effects of the organizational psychological capital on the attitudes of commitment and satisfaction: A public sample in Turkey. *European Journal of Social Sciences*, 21 (3), 373-380.
- Çifci, M. M. (2017). Ekşi hamur mayasından izole edilen *lactobacillus* türlerinin klasik ve moleküler yöntemlerle tanımlanması. Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Yüksek Lisans Tezi, Konya 2017.
- Darsanaki, R. K., Aliabadi, M. A., Chakoosari, M. M. D. (2013). Antibiotic resistance of lactic acid bacteria. *Scientific Journal of Microbiology*, 2 (11), 201-206.
- De Souza, C.J., Ramos, A.V., Câmara, P.B., Gulão, E.S., de Campos, M.F., Garcia-Rojas, E.E. (2015). Polymeric complexes obtained from the interaction of bovine serum albumin and κ -carrageenan. *Food Hydrocolloids*, 45, 286-290.
- De Vuyst, L. D., Schrijvers, V., Paramithiotis, S., Hoste, B., Vancanneyt, M., Swings, J., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E., Messens, W. (2002). The biodiversity of lactic acid bacteria in greek traditional wheat sourdoughs is reflected in both composition and metabolite formation. *Applied and Environmental Microbiology*, 68 (12), 6059–6069
- Demir, E., Kaygusuz, E., Kılıç, G. B., Sedef, Y., Soyuçok, A. (2017). Yoğurt örneklerinden izole edilmiş laktik asit bakterilerinin moleküler yöntemlerle

- tanımlanması ve ekzopolisakkarit üretimlerinin belirlenmesi. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8 (Ek (Suppl. 1), 262-267.
- Demir, P., Öksüztepe, G. (2018). Elazığ'da satışa sunulan şavak tulum peynirlerinin aflatoksin M1 (AFM1) ve bazı kimyasal parametreler bakımından incelenmesi. *Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 32 (1), 45 - 51
- Dertli, E. (2013). Biochemistry and functional analysis of exopolysaccharide production in *Lactobacillus johnsonii*. University of East Anglia for the degree of Doctor of Philosophy Institute of Food, England 2013.
- Dertli, E., Yılmaz, M. T., Tatlısu, N. B., Toker, O. S., Cankurt, H., 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.
- Devlieghere, F., Vermeiren, L., Debevere, J. (2004). New preservation technologies: possibilities and limitations. *International Dairy Journal*, 14 (4), 273-285.
- Diker, E. (2019). Baldan izole edilen *laktobacillus* cinsi bakterilerin bazı probiyotik özelliklerinin araştırması. Gazi Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara 2019.
- Doğan, İ. S., Akbaş, Ö., Tunçtürk, Y. (2012). Yağı azaltılmış kek üretiminde ekzopolisakkarit kullanımı. *Gıda Dergisi*, 37 (3), 141- 148.
- Donkor, O. N., Henriksson, A., Vasiljevic, T., Shah, N.P. (2006). Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, 16 (10), 1181-1189.
- Donot, F., Fontana, A., Baccou, J. C., Schorr-Galindo, S. (2012). Microbial exopolysaccharides: main examples of synthesis, excretion, genetics and extraction. *Carbohydrate Polymers*, 87 (2), 951-962.
- Duboc, P., Mollet, B. (2001). Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *International Dairy Journal*, 11, 759-768.
- Durak, Y., Keleş, F., Uysal, A., Aladağ, M. O. (2008). Konya yöresi taze ev yapımı yoğurtların mikrobiyolojik özelliklerinin araştırılması. *Selçuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 22 (44), 113-117.
- Duygu, A., Kuleaşan, H. (2019). Farklı kaynaklardan izole edilmiş laktik asit bakterilerin ekzopolisakkarit üretim ve kolesterol asimilasyon yeteneklerinin belirlenmesi. *Gıda*, 44 (2), 191-201.
- Erdem, G. (2016). Elazığ'da tüketime sunulan tulum peynirlerinde histamin düzeyleri ile bazı kimyasal kalite parametreleri üzerine araştırmalar. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Elazığ 2016.
- Ergene, E., Avcı, A. (2016). Mikrobiyel ekzopolisakkaritler. *Sakarya University Journal of Science*, 20 (2), 193-202.

- Ermiş, E., Poyraz, E., Dertli, E., Yılmaz, M. T. (2020). Optimization of exopolysaccharide production of *Lactobacillus brevis* E25 using RSM and characterization. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 24 (1), 151-160.
- Evren, M., Apan, M., Tutkun, E., Evren, S. (2011). Geleneksel fermente gıdalarda bulunan laktik asit bakterileri. II. *Geleneksel Gıdalar Sempozyumu*, 27-29.
- Feldmane, J., Semjonovs, P., Ciprovica, I. (2013). Potential of exopolysaccharides in yoghurt production. *World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Nutrition and Food Engineering*, 7 (8) 767-770
- Felsenstein J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39, 783-791.
- Feng, F., Zhou, Q., Yang, Y., Zhao, F., Du, R., Han, Y., Zhou, Z. (2019). Structural characterization of glucan produced by *Lactobacillus sake* L-7 from sausage. *Transactions of Tianjin University*, 25 (1), 78-84.
- Fguiri, I., Ziadi, M., Atigui, M., Ayeb, N., Arroum, S., Assadi, M., Khorchani, T. (2016). Isolation and characterisation of lactic acid bacteria strains from raw camel milk for potential use in the production of fermented Tunisian dairy products. *International Journal of Dairy Technology*, 69 (1), 103-113.
- Freitas, F., Alves, V.D., Pais, J., Costa, N., Oliveira, C., Mafra, L., Hilliou, L., Oliveir, R., Reis, M.A.M. (2009). Characterization of an extracellular polysaccharide produced by a *Pseudomonas* strain grown on glycerol. *Bioresource Technology*, 100, 859-865.
- Gallardo-Escamilla, F. J., Kelly, A. L., Delahunty, C. M. (2007). Mouthfeel and flavour of fermented whey with added hydrocolloids. *International Dairy Journal*, 17 (4), 308-315.
- Garrity, G. M., Holt, J. G. (2001). The road map to the manual. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 35, 119-166.
- Ghotbi, M., Soleimani-Zad, S., Sheikh-Zeinoddin, M. (2011). Identification of *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus paraplantarum* and *Lactobacillus plantarum* in Lighvan cheese with 4 month ripening period by means of recA gene sequence analysis. *African Journal of Biotechnology*, 10 (10), 1902-1906.
- Goh, H. F., Philip, K. (2015). Purification and characterization of bacteriocin produced by *Weissella confusa* A3 of dairy origin. *PloS one*, 10 (10), 1-17.
- Gülbandılar, A., Mehtap, O., Dönmez, M. (2017). Fonksiyonel gıda olarak kullanılan probiyotikler ve özellikleri. *Turkish Journal of Scientific Reviews*, 10 (1), 44-47.
- Güngör, A. Ç., Gürbüz, S., Akın, M. S., Akın, M. B., Palabıçak, B. (2020). Mardin'de satılan çiğ sütlerin bazı fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 9 (1), 1-5.

- Halkman, A. K. (2005). Gıda mikrobiyolojisi uygulamaları. *Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri. Ankara.*
- Hammes, W. P., Vogel, R. F. (1995). The genus *Lactobacillus*, in the lactic acid bacteria. The genera of lactic acid bacteria, *Blackie Academics and Professionals*, 2, 19-55,
- Harutoshi, T. (2013). Exopolysaccharides of lactic acid bacteria for food and colon health applications. In *Lactic Acid Bacteria-R and D for Food. Health and Livestock Purposes. IntechOpen.* DOI: 10.5772/50839
- Hassan, A. N., Corredig, M., Frank, J. F. (2001). Viscoelastic properties of yogurt made with ropy and non-ropy exopolysaccharides producing cultures. *Milchwissenschaft*, 56 (12), 684-686.
- Herkmen, T. B. (2015). Mastitisli sığır sütlerinden izole edilen *Enterococcus faecium* şuşlarında GELE, ESP ve EFAAFM genlerinin varlığının incelenmesi. Andan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Aydın 2015.
- Hilbig, J., Loeffler, M., Herrmann, K., Weiss, J. (2019). Application of exopolysaccharide- forming lactic acid bacteria in cooked ham model systems. *Food Research International*, 119, 761-768.
- Holzappel, W. H., Wood, B. J. (2014). *Lactic acid bacteria: biodiversity and taxonomy. John Wiley and Sons. Rohrbach, Germany.*
- Holzappel, W. H., Wood, B. J. B. (1995). Lactic acid bacteria in contemporary perspective. In *The genera of lactic acid bacteria*, Springer, 1-6.
- Ismail, B., Nampoothiri, K. M. (2010). Production, purification and structural characterization of an exopolysaccharide produced by a probiotic *Lactobacillus plantarum* MTCC 9510. *Archives of Microbiology*, 192 (12), 1049-1057.
- İspirli, H., Özmen, D., Yılmaz, M. T., Sağdıç, O., Dertli, E. (2020). Impact of glucan type exopolysaccharide (EPS) production on technological characteristics of sourdough bread. *Food Control*, 107, 106812.
- İspirli, H., Sagdic, O., Yılmaz, M. T., Dertli, E. (2019). Physicochemical characterisation of an α -glucan from *Lactobacillus reuteri* E81 as a potential exopolysaccharide suitable for food applications. *Process Biochemistry*, 79, 91-96.
- Jakobsen, M., Narvhus, J. (1996). Yeasts and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products. *International Dairy Journal*, 6 (8-9), 755-768.
- Jukes T. H., Cantor C. R. (1969). Evolution of protein molecules. In Munro HN, editor, *Mammalian Protein Metabolism*, *Academic Press, New York*. 21-132.
- Kalkan, H., Arıcı, Ö., Aktan, N. (1999). Saf kültür kullanılarak kapari (*Capparis spp*) çiçek tomurcuklarından turşu yapımı. *Gıda*, 24 (6), 1-6

- Kansandee, W., Moonmangmee, D., Moonmangmee, S., Itsaranuwat, P. (2019). Characterization and *Bifidobacterium* sp. growth stimulation of exopolysaccharide produced by *Enterococcus faecalis* EJRM152 isolated from human breast milk. *Carbohydrate Polymers*, 206, 102-109.
- Karaçıl, M. Ş., Nilüfer, A. (2013). Dünyada üretilen fermente ürünler: tarihsel süreç ve sağlık ile ilişkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27 (2), 163-174.
- Karahan, L. E. (2016). Batman'da Tüketime sunulan yoğurtların bazı kimyasal ve tekstürel özellikleri. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 6 (2/2), 59-65
- Karakuş, M. Ş. (2013). Contains prebiotic fiber effect on some quality characteristics strawberry flavored of acidophilus-bifidus yoghurts to the addition of stevia. Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa 2013.
- Karasu, E. N., Ermis, E. (2019). Determination of the effect of exopolysaccharide (EPS) from *Lactobacillus brevis* E25 on adhesion of food powders on the surfaces, using the centrifuge technique. *Journal of Food Engineering*, 242, 106-114.
- Karasu, N. (2006). Turşu ve zeytinden antagonistik ve probiyotik özellikte laktik starter kültür eldesi. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Denizli 2006.
- Kavita, K., Mishra, A., Jha, B. (2011). Isolation and physico-chemical characterisation of extracellular polymeric substances produced by the marine bacterium *Vibrio parahaemolyticus*. *Biofouling*, 27 (3), 309-317.
- Kaya, H. I. (2019). Laktik asit bakterileri tarafından üretilen patojene spesifik bakteriyosinlerin karakterizasyonu ve kokteyl olarak kullanımı. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Doktora Tezi, Denizli 2019.
- Kazancıgil, E. (2018). Çeşitli tulum peynirlerinden izole edilmiş laktik asit bakterilerinin bazı teknoloji özelliklerinin belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Yüksek Lisans Tezi, Konya 2018.
- Keleş, A., Aygün, O., Ardıç, M. (2004). Hatay yöresinde taze olarak tüketime sunulan sürkün (çökelek) bazı mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri. *Veteriner Bilim. Dergisi* 20 (3), 59-62.
- Kesenaş, H., Akbulut, N. (2010). İzmir ilinde satılan sokak sütleri ile orta ve büyük ölçekli çiftliklerde üretilen sütlerin özelliklerinin belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 47 (2), 161-169.
- Kezer, G. (2019). Doğal ekşi hamurlardan laktik asit bakterilerin izolasyonu ve tanımlanması ile bazı probiyotik özelliklerinin saptanması. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara 2019.

- Kıran, F., Osmanağaoğlu, Ö. (2012). Gram-Pozitif bakteriyosinlerin genel özellikleri ve güncel sınıflandırılması. *Academic Food Journal/Akademik Gıda*, 10 (4),91-101.
- Kırma, I. (2016). Gıda kaynaklı laktik asit bakterileri kullanılarak ekzopolisakkarit üretimi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul 2016.
- Kim, O. S., Cho, Y. J., Lee, K., Yoon, S. H., Kim, M., Na, H., Park, S. C., Jeon, Y. S., Lee, J. H., Yi, H., Won, S, Chun, J. (2012). Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62, 716–721.
- Klock, J. H., Wieland, A., Seifert, R., Michaelis, W. (2007). Extracellular polymeric substances (EPS) from cyanobacterial mats: characterisation and isolation method optimisation. *Marine Biology*, 152 (5), 1077-1085.
- Koçak, C., Gürsel, A., Ergül, E., Gürsoy, A. (1988). Beyaz Peynirde Titrasyon Asitliğinin Belirlenmesi Üzerinde Bir Araştırma. *Gıda*, 13 (5), 337-339.
- Köse, Ş. (2018). Kış Yoğurdu. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(2), 115-121.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35, 1547-1549.
- Lane, D. J. (1991). 16S/23S rRNA sequencing. *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*, 18, 115–175. <https://ci.nii.ac.jp/naid/10004891521/>
- Li, X.W., Lv, S., Shi, T.T., Liu, K., Li, Q.M., Pan, L.H., Luo, J.P. (2020). Exopolysaccharides from yoghurt fermented by *Lactobacillus paracasei*: Production, purification and its binding to sodium caseinate. *Food Hydrocolloids*, 102, 105635.
- Madhuri, K. V., Prabhakar, K. V. (2014). Microbial exopolysaccharides: biosynthesis and potential applications. *Oriental Journal of Chemistry*, 30 (3), 1401-1410.
- Madigan, T. M., Martinko, J. M. (2012). Prokaryotik çeşitlilik: bacteria. *Mikroorganizmaların Biyolojisi*, Ankara: Palme Yayıncılık, 329-419,
- Makarova, K., Slesarev, A., Wolf, Y., Sorokin, A., Mirkin, B., Koonin, E. (2006). Comparative genomics of the lactic acid bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103 (42), 15611-15616.
- Makarova, K.S., Koonin, E.V. (2007). Evolutionary genomics of lactic acid bacteria. *Journal of Bacteriology*, 189(4), 1199-1208.
- Montersino, S., Prieto, A., Muñoz, R., De las Rivas, B. (2008). Evaluation of exopolysaccharide production by *Leuconostoc mesenteroides* strains isolated from wine. *Journal of Food Science*, 73 (4), 196-199.

- Nawaz, M., Wang, J., Zhou, A., Ma, C., Wu, X., Moore, J. E., Xu, J. (2011). Characterization and transfer of antibiotic resistance in lactic acid bacteria from fermented food products. *Current Microbiology*, 62 (3), 1081-1089.
- Neria-González, I., Wang, E. T., Ramírez, F., Romero, J. M., Hernández-Rodríguez, C. (2006). Characterization of bacterial community associated to biofilms of corroded oil pipelines from the southeast of Mexico. *Anaerobe*, 12 (3), 122-133.
- Odabaş, H., Metin, B. (2020). Fasülye turşusu salamurasının temel kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi. *İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2 (3), 32-34.
- Omak Keskin, G. (2020). Yenilebilir mantarın bazı *laktobacillus* türlerin gelişmesi üzerine etkisi. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Bursa 2020.
- Orsod, M., Joseph, M., Huyop, F. 2012. Characterization of Exopolysaccharides Produced by *Bacillus cereus* and *Brachybacterium* sp. Isolated from Asian Sea Bass (*Lates calcarifer*). *Malaysian Journal of Microbiology*, 8 (3), 170-174.
- Öner, E. T., Hernández, L., Combie, J. (2016). Review of levan polysaccharide: from a century of past experiences to future prospects. *Biotechnology advances*, 34(5), 827-844.
- Öner, Z., Sarıdağ, A. M. (2019). Keçi sütünden üretilmiş beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince meydana gelen değişimler. *Gıda*, 44 (3), 523-533.
- Önganer, A. N., Kırbağ, S. (2009). Diyarbakır'da taze olarak tüketilen çökelek peynirlerinin mikrobiyolojik kalitesi. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 25 (1), 24-33.
- Önlü, H. (2018). Laktik asit bakterilerinin bazı şuşlarında *L-laktik dehidrogenaz* geni ile ilgili nakavt çalışmaları. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara 2018.
- Özdemir, N., Çon, A. H. (2017) Ekşihamur üretimi için ekzopolisakkarit üreticisi fonksiyonel laktik asit bakterisi eldesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, BAP Proje Raporu, No: PYO.MUH.1905.16.004, Samsun 2017.
- Özel, S. (2012). Tarhana hamuru fermentasyonunun mikrobiyal taksonomik yapısı ve populasyon dinamiğinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Denizli 2012.
- Özkaya, T.(2017). Melastan dekstran üreten *Leuconostoc*'ların izolasyonu, dekstran üretimi ve özellikleri. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Gıdan Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul 2017.
- Özlü, H. (2015). Bazı peynirlerden izole edilen laktik asit bakterilerin bakteriyosin üretme yeteneği. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Gıda Hijyen ve Teknolojisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, Erzurum 2015.

- Özlu, H., Atasever, M. (2019). Bacteriocinogenic bacteria isolated from Civil, Kashar and White cheeses in Erzurum, Turkey. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 66 (2), 47-153.
- Patel, S., Majumder, A., Goyal, A. (2012). Potentials of exopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Indian Journal of Microbiology*, 52 (1), 3-12.
- Pinheiro, C. C. (2013). Exopolysaccharide production by *Enterobacter A47*: optimization of cultivation conditions and study of polymer functional properties. Doctoral dissertation, Faculdade de Ciências e Tecnologia. 2013
- Pintado, A. I., Ferreira, J. A., Pintado, M. M., Gomes, A. M., Malcata, F. X., Coimbra, M. A. (2020). Efficiency of purification methods on the recovery of exopolysaccharides from fermentation media. *Carbohydrate Polymers*, 231, 115703.
- Pyz-Lukasik, R., Knysz, P., Gondek, M. (2018). Hygiene quality and consumer safety of traditional short-and long-ripened cheeses from Poland. *Journal of Food Quality*, Vol (2018) 8732412, 1-7.
- Ratkovich, N., Horn, W., Helmus, F. P., Rosenberger, S., Naessens, W., Nopens, I., Bentzen, T. R. (2013). Activated sludge rheology: a critical review on data collection and modelling. *Water Research*, 47 (2), 463-482.
- Ripari, V. (2019). Techno-functional role of exopolysaccharides in cereal-based, yogurt-like beverages. *Beverages*, 5 (1), 1-13
- Rodríguez-Carvajal, M. A., Sánchez, J. I., Campelo, A. B., Martínez, B., Rodríguez, A., Gil-Serrano, A. M. (2008). Structure of the high-molecular weight exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus pentosus* LPS26. *Carbohydrate Research*, 343 (18), 3066-3070.
- Ruas-Madiedo, P., De Los Reyes-Gavilán, C. G. (2005). Invited review: methods for the screening, isolation, and characterization of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science*, 88 (3), 843-856.
- Ruas-Madiedo, P., Hugenholtz, J., Zoon, P. (2002). An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 12 (2-3), 163-171.
- Saadat, Y. R., Khosroushahi, A. Y., Gargari, B. P. (2019). A comprehensive review of anticancer, immunomodulatory and health beneficial effects of the lactic acid bacteria exopolysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 217, 79-89.
- Sağlam, H., Karahan, A. G. (2017) Laktik asit bakterilerinin plazmidleri ve bunların özellikleri. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10 (2), 252-285.
- Saif, F. A. A., Sakr, E. A. (2020). Characterization and bioactivities of exopolysaccharide produced from probiotic *Lactobacillus plantarum* 47FE and *Lactobacillus pentosus* 68FE. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 24, 100231.

- Saitou, N., Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4, 406-425.
- Samal, S. (2012). *Production and characterization of Extracellular Polymeric Substances in Rhizobium with different carbon sources*. National Institute of Technology, Doctoral dissertation, Rourkela 2012.
- Sánchez, J.I., Martínez, B., Guillén, R., Jiménez-Díaz, R., Rodríguez, A. (2006). Culture conditions determine the balance between two different exopolysaccharides produced by *Lactobacillus pentosus* LPS26. *Applied and Environmental Microbiology*, 72 (12), 7495-7502.
- Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E., Vernon-Carter, E.J. (2004). Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers, *International Dairy Journal*, 14 (2), 151-159.
- Saravanan, C., Shetty, P.K.H. (2016). Isolation and characterization of exopolysaccharide from *Leuconostoc lactis* KC117496 isolated from idli batter. *International Journal of Biological Macromolecules*, 90, 100-106.
- Saricaoglu, F. T. (2020). Application of high-pressure homogenization (HPH) to modify functional, structural and rheological properties of lentil (*Lens culinaris*) proteins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 144, 760-769.
- Sasikumar, K., Vaikkath, D.K., Devendra, L., Nampoothiri, K.M. (2017). An exopolysaccharide (EPS) from a *Lactobacillus plantarum* BR2 with potential benefits for making functional foods. *Bioresource Technology*, 241, 1152-1156.
- Seo, B. J., Bajpai, V. K., Rather, I. A., Park, Y. H. (2015). Partially purified exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* YML009 with total phenolic content, antioxidant and free radical scavenging efficacy. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 49 (4), 282-292.
- Serin, Y. (2016). Bakteri kaynaklı ekzopolisakkaritlerin viskoziteye etkisinin belirlenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İstanbul 2016.
- Shi, Q., Juvonen, M., Hou, Y., Kajala, I., Nyyssölä, A., Maina, N. H., Tenkanen, M. (2016). Lactose- and cellobiose-derived branched trisaccharides and a sucrose-containing trisaccharide produced by acceptor reactions of *Weissella confusa* dextransucrase. *Food Chemistry*, 190, 226-236.
- Sidek, N. L., Halim, M., Tan, J. S., Abbasiliasi, S., Mustafa, S., Ariff, A. B. (2018). Stability of bacteriocin-like inhibitory substance (BLIS) produced by *Pediococcus acidilactici* kp10 at different extreme conditions. *BioMed Research International*, 1-11.
- Solmaz, K. B. (2015). *Bacillus pseudomycolides*'ten EPS üretimi ve karakterizasyonu. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Molekül Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Denizli 2015.

- Soyuçok, A., Teslime, E., Kılıç, G. B. (2016). Ekzopolisakkaritlerin zellikleri ve gıda sanayindeki nemi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5, 332-344.
- Sönmez, Ş., Önal Darılmaz, D., Beyatlı, Y. (2018). Determination of the relationship between oxalate degradation and exopolysaccharide production by different *Lactobacillus* probiotic strains. *International Journal of Dairy Technology*, 71 (3), 741-752.
- Sun, Z., Yu, J., Dan, T., Zhang, W., Zhang, H. (2014). Phylogenesis and evolution of lactic acid bacteria. In *Lactic acid bacteria* (2), 1-101.
- Suresh Kumar, A., Mody, K., Jha, B. (2007). Bacterial exopolysaccharides–a perception. *Journal of Basic Microbiology*, 47 (2), 103-117.
- Sutherland I. W. (1997). Microbial exopolysaccharide synthesis, in extracellular microbiya polysaccharidel. *Journal of the Chemical Society*, 11 (2), 40-57.
- Şen, E. (2019). Farklı xanthomonas bakterileri kullanılarak üzüm posasından ksantan gam üretimi. Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ 2019.
- Şentürk, D. Z., Dertli, E., Erten, H., Şimşek, Ö. (2020). Structural and technological characterization of ropy exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Tarhana. *Food Science and Biotechnology*, 29 (1), 121-129.
- Şimşek, B., Sağdıç, O. (2006). Isparta ve yöresinde üretilen dolaz (tort) peynirinin bazı kimyasal ve mikrobiyolojik zellikleri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10 (3), 346-351.
- Şimşek, O., Arıcı, M. (1994). Peynirlerde bulunabilen patojen mikroorganizmalar ve bunlardan kaynaklanan hastalıklar. Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Yayınları: 125, 249-252.
- Şimşek, Ö., Çon, A. H., Tulumoğlu, Ş. (2006). Isolating lactic starter cultures with antimicrobial activity for sourdough processes. *Food Control*, 17 (4), 263-270.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S. (2011). MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Microbiology Evolutionary*, 28 (10), 2731-2739.
- Tassou, C. C., Panagou, E. Z., Katsaboukakis, K. Z. (2002). Microbiological and physicochemical changes of naturally black olives fermented at different temperatures and NaCl levels in the brines. *Food Microbiology*, 19 (6), 605-615.
- Tavşanlı, H., Gökmen, M. (2020). Balıkesir ilinde semt pazarlarında satışı sunulan yoğurtların fiziko-kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesinin araştırılması. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 22 (1), 318-326.
- Taylan, O., Yılmaz, M. T., Dertli, E. (2019). Partial characterization of a levan type exopolysaccharide (EPS) produced by *Leuconostoc mesenteroides* showing

- immunostimulatory and antioxidant activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 136, 436-444.
- Tekinşen, C., Atasever, M., Keleş, A., Tekinşen, K. (2002). *Süt, Yoğurt, Tereyağı, Peynir Üretim Kontrol*, Selçuk Üniversitesi Yayınları, Yayın No:123-3, S. 21-39, Konya.
- Tokatlı, M., Elmacı, S. B., İşleyen, N. A., Özçelik, F. (2019). Seçilmiş Endojen Laktik Starter Kültürler ile Turşu Üretimi. *Gıda*, 44 (4), 742-757.
- Tsuda, H., Miyamoto, T. (2010). Production of exopolysaccharide by *Lactobacillus plantarum* and the prebiotic activity of the exopolysaccharide. *Food Science and Technology Research*, 16 (1), 87-92.
- Tükenmez, Ü., Aslım, B. (2018). Probiyotik kaynaklı muhtemel prebiyotik özelliğe sahip ekzopolisakkarit (EPS)'lerin biyolojik ve fonksiyonel özellikleri. *Medical Journal of Suleyman Demirel University*, 25 (4), 487-497.
- Üçüncü, M. (2005). *Süt ve Mamulleri Teknolojisi*. İzmir: Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Yayın No 549,168-172.
- Vancanneyt, M., Naser, S.M., Engelbeen, K., De Wachter, M., der Meulen, R.V., Cleenwerck, I., Hoste, B., De Vuyst, L., Swings, J. (2006). Reclassification of *Lactobacillus brevis* strains LMG 11949 and LMG 11984 as *Lactobacillus parabrevis* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56, 1553-1557.
- Wang, J., Zhao, X., Tian, Z., He, C., Yang, Y., Yang, Z. (2015). Isolation and characterization of exopolysaccharide-producing *Lactobacillus plantarum* SKT109 from Tibet Kefir. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 65 (4), 269-280.
- Wang, K., Li, W., Rui, X., Chen, X., Jiang, M., Dong, M. (2014). Characterization of a novel exopolysaccharide with antitumor activity from *Lactobacillus plantarum* 70810. *International Journal of Biological Macromolecules*, 63, 133-139.
- Wang, Y., Li, C., Liu, P., Ahmed, Z., Xiao, P., Bai, X. (2010). Physical characterization of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* KF5 isolated from Tibet Kefir. *Carbohydrate Polymers*, 82 (3), 895-903.
- Xu, Y., Cui, Y., Wang, X., Yue, F., Shan, Y., Liu, B., Lü, X. (2019). Purification, characterization and bioactivity of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* KX041. *International journal of Biological Macromolecules*, 128, 480-492.
- Yakıt, S. (2019). Antimikrobiyal aktiviteye sahip laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve antimikrobiyal aktivitenin kısmi karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara 2019.
- Yalçın, O. (2016a). Lor peynirine probiyotik bakteri ilavesinin ürünün mikrobiyal ve duyu kalitesi üzerine etkilerinin araştırılması. Balıkesir Üniversitesi Fen

- Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir 2016.
- Yalçın, S. (2016b). Atık sulardan izole edilen *Pseudomonas spp.* ekzopolisakkarit üretimine bazı ağır metallerin etkisi. Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Nevşehir 2016.
- Yatmaz, E., Turhan, İ. (2015). Hyaluronik Asit Ve Fermantasyonla Üretilmesi. *Gıda*, 40 (4), 233-240.
- Ye, F., Ye, Y., Li, Y. (2011). Effect of C/N ratio on extracellular polymeric substances (EPS) and physicochemical properties of activated sludge flocs. *Journal of Hazardous Materials*, 188 (1-3), 37-43.
- Ye, G., Li, G., Wang, C., Ling, B., Yang, R., Huang, S. (2019). Extraction and characterization of dextran from *Leuconostoc pseudomesenteroides* YB-2 isolated from mango juice. *Carbohydrate Polymers*, 207, 218-223.
- Yetişmeyen, A. (2005). Bazı geleneksel peynirlerimizin biyojen amin içeriğinin saptanması ve peynirlerin mikrobiyolojik, kimyasal özellikleriyle olan ilişkisinin araştırılması. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje No: 20030711071, Ankara 2005.
- Yılmaz, M.T., Yetim, H., Arıcı, M., Sağdıç, O. (2014). Ekzopolisakkarit (EPS) üreten laktik asit bakterilerinin bazı gıdaların tekstürel, reolojik ve mikroyapısal özelliklerine etkisi. Tübitak 1001 Proje No: 1120169, İstanbul 2014.
- Yılmaz, T. (2018). *Lactobacillus plantarum* şuşları tarafından üretilen ekzopolisakkaritlerin sağlık üzerine etkileri. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Yüksek Lisans Tezi, Denizli 2018.
- You, X., Yang, L., Zhao, X., Ma, K., Chen, X., Zhang, C., Li, W. (2020). Isolation, purification, characterization and immunostimulatory activity of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus pentosus* LZ-R-17 isolated from Tibetan kefir. *International Journal of Biological Macromolecules*, 158, 408-419.
- Yörük, G., Güner, A. (2011). Laktik asit bakterilerinin sınıflandırılması ve Weissella türlerinin gıda mikrobiyolojisinde önemi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 6 (2), 163-176.
- Yusuf, A., Dığrak, M. (2012). Doğal turşulardan izole edilen *Lactobacillus plantarum* şuşlarının izolasyonu ve tanımlanması. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 15 (2), 46-49.
- Zannini, E., Waters, D. M., Coffey, A., Arendt, E. K. (2016). Production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100 (3), 1121-1135.

- Zehir, D. (2017). Tarhanadan izole edilen bazı laktik asit bakterileri tarafından üretilen ekzopolisakkaritlerin karakterizasyonu. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Denizli 2017.
- Zhou, K., Zeng, Y., Yang, M, Chen, S., He, L., Ao, X. (2016). Production, purification and structural study of an exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* BC-25. *Carbohydrate Polymers*, 144, 205-214.

EKLER

EK 1. Çalışmada Kullanılan Kültür Ortamları

De Man, Rogosa and Sharpe Broth ve Agar (MRS Broth ve Agar)

| Bileşen | Miktar (g/L) |
|--------------------------------------|--------------|
| Kazein Pepton | 10,0 |
| Et Ekstraktı | 10,0 |
| Maya Ekstraktı | 5,0 |
| D-Glukoz | 20,0 |
| Di Potasyum Hidrojen Fosfat | 5,0 |
| Di Amonyum Sitrat | 2,0 |
| Sodyum Asetat | 5,0 |
| Mgso ₄ .7H ₂ O | 0,5 |
| Mnso ₄ .4H ₂ O | 0,2 |
| Tween 80 | 1,0 mL |
| Agar-Agar | 14,0 |

Agar çermeyen bileşi MRS Broth, içeren MRS agar olarak hazırlanmıştır. Bileşime giren maddeler distile su içerisinde çözülmüş ve 121°C'de 15 dakika sterilizasyon edilmiştir. LAB sayımı ve izolasyonunda kullanılmıştır.

MRS-5C Agar

| Bileşen | Miktar (g/L) |
|-----------------------------|--------------|
| Tripton | 10,0 |
| Et Ekstraktı | 5,0 |
| Maya Ekstraktı | 5,0 |
| Maltoz | 10,0 |
| Fruktoz | 5,0 |
| Glukoz | 5,0 |
| Sodyum Asetat | 5,0 |
| Amonyum Klorür | 3,0 |
| Di Potasyum Hidrojen Fosfat | 2,6 |
| Monopotasyum Fosfat | 4,0 |
| Magnezyum Sülfat | 0,1 |
| Mangan (II) Sülfat | 0,05 |
| Cystein -HCl | 0,5 |
| Tween 80 | 1,0 mL |
| Agar- Agar | 15,0 |

Bileşime giren maddeler distile su içerisinde çözülmüş ve 121°C'de 15 dakika sterilizasyon edilmiştir. LAB izolasyonunda kullanılmıştır.

M17 Broth ve Agar

| Bileşen | Miktar (g/L) |
|------------------------|--------------|
| Soya Pepton | 5,0 |
| Et Pepton | 2,5 |
| Kazein Pepton | 2,5 |
| Maya Ekstraktı | 2,5 |
| Et Ekstraktı | 5,0 |
| Laktoz Monohidrat | 5,0 |
| Askorbik Asit | 0,5 |
| Sodyum B-Gliserofosfat | 19 |
| Magnezyum Sülfat | 0,25 |
| Agar-Agar | 12,75 |

Bileşime giren maddeler distile su içerisinde çözülmüş ve 121°C'de 15 dakika sterilizasyon edilmiştir. LAB izolasyonunda kullanılmıştır.

MRS-Sukroz Broth ve Agar

| Bileşen | Miktar (g/L) |
|-----------------------------|--------------|
| Kazein Pepton | 10,0 |
| Maya Ekstraktı | 4,0 |
| Et Ekstraktı | 8,0 |
| Sukroz | 40,0 |
| Di Potasyum Hidrojen Fosfat | 2,0 |
| Di Amonyum Hidrojin Sitrat | 2,0 |
| Sodyum Asetat | 5,0 |
| Magnezyum Sülfat | 0,2 |
| Mangan (II) Sülfat | 0,04 |
| Tween 80 | 1 ml |
| Agar-Agar | 15,0 |

Bileşime giren maddeler distile su içerisinde çözülmüş ve 121°C'de 15 dakika sterilizasyon edilmiştir. LAB izolatların EPS üretiminin belirlenmesi testi ve EPS üretiminde kullanılmıştır.

Kongo Kırmızı Agar

Daha önce verilmiş olan bileşime uygun olarak hazırlanan ve 121°C'de 15 dakika sterilize edilen MRS Agar basal ortam olarak kullanılmıştır. Kongo Kırmızı agar halinde hazırlamak 50°C'ye soğutulan besiyeri içerisinde %0,05 oranında kongo kırmızı ilave edilmiş ve petrilere dağıtılmıştır. Bu besiyeri LAB izolatların EPS üretiminin belirlenmesi amacı ile kullanılmıştır (Ambalam et al., 2012).

Plate Count Agar (PCA)

| Bileşen | Miktar (g/L) |
|----------------|--------------|
| Kazein Pepton | 5,0 |
| Maya Ekstraktı | 2,5 |
| D(+) Glukoz | 1,0 |
| Agar-Agar | 14,0 |

Bileşime giren maddeler distile su içerisinde çözülmüş ve 121°C'de 15 dakika sterilizasyon edilmiştir. Fermente gıda örneklerin toplam aerobik mezofilik bakteri sayımında kullanılmıştır.

Dichloran Rose Bental Chloramphenicol Agar (DRBC Agar)

| Bileşen | Miktar (g/L) |
|-----------------------------|--------------|
| Kazein Pepton | 5,0 |
| Glukoz | 10,0 |
| Di Potasyum Hidrojen Fosfat | 1,0 |
| Dikloran | 0,002 |
| Magnezyum Sülfat | 0,5 |
| Ros Bengal | 0,025 |
| Klorampenikol | 0,1 |
| Agar-Agar | 15,0 |

Bileşime giren maddeler distile su içerisinde çözülmüş ve 121°C'de 15 dakika sterilizasyon edilmiştir. Fermente gıda örneklerin küf ve maya sayımında kullanılmıştır.

Violet Red Bile Agar (VRB Agar)

| Bileşen | Miktar (g/L) |
|-------------------------|--------------|
| Et Pepton | 7,0 |
| Maya Ekstraktı | 3,0 |
| Laktoz | 10,0 |
| Sodyum Klorür | 5,0 |
| Ox Bile (Bile Salt Mix) | 1,5 |
| Neutral Kırmızı | 0,03 |
| Kristal Violet | 0,002 |
| Agar-Agar | 13,0 |

Distile su içerisinde çözülmüş ve 121°C'de 15 dakika sterilizasyon yapılmıştır. Daha sonra 50°C'ye soğutulmuş ve petrilere dağıtılmıştır. Fermente gıda örneklerin koliform grup bakterilerin sayımında kullanılmıştır.

EK 2. Çalışmada Kullanılan Tamponlar ve Çözeltiler

Kristal Viyolet (Gram Boyama)

| Bileşen | Miktar |
|----------------|----------|
| Kristal Viyole | 3,0 g |
| Etanol/Metanol | 50,0 mL |
| İzopropanol | 50,0 mL |
| Distile Su | 900,0 mL |

İyot Çözeltisi (Gram Boyama)

| Bileşen | Miktar |
|-----------------|-----------|
| İyot | 3,3 g |
| Potasyum İyodür | 6,6 g |
| Distile Su | 1000,0 mL |

Safranin Çözeltisi (Gram boyama)

| Bileşen | Miktar |
|----------------|----------|
| Safranin | 4,0 g |
| Etanol/Metanol | 200,0 mL |
| Distile Su | 800,0 mL |

Dekolorizasyon Sıvısı (Gram Boyama)

| Bileşen | Miktar |
|-------------|----------|
| Aseton | 250,0 mL |
| İzopropanol | 750,0 mL |

Gram boyama çözeltileri izolatların Gram reaksiyonlarını belirlemek için kullanılmıştır.

%3'lük Hidrojen Peroksit Çözeltisi (H₂O₂)

| Bileşen | Miktar |
|-----------------------|---------|
| %30 Hidrojen Peroksit | 10,0 mL |
| Distile Su | 90,0 mL |

LAB izolatların katalaz aktivitelerini belirlemek amacıyla kullanılmıştır.

0.1 M NaOH Çözeltisi

| Bileşen | Miktar |
|------------------|-----------|
| Sodyum Hidroksit | 4,0 g |
| Distile Su | 1000,0 mL |

Gıda örneklerin asitlik tayini ölçümünde kullanılmıştır.

%1'lik Fenolftalein Çözeltisi

| Bileşen | Miktar |
|--------------------|----------|
| Fenolftalein | 1,0 g |
| %95'lik Etil Alkol | 100,0 mL |

Gıda örneklerin asitlik tayini ölçümünde indikatörü olarak kullanılmıştır.

%10 Trikloroasetik Asit (TCA)

| Bileşen | Miktar |
|---------------------------------------|-----------|
| Trikloroasetik Asit ($C_2HCl_3O_2$) | 100 g |
| Distile Su | 1000,0 mL |

LAB EPS'lerinden protein bazlı bileşenleri uzaklaştırmak amacıyla kullanılmıştır.

0,05 M EDTA

| Bileşen | Miktar |
|--|-----------|
| EDTA ($Na_2H_2C_{10}H_{12}O_8N_2 \cdot 2H_2O$) | 18,6 g |
| Distile Su | 1000,0 mL |

LAB hücrelerine bağlı kapsüller EPS'lerin ayrılması için kullanılmıştır.

% 5'lik Fenol

| Bileşen | Miktar (mL) |
|------------|-------------|
| %90 Fenol | 5,0 |
| Distile Su | 95,0 |

LAB EPS'lerinin şeker tayininde kullanılmıştır.

%72'lik Formik Asit (HCOOH)

| Bileşen | Miktar (mL) |
|-------------------------|-------------|
| %85 Formik Asit (HCOOH) | 84,7 |
| Distile Su | 15,2 |

LAB EPS'lerinin içerdiği şeker türlerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

5 M Potasyum Hidroksit Çözeltisi (KOH)

| Bileşen | Miktar |
|--------------------------|----------|
| Potasyum Hidroksit (KOH) | 168,0 g |
| Distile Su | 832,0 mL |

LAB EPS'lerinin içerdiği şeker türlerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

Etidyum Bromür

| Bileşen | Miktar |
|---|---------|
| Etidyum Bromür (C ₂₁ H ₂₀ BrN ₃) | 0,3 g |
| Distile Su | 30,0 mL |

Agaroz jel hazırlanmasında kullanılmıştır.

Brom Fenol Mavi Yükleme Boyası

| Bileşen | Miktar |
|-------------------|---------|
| Ficol 400 | 7,50 g |
| Brom Fenol Mavisi | 0,125 g |
| Distile Su | 50,0 mL |

Elektroforezde izolatların yüklemesinde kullanılmıştır.

1xTE Tampon Çözeltisi (Tris - EDTA)

| Bileşen | Miktar (mL) |
|------------|-------------|
| Tris Base | 10,0 |
| 0.5 M EDTA | 2,0 |
| Distile Su | 988,0 |

Hidroklorik asit ile pH 8,0 ayarlanarak 121°C'de 15 dakika otoklav edilip 20°C'de saklanmıştır. LAB'lerin genomik DNA izolasyonunda kullanılmıştır.

10xTBE Tampon Çözeltisi (Tris –Borik Asit EDTA)

| Bileşen | Miktar (g) |
|------------|------------|
| Tris Base | 108,0 |
| Borik Asit | 55,0 |
| 0.5M EDTA | 40,0 mL |
| Distile Su | 960,0 mL |

pH 8,0 değerine ayarlanarak 121°C'de 15 dakika otoklav edilip 4°C'de saklanmıştır.

1xTBE Tampon Çözeltisi (Tris –Borik Asit EDTA)

| Bileşen | Miktar (mL) |
|---------------|-------------|
| 10xTBE Tampon | 100,0 |
| Distile Su | 900,0 |

Agaroz jelde kullanmak amacıyla pH 8,0 değerine ayarlanarak 121°C'de 15 dakika otoklav edilip 4°C'de saklanmıştır.

%1'lik Agaroz jel

| Bileşen | Miktar |
|--------------|----------|
| Agaroz Jel | 1,0 g |
| 1xTBE Tampon | 100,0 mL |

Genomik DNA'ların saflık kontrol için elektroforez sisteminde kullanılmıştır.

%1,5'lik Agaroz Jel

| Bileşen | Miktar (g) |
|--------------|------------|
| Agaroz Jel | 1,5 g |
| 1xTBE Tampon | 100,0 mL |

Çoğaltılan PZR ürünlerin saflık kontrol için elektroforez sisteminde kullanılmıştır.

EK 3. LAB'nin Genomik 16S rDNA Dizi Analizinde Kullanılan Marker ve Primerler

DNA Marker 1000 bp (Sigma, ABD)

PZR ürünleri agaroz jel elektroforezde yürütüldükten sonra uygun boyutta olup olmadığını belirlemek amacıyla kullanılmıştır

DNA Primerler

| İsim | Dizi | Bağlanma Bölgesi (5'-3') | Kaynak |
|------|----------------------------|--------------------------|---------------------------|
| 27F | AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG | 8-27 | Lane, 1991 |
| 800R | TAC CAG GGT ATC TAA TCC | 800-782 | Chun and Goodfellow, 1995 |
| Mg5F | AAA CTC AAA GGA ATT GAC GG | 907-926 | Chun and Goodfellow, 1995 |

EK 4. LAB izolatlarının 16S rDNA Bölgesinin Dizileri

| Tanımlanan Şuş | DNA Dizisi |
|--|---|
| <p><i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> 2X13-3</p> | <p>TGGCGAACTTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCCAGAAGCGGGGGA TAACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTGGACCGCATG GTCCGAGCTTGAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGG CGTATTAGCTAGATGGTGGGGTAACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAG CCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAAA CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAAGTCT GATGGAGCAACGCCCGGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAACCTC TGTTGTTAAAGAAGAACATATCTGAGAGTAACTGTTACAGGTATTGACGGT ATTTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA CGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAG GCGGTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGC ATCGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATG TGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACCAGTGGCGAAGGC GGCTGTCTGGTCTGTAACGACGCTGAGGCTCGAAAAGTATGGGTAGCAAA CAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATAACCGTAAACGATGAATGCTAAGTG TTGGAGGGTTCCGCCCTTCAGTGTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCG CCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCCAAGTACCGGAAGAAC CTTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCT TCGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTG AGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATTATCAGTTGCC AGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGA AGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACA CGTGCTACAAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCT AATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTAC ATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATA CGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAAC ACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAGGAACAGCCGCCTAAGGTGGG ACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA</p> |
| <p><i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> 1X18-5</p> | <p>ATTGATTGGTGCTTGCATCATGATTTACATTTGAGTTGAGTGGCGAACTGGT GAGTAACACGTGGGAAACCTGCCAGAAGCGGGGGATAACACCTGGAAAC AGATGCTAATACCGCATAACAACCTGGACCGCATGGTCCGAGCTTGAAGA TGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGGGCGTATTAGCTAGATGGTG GGGTAACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATC GGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAAAACCTCCTACGGGAGGCAGCAGTA GGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCTGAGTG AAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAACCTGTTGTTAAAGAAGAACATATCTGA GAGTAACTGTTACAGGTATTGACGGTATTTAACAGAAAGCCACGGCTAACTA CGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATT GGGCGTAAAGCGAGCGCAGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCG GCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGG ACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACA CCAGTGGCGAAGGGCGCTGTCTGGTCTGTAACGACGCTGAGGCTCGAAAG TATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATAACCGTAAACGAT GAATGCTAAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTTCAGTGTGCAGCTAACGCATT AAGCATTCCGCTGGGGAGTACGGCCGAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTG ACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCCAAGCTACCGG AAGAACCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTT CCCTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTG TGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATTATCAGTTGCC AGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAG GTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGT GCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGTAACTCT CTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGT CGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGG GCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGTGC GTGGGGTAACCTTTTAGGAACC</p> |

| | |
|--|--|
| <p><i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> 3X20-3</p> | <p>ATTGATTGGTGCTTGCATCATGATTTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTG AGTAACACGTGGGAAACCTGCCAGAAGCGGGGGATAACACCTGGAAACAG ATGCTAATACCGCATAACAACCTGGACCGCATGGTCCGAGCTTGAAGATGG CTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGCGTATTAGCTAGATGGTGGGG TAACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGC CACATTGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGG AATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAG AAGGGTTTCGGCTCGTAAAACCTCTGTTGTTAAAGAAGAATATCTGAGAGT AACTGTTCAAGTATTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTG CCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCGGGATTTATTGGGC GTAAAGCGAGCGCAGGCCGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCA ACCGAAGAAGTGCATCGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGT GGAACCTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACCAGT GGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGTATGG GTAGCAAACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATG CTAAGTGTGGAGGGTTCCCGCCTTCAGTGTCTGACGTAACGCATTAAAGCA TTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTAAAGGAATTGACGGG GGCCCGCACAAAGCGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCTACGCGAAGAA CCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTT CGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAG TGTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCGAGCAT TAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGG GATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGTACA ATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTAATCTCTTAAA GCCATTCTAAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACGAAAGTTCGGAAT CGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGT ACACACCGCCCGTACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGTCGGTGGGGT AACCTTTTAGGAACCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGG</p> |
| <p><i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> 2X21-2</p> | <p>GGCGAACTGGTGAGTAAACACGTGGGAAACCTGCCAGAAGCGGGGGATAA CACCTGGAAACAGATGCTAATACCGCACAAACAACCTGGACCGCAAGGTCC GAGCTTGAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGCGTAT TAGCTAGATGGTGGGGTAACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACC TGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACTCCTAC GGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGC AACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAACCTGTTGTTAAA GAATAACATATCTGAGAGTAACTGTTTCAAGTATTGACGGTATTTAACCAGA AAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAA GCGTTGTCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCCGTTTTTTAAGT CTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAAACTGGGA AACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATG CGTAGATATATGGAAGAACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTA ACTGACGCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCT GGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCGCCCC TTCAGTGTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCTGGGGAGTACGGCCGC AAGGCTGAAACTAAAGGAATTGACGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAGCA TGTGGTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCCTACCAGGTCTTGACATACT ATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGTGG TGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAA CGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTG AGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCA TGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAG TTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTAGTTCCGA TTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGA TCAGCATGCCCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCA CACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACTTTTAGGAAC CAGCCGCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTGTGTAACAAGGTAG CCCTAGGAAAA</p> |

| | |
|--|--|
| <p><i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> 3X22-4</p> | <p>TTCATGATTTACATTTTGAGTTGAGTTGGCGAACTTGGTGAGTAACACGTGG GAAACCTGCCAGAAAGCGGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATACC GCATAACAACCTGGACCGCATGGTCCGAGCTTAAAAGATGGCTTCGGCTAT CACTTTTGGATGGTCCCAGCGGCGTATTAGCTAGATGGTGGGGTAACGGCTC ACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGG ACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCA CAATGGACGAAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTT CGGCTCGTAAAACCTCTGTTGTTAAAGAAGAACATATCTGAGAGTAACTGTT CAGGTATTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCA GCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAA GCGAGCGCAGGCGGTTTTTAAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCG AAGAAGTGCATCGGAAAACCTGGGAAAACCTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGA ACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACCAGTGCC GAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAAGTATGGGTA GCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATGCTA AGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGTGTCAGCTAACGCTATTAAGCATTC CGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGG CCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCTACGCGAAGAACC TTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCG GGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTACGCTGCTGATG GTTGGGTTAAGTCCCACAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATT AAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGG GATGACGTCAAATCATATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTAC AATGGATGGTACACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTAATCTTAA AGCCATTCTCAGTTCCGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGGA ATCGTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCT TGACACACCGCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGTCGGTG GGTAACCTTTTAGGAACCAGCCGCTAAAGTGGGACAGATGATTAGG</p> |
| <p><i>Levilactobacillus brevis</i> 4X35-2</p> | <p>CGAGCTTCCGTTGAATGACGTGCTTGCACTGATTTCAACAATGAAGCGAGTG GCGAACTGGTGAGTAACACGTGGGGAATCTGCCAGAAAGCAGGGGATAACA CTTGAAACAGGTGCTAATACCGTATAACAACAAAATCCGCATGGATTTTGT TTGAAAGGTGGCTTCGGCTATCACTTCTGGATGATCCCAGCGGCGTATTAGTTA GTTGGTGAGGTAAAGGCCCAACCAAGACGATGATACGTAGCCGACCTGAGAG GGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCA GCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAATGCCGCGT GAGTGAAGAAGGGTTTCCGGCTCGTAAAACCTCTGTTGTTAAAGAAGAACACCT TTGAGAGTAACTGTTCAAGGGTTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTA ACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATT TATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTAAAGTCTGATGTGAAAGCCT TCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCGGAAAACCTGGGAGACTTGAGTGCAGAAG AGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGA ACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTAGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAA AGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAACCGA TGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGTGTCAGCTAACGCATT AAGCACTCCGCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAAACCTCAAAGGAATTG ACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCCAAGCTACGCGA AGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCC CTTCGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTG AGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAG CATTCAAGTTGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAAACCGGAGGAAGGTG GGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTA CAATGGACGGTACAACGAGTCCGGAAGTCTGTGAGGCTAAGCTAATCTTTAA AGCCGTTCTCAGTTCCGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTTGGAAT CGTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGT ACACACCGCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGCGGCTG</p> |

| | |
|--|--|
| <p><i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> 1X36-1</p> | <p>GGTTATTGATTGGTGCTTTGCATCCATGATTTTACATTTTTTGAGTTGAGTT GGCGAACTTGGTGAGTTAACACGTTGGGAAACCTGCCAGAAGCGGGGGAT AACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTTGGACCGCATGGTC CGAGCTTAAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCGTAT TAGCTAGATGGTGGGGTAACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACC TGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCTACG GGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAAGTCTGATGGAGCA ACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTTCGGCTCGTAAAACCTCTGTTGTTAAAG AAGAACATATCTGAGAGTAACGTTCAGGTATTGACGGTATTTAACAGAA AGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGC GTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTG ATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAAACTGGGAAACT TGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAG ATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACGTAC GCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTC CATACCCTAAAACGATGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTTTCCGCCCTTCAGTGC TGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGAAGGCTGA AACTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTA ATTGGAAGCTACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATC TAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTT GTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAA CCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGG TGACAAACCGGAGGAAGGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTAT GACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTC GCGAGAGTAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTC AACTCGCCTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCG CGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAG TTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAGGAACCAGCCGCTAA</p> |
| <p><i>Lactiplantibacillus pentosus</i> 2X36-3</p> | <p>GCTTGCATCATGATTTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGTAACACG TGGGAAACCTGCCAGAAGCGGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAAT ACCGCATAACAACCTTGGACCGCATGGTCCGAGTTTGAAAAGTGGCTTCGGC TATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCTATTAGCTAGATGGTGGGGTAACGG CTCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGGCCAT TGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATC TTCCACAATGGACGAAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAG GGTTTCGGCTCGTAAAACCTGTTGTTAAAGAAGAACATATCTGAGAGTAA CTGTTACAGGTATTGACGGTATTTAACAGAAAAGCCACGGCTAACTACGTGC CAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGC GTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTC AACCGAAGAAGTGCATCGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAC AGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACAC CAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACGTGACGCTGAGGCTCGAAAG TATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGA TGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTTTCCGCCCTTCAGTGTGACGTAACGCA TTAAGCATTCCGCTGGGGAGTACGGCCGAAGGCTGAAACTCAAAGGAA TTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCTA CGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAG ACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTC GTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATC AGTTGCCAGCATTAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACC GGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGC TACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGT AAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGC CTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCCGGTTGA ATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTGA ACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAGGAACCAGCCGCTAAGGTGG GACAGATGATTAGGGTGAAGT</p> |

| | |
|---|--|
| <p><i>Lactiplantibacillus pentosus</i> 2X37-4</p> | <p>GGCGAACTTGGTGAGTAACACGTTGGGAAACCTGCCCAGAAGCGGGGAT AACACCTGGAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTGGACCGCAGGTCC GAGTTTGAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCTATT AGCTAGATGGTGGGTAACGGCTACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCT GAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGG GAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAA CGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAACTCTGTTGTTAAAGA AGAACATATCTGAGAGTAACCTGTTTACGGTATTGACGGTATTTAACAGAAA GCCACGGTAACCTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCG TTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTAAGTCTGA TGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAACTGGGAACTT GAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAG ATATATGGAAGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACCTGAC GCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTC CATAACGTAACGATGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTACGTT CTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTG AACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTT AATTGGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTACATACTATGCAAAAT CTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGTCGAACTGGT TGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCA ACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACCTCTGGTGGAGACTGCCG GTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATATGCCCTTAT GACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTCGAACTC GCGAGAGTAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGC AACTCGCCTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCG CGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAG TTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAGGAACCAGCCGCTAA GGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTA</p> |
| <p><i>Lactiplantibacillus pentosus</i> 2X38-3</p> | <p>TACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGTAACACGTTGGGAAACCTGCCCA GAAGCGGGGATAACACCTGGAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTTG GACCGCAGGGTCCGAGTTTGAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGT CCCGCGGCGTATTAGCTAGATGGTGGGTAACGGCTACCATGGCAATGATA CGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCC AACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTC TGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAACTCT GTTGTAAAGAAGAACATATCTGAGAGTAACCTGTTTACGGTATTGACGGTATT TAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAAATACGTAG GTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTT TTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAACT GGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAA ATGCGTAGATATATGGAAGAACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGT AACTGACGCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCT GGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCT TCAGTGCTGACGTAACGCATTAAGCATTCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAA GGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGACAAGCGGTGGAGCATGT GGTAAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATACTATGC AAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCAT GGTGTGCTGACGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCG CAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACCTGGTGGAGACTGC CGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTT ATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCCAACT CGCGAGAGTAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTG CAACTCGCCTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCG CGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGT TTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAGGAACCAGCCGCTAAGG TGGGACAGATGATTAGGGTGAA</p> |

ÖZ GEÇMİŞ



Badamgarav ENKHTUR, 03.10.1988 tarihinde Moğolistan'da doğdu. Zavkhan/Moğolistan 1. Lisesi'ni bitirdikten sonra Teknoloji Üniversitesi Mühendisliği Fakültesi'nden 2012 yılında Lisans mezun oldu. 2015 yılında Teknoloji Üniversitesi Mühendisliği Fakültesi Gıda Mühendisliği bölüm Yüksek Lisans programını bitirdim. Mezuniyetinden bu yana OMÜ Gıda Mühendisliği Bölüm Doktora programına girdi. Orta derecede İngilizce bilmektedir.

İletişim Bilgileri

E mail: badamgaraw.e@gmail.com, ebadamgaraw@yahoo.com

Telefon: 05059808018, (+976) 98189388

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2488-810X>

Yayınlanmış Çalışma

1. Özdemir, N., **Enkhtur, B.**, Çon A.H. 2017. Exopolysaccharide Production of Laktik Asit bakterilerinin Isolated from Sourdough. International Dna Day And Genome Congress (IDDGC), Nisan, 2017. Kırşehir/Turkey.
2. Özdemir, N., **Enkhtur, B.**, Aydın, A., Çon A.H. "Folate-Producing Lactic Acid Bacteria Isolated From Foods" The 4th International Symposium on Traditional Foods from Adriatic To Caucasus, Nisan, 2018, Kyrenia / Northern Cyprus (Özet bildiri), (19-21.04.2018).
3. Özdemir, N., **Enkhtur, B.**, Aydın, A., Mohammed, S., Çon, A.H. Technological and Functional Features of Some Lactobacillus sp. and Lactococcus sp. Strains. The International Agriculture, Biology and Life Sciences Conference, 1-3 September 2020, Edirne/Turkey, p. 432 (E-AGBIOL 2020).