Lactobacillus delbrueckii ssp*. bulgaricus* VE *Streptococcus thermophilus* SUŞLARININ AĞIR METAL DİRENÇLİLİKLERİ VE EKZOPOLİSAKKARİT (EPS) ÜRETİMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mohammed ALİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

EKİM 2007
ANKARA

Mohammed A. ALİ tarafından hazırlanan *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* VE *Streptococcus thermophilus* SUŞLARININ AĞIR METAL DİRENÇLİLİKLERİ VE EKZOPOLİSAKKARİT (EPS) ÜRETİMLERİNİN ARAŞTIRILMASI adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Yavuz BEYATLI ……
Tez Danışmanı, Biyoloji Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Yavuz BEYATLI ……
Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Emir CANSUNAR ……
Biyoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Prof. Dr. Belma ASLIM …….
Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ ……...
Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Doç. Dr. Nihal YÜCEL ……
Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Tarih: 15 / 10 / 2007

Bu tez, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Nermin ERTEN …….
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Mohammed ALİ

Lactobacillus delbrueckii ssp. _bulgaricus_ VE _Streptococcus thermophilus_ SUŞLARININ AĞIR METAL DİRENÇLİLİKLERİ VE EKZOPOLİSAKKARİT (EPS) ÜRETİMLERİNİN ARAŞTIRILMASI
(Yüksek Lisans Tezi)

Mohammed ALİ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Ekim 2007

ÖZET

Bu çalışmada süt endüstrisinde starter kültür olarak kullanılan _Lactobacıllus delbrueckii_ ssp. _bulgaricus_ ATCC 11842 ve _Streptococcus thermophilus_ ATCC 14425 suşlarının hücre gelişimi, EPS üretimi ve toplam protein miktarı üzerine çeşitli ağır metal tuzlarının [$Co(NO_3)_2.6H_2O$, $ZnSO_4.7H_2O$, $Cr(NO_3)_3.9H_2O$, $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$, $NiCl_2$, $K_2Cr_2O_7$, $CuSO_4.5H_2O$, $AgNO_3$, $CdCl_2$] etkilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Metal tuzlarının (0,005 - 80 mM) arasında farklı konsantrasyonları kullanılarak suşların metallere karşı minimal inhibisyon konsantrasyonları (MİK) düzeyleri belirlenmiştir. _Streptococcus thermophilus_ ATCC 14425 suşunda bu değerler sırasıyla; $Co(NO_3)_2.6H_2O$ için 1 mM, $ZnSO_4.7H_2O$ için 0,1 mM, $Cr(NO_3)_3.9H_2O$ için 10 mM, $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$ için 1 mM, $NiCl_2$ için 0,1 mM, $K_2Cr_2O_7$ için 1 mM, $CuSO_4.5H_2O$ için 2,5 mM, $AgNO_3$ için 0,5 mM, $CdCl_2$ için 0,005 mM olarak tespit edilerken; _Lactobacillus delbrueckii_ ssp. _bulgaricus_ ATCC 11842 suşunda $Co(NO_3)_2.6H_2O$ için 10 mM; $ZnSO_4.7H_2O$ 5 için mM; $Cr(NO_3)_3.9H_2O$ için 10 mM; $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$ için 0,5 mM; $NiCl_2$ için 10 mM; $K_2Cr_2O_7$ için 0,5 mM; $CuSO_4.5H_2O$ için 5 mM; $AgNO_3$ için 0,5 mM ve $CdCl_2$ için 0,005 mM olarak bulunmuştur. Genel olarak _Lactobacillus delbrueckii_ ssp. _bulgaricus_ ATCC 11842

suşunun metal direncinin *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşundan daha fazla olduğu gözlenmiştir. En yüksek (505 mg/L) EPS üretimi *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* ATCC 11842 suşunda (0,005 mM) $CuSO_4.5H_2O$ konsantrasyonunda tespit edilirken, *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşunda ise (0,005 mM) $NiCl_2$ konsantrasyonunda en yüksek (255 mg/L) EPS ürettiği belirlenmiştir. Bu değerler kontrol besiortamında sırası ile 127 ve 157 (mg/L) olarak bulunmuştur. En yüksek (0,052 mg/mL) protein üretimi *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşunda (0,005 mM) $Cr(NO_3)_3.9H_2O$ konsantrasyonunda belirlenirken, *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşunda (0,005 mM) $Co(NO_3)_2.6H_2O$ konsantrasyonunda protein miktarı (0,058 mg/mL) olarak tespit edilmiştir. Çalışmada ağır metal konsantrasyonunun artışına bağlı olarak bakterilerin EPS üretimi ve protein miktarlarının azaldığı bulunmuştur.

Bilim Kodu : 203.1.023
Anahtar Kelimeler : Laktik asit Bakterileri, Ağır Metal, Ekzopolisakkarit, Protein
Sayfa adedi : 99
Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Yavuz BEYATLI

RESEARCH ON RESISTIVITIES OF *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* VE *Streptococcus thermophilus* STRAINS AGAINST HEAVY METAL AND ON THEIR EXOPOLYSACCHARIDE (EPS) PRODUCTIONS
(M. Sc. Thesis)

Mohammed ALİ

GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
October 2007

ABSTRACT

In this study, it is aimed to determine the cellular developments and EPS productions of the *Lactobacıllus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 and *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 strains which are used as the starter culture in the diary industry, and impacts of the various heavy metal salts [$Co(NO_3)_2.6H_2O$, $ZnSO_4.7H_2O$, $Cr(NO_3)_3.9H_2O$, $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$, $NiCl_2$, $K_2Cr_2O_7$, $CuSO_4.5H_2O$, $AgNO_3$, $CdCl_2$] on the total protein amount. The minimal inhibition concentration (MIC) levels of the metal salts against the strains are determined by using the different concentrations between (0,005 - 80 mM). As those values in the s*treptococcus thermophilus* ATCC 14425 strain are determined as 1 mM for $Co(NO_3)_2.6H_2O$; 0,1 mM for $ZnSO_4.7H_2O$; 10 mM for $Cr(NO_3)_3.9H_2O$; 1 mM for $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$; 0,1 mM for $NiCl_2$; 1 mM for $K_2Cr_2O_7$; 2,5 mM for $CuSO_4.5H_2O$; 0,5 mM for $AgNO_3$; 0,005 mM for $CdCl_2$ respectively; they are determined as 10 mM for $Co(NO_3)_2.6H_2O$; 5 mM for $ZnSO_4.7H_2O$; 10 mM for $Cr(NO_3)_3.9H_2O$; 0,5 mM for $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$; 10 mM for $NiCl_2$; 0,5 mM for $K_2Cr_2O_7$; 5 mM for $CuSO_4.5H_2O$; 0,5 mM for $AgNO_3$; and 0.005 mM for $CdCl_2$ in the *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 strain. In general, it is observed that the metal resistance of *Lactobacillus delbrueckii* ssp.

bulgaricus **ATCC 11842 strain is higher than of the** ***Streptococcus thermophilus*** **ATCC 14425 strain. As the highest EPS production (505 mg/L) is determined in the** ***Lactobacillus delbrueckii*** **ssp** ***bulgaricus*** **ATCC 11842 strain (0,005 mM) in the $CuSO_4.5H_2O$ concentration, it is determined that the highest EPS (255 mg/L) is produced in the** ***Streptococcus thermophilus*** **ATCC 14425 strain (0,005 mM) in the $NiCl_2$ concentration EPS. Those values are found as 127 and 157 (mg/L) in the controlled feeding environment respectively. As the highest protein production (0,052 mg/mL) is determined in the** ***Lactobacillus delbrueckii*** **ssp.** ***bulgaricus*** **ATCC 11842 strain (0,005 mM) in the $Cr(NO_3)_3.9H_2O$ concentration, the protein amount in the** ***Streptococcus thermophilus*** **ATCC 14425 strain (0,005 mM) is determined as (0,058 mg/mL) in the $Co(NO_3)_2.6H_2O$ concentration. In the study, it is found that EPS production and protein amounts of the bacteria decrease depending on the increasing of heavy metal concentration.**

Science code : 203.1.023
Keywords : Lactic acid bacteria, Heavy Metal, Exopolysaccharide, Protein.
Page Number : 99
Advisor : Prof.Dr.Yavuz BEYATLI

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmam süresince bilgi, tecrübe ve önerilerinden yararlandığım, yakın ilgilerini ve yönlendirici katkılarını gördüğüm, başta tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Yavuz BEYATLI' ya ve Prof. Dr. Belma ASLIM' a, Laboratuvar çalışmaları sırasında desteklerini ve önerilerini esirgemeyen Araş. Gör. Nihal EDİZ' e ve Dr. Zehra Nur YÜKSEKDAĞ' a, bu süreçte maddi ve manevi desteği ile her zaman yanımda olan değerli dayım Prof. Dr. Enver HASANOĞLU' na saygı ve içten teşekkürlerimi sunarım .

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET……...iv

ABSTRACT……vi

TEŞEKKÜR…….....viii

İÇİNDEKİLER……ix

ÇİZELGELERİN LİSTESİ…….....xiii

ŞEKİLLERİN LİSTESİ…….....xvii

RESİMLERİN LİSTESİ……xx

SİMGELER VE KISALTMALAR..... ……xxi

1.GİRİŞ……1

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI…….2

2.1. Süt ve Süt Ürünleri…….. .....…2

2.1.1.Tarihçe…….....2

2.1.2. Probiyotik olarak bakteriler……2

2.1.3. Probiyotiklerin insan sağlığı üzerine etkisi……..3

2.2. Laktik Asit Bakterileri.. …….….8

2.2.1. *Streptococcus* cinsi bakterilerin genel özellikleri……...9

2.2.2. *Lactobacillus* cinsi bakterilerin genel özellikleri……...10

2.3. Gıda Güvenliği…….....……...111

2.3.1. Gıdalardaki kimyasal maddeler.....12

2.3.2. Gıda kontaminantları..... ……13

2.4. Süt ürünlerinde kontaminasyon…….…..……..…..…..…....14

2.4.1. Kontaminasyon kaynakları…….……...……15

Sayfa

2.4.2. Süt ve süt ürünlerinde ağır metallerin durumu… ……16

2.4.3. Peynirde bulunan ağır metal içerikleri ve kaynakları…….22

2.4.4. Ağır metal dirençliliği……...……...24

2.4.5. Mikroorganizmalar tarafından ağır metal' lerin alınımı ve metal direncliği…….24

2.4.6. Ağır metal hücre toksisitesinin moleküler mekanizması……26

2.5. Ekzopolisakkarit (EPS) üretimi…….……27

2.5.1. Polisakkaritlerin bileşimi ve yapısı…..…….…….28

3. MATERYAL ve METOT..... 35

3.1. Materyal..... ……35

3.1.1.Materyal örnekleri.....35

3.1.2. Bakterilerin aktifleştirilmesi ve gelişme ortamları…….35

3.1.3. Çalışmada kullanılan besiyerleri.....35

3.2. Metot…….. 36

3.2.1. Bakterilerin muhafazası.....36

3.2.2. Bakterilerin ağır metal dirençliliğinin belirlenmesi……..…37

3.2.3. Bakterilerin hücre gelişiminin ve canlı hücre sayısının belirlenmesi……...37

3.2.4. Bakterilerin EPS üretiminin belirlenmesi……..…...38

3.2.5. Bakterilerin toplam hücre protein miktarının belirlenmesi……39

3.2.6. İstatistiksel analiz.....40

4. ARAŞTIRMA BULGULARI…….....41

4. 1. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun hücre gelişimi ve EPS üretimi. ..…….…….....41

Sayfa

4.1.1. *Streptococcus* thermopillus ATCC 14425 suşun $Co(NO_3)_2.6H_2O$)'de hücre gelişimi ve EPS üretimi…….....42

4.1.2. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun $ZnSO_4.7H_2O$' de hücre gelişimi ve EPS üretimi……..44

4.1.3. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun $Cr(NO_3)_3.9H_2O$' de hücre gelişimi ve EPS üretimi.....46

4.1.4. *Streptococcus thermophilus* ATCC suşun $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$) de hücre gelişimi ve EPS üretimi.....49

4.1.5. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun $NiCl_2$' de hücre gelişimi ve EPS üretimi……...…..51

4.1.6. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun $K_2Cr_2O_7$' de hücre gelişimi ve EPS üretimi…….....53

4.1.7. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun $CuSO_4.5H_2O$' de hücre gelişimi ve EPS üretimi……..55

4.1.8. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun $AgNO_3$' de hücre gelişimi ve EPS üretimi.....57

4.1.9. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun $CdCl_2$' de hücre gelişimi ve EPS üretimi.....59

4.2. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun hücre gelişimi ve EPS üretimi……..…61

4.2.1. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $Co(NO_3)_2.6H_2O$)' de hücre gelişimi ve EPS üretimi.....62

4.2.2. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $ZnSO_4.7H_2O$' de hücre gelişimi ve EPS üretimi……...64

4.2.3. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $Cr(NO_3)_3.9H_2O$' de hücre gelişimi ve EPS üretimi……..66

Sayfa

4.2.5. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $NiCL_2$' de hücre gelişimi ve EPS üretimi……..71

4.2.6. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $K_2Cr_2O_7$' de hücre gelişimi ve EPS üretimi……...73

4.2.7. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $CuSO_4.5H_2O$' de hücre gelişimi ve EPS üretimi.....75

4.2.8. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $AgNO_3$' de hücre gelişimi ve EPS üretimi…….77

4.2.9. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $CdCl_2$' de hücre gelişimi ve EPS üretimi……...79

5. TARTIŞMA VE SONUÇ…….....81

KAYNAKLAR…….....94

ÖZGEÇMİŞ……..99

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 2.1. Probiyotiklerin potansiyel etki mekanizmalarının temeli..... 7

Çizelge 2.2. Gıdalarda bulunabilen kimyasal madde grupları……. 12

Çizelge 2.3. Gıdalarda bulunabilen kimyasal madde grupları……. 13

Çizelge 2.4. Sütte bulunan esansiyel ağır metaller ve selenyumun normal konsantrasyonları……17

Çizelge 2.5. Peynirlerde ağır metal içerikleri……..……...23

Çizelge 2.6. Farklı Streptokokl türleri tarafından üretilen polimer tipleri….….28

Çizelge 2.7. Eksopolisakarit üretme yeteneğine sahip laktik asit Bakterileri 32

Çizelge 3.1. MRS (Man Rogosa and Sharpe) sıvı besiortamı……...38

Çizelge 3.2. Elliker sıvı besiortamı.....39

Çizelge 4.1. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun $Co(NO_3)_2.6H_2O$' nin farklı konsantrasyonlarında hücre gelişimi ve EPS üretimi……...……42

Çizelge 4.2. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun $Co(NO_3)_2.6H_2O$' nin farklı konsantrasyonlarında toplam hücre içi protein miktarı…….……42

Çizelge 4.3. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun $ZnSO_4.7H_2O$' nin farklı konsantrasyonlarında hücre gelişimi ve EPS üretimi…….....47

Çizelge 4.4. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun $ZnSO_4.7H_2O$' nin farklı konsantrasyonlarında toplam hücre içi protein miktarı…….....47

Çizelge 4.5. *Streptococcus. thermophilus* ATCC 14425 suşun $Cr(NO_3)_3.9H_2O$' un farklı konsantrasyonlarında hücre gelişimi ve EPS üretimi…….……..….46

Çizelge 4.6. *Streptococcus. thermophilus* ATCC 14425 suşun $Cr(NO_3)_3.9H_2O$' un farklı konsantrasyonlarında toplam hücre içi protein miktarı……..47

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 4.7. *Streptococcus. thermophilus* ATCC 14425 suşun $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$ farklı konsantrasyonlarında hücre gelişimi ve EPS üretimi……..... .49

Çizelge 4.8. *Streptococcus. thermophilus* ATCC 14425 suşun $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$ farklı konsantrasyonlarında toplam hücre içi protein miktarı……..... 49

Çizelge 4.9. *Streptococcus. thermophilus* ATCC 14425 suşun $NiCl_2$' nin farklı konsantrasyonlarında hücre gelişimi ve EPS üretimi…….……...51

Çizelge 4.10. *Streptococcus. thermophilus* ATCC 14425 suşun $NiCl_2$' nin farklı konsantrasyonlarında toplam hücre içi protein miktarı...…….……...51

Çizelge 4.11. *Streptococcus. thermophilus* ATCC 14425 suşun K_2Cr2O_7' nin farklı konsantrasyonlarında hücre gelişimi ve EPS üretimi...……..…….53

Çizelge 4.12. *Streptococcus. thermophilus* ATCC 14425 suşun K_2Cr2O_7' nin farklı konsantrasyonlarında hücre toplam hücre içi protein miktarı. ……..…….53

Çizelge 4.13. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun $CuSO_4.5H_2O$' nin farklı konsantrasyonlarında hücre gelişimi ve EPS üretimi..……...…….55

Çizelge 4.14. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun $CuSO_4.5H_2O$' nin farklı konsantrasyonlarında hücre toplam hücre içi protein miktarı ……...…….55

Çizelge 4.15. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun $AgNO_3$' nin farklı konsantrasyonlarında hücre gelişimi ve EPS üretimi...……...…...57

Çizelge 4.16. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun $AgNO_3$' nin farklı konsantrasyonlarında hücre toplam hücre içi protein miktarı.. ..……...…...57

Çizelge 4.17. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 Suşun $CdCl_2$' nin farklı konsantrasyonlarında hücre gelişimi ve EPS üretimi..……...……..…..59

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 4.18. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun metallere karşı LC_{50} değerleri……..……..…..60

Çizelge 4.19. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $Co(NO_3)_2.6H_2O$' nin farklı konsantrasyonlarda hücre gelişimi ve EPS üretimi……..……..……...….62

Çizelge 4.20. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $Co(NO_3)_2.6H_2O$' nin farklı konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı ……..……..…….62

Çizelge 4.21. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricu s*ATCC 11842 suşun $ZnSO_4.7H_2O$' nin farklı konsantrasyonlarında hücre Gelişimi ve EPS üretimi……...……...……..……64

Çizelge 4.22. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricu s*ATCC 11842 suşun $ZnSO_4.7H_2O$' nin farklı konsantrasyonlarında toplam hücre içi protein miktarı.. …...……...……..……64

.

Çizelge 4.23. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $Cr(NO_3)_3.9H_2O$'nin farklı konsantrasyonlarında hücre gelişimi ve EPS üretimi…….....…...66

Çizelge 4.24. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $Cr(NO_3)_3.9H_2O$'nin farklı konsantrasyonlarında toplam hücre içi protein miktarı.. …….....67

Çizelge 4.25. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$' nin farklı konsantrasyonlarında hücre gelişimi ve EPS üretimi…...…...69

Çizelge 4.26. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$' nin farklı konsantrasyonlarında toplam hücre içi protein miktarı ……...69

Çizelge 4.27. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $NiCL_2$' nin farklı konsantrasyonlarında hücre gelişimi ve EPS üretimi……...……71

Çizelge 4.28. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $NiCL_2$' nin farklı konsantrasyonlarında toplam hücre içi protein miktarı ……...……71

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 4.29. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $K_2Cr_2O_7$' nin farklı konsantrasyonlarında hücre gelişimi ve EPS üretimi…….....73

Çizelge 4.30. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $K_2Cr_2O_7$' nin farklı konsantrasyonlarında toplam hücre içi protein miktarı ……..…….....73

Çizelge 4.31. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $CuSO_4.5H_2O$' nin farklı konsantrasyonlarında hücre gelişimi ve EPS üretimi….....…76

Çizelge 4.32. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $CuSO_4.5H_2O$' nin farklı konsantrasyonlarında toplam hücre içi protein miktarı….....…76

Çizelge 4.33. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $AgNO_3$' nin farklı konsantrasyonlarında hücre gelişimi ve EPS üretimi……..... 77

Çizelge 4.34. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $AgNO_3$' nin farklı konsantrasyonlarında toplam hücre içi protein miktarı ……..... 77

Çizelge 4.35. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $CdCl_2$' nin farklı Konsantrasyonlarında hücre gelişimi ve EPS üretimi……79

Çizelge 4.36. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun metallere karşı LC_{50} değerleri……..80

.

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.1. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun kullanılan metallere karşı MİK düzeyleri……....41

Şekil 4.2. *Streptococcus thermophilus* ATCC14425 suşun [$CO(NO_3)_2.6H_2O$] farklı konsantrasyolarda hücre gelişimi…….....43

Şekil 4.3. *Streptococcus thermophilus* ATCC 1442511842 suşun [$CO(NO_3)_2.6H_2O$] farklı konsantrasyolarda EPS üretimi…….….43

Şekil 4.4. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun [$ZnSO_4.7H_2O$] farklı konsantrasyolarda hücre gelişimi…….….45

Şekil 4.5. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun [$ZnSO_4.7H_2O$] farklı konsantrasyolarda EPS üretimi.....45

Şekil 4.6. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun [$Cr(NO_3)_3.9H_2O$] farklı konsantrasyolarda hücre gelişimi.....48

Şekil 4.7. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun [$Cr(NO_3)_3.9H_2O$] farklı konsantrasyolarda EPS Üretimi……..48

Şekil 4.8. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun [$Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$] farklı konsantrasyonlarad hücre gelişimi.....50

Şekil 4.9. *Streotococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun [$Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$] farklı konsantrasyonlarda EPS üretimi.....52

Şekil 4.10. *Streptococus thermophilus* ATCC 14425 suşun [$NiCl_2$] farklı konsantrasyonlarda hücre gelişimi…….....52

Şekil 4.11. *Streptococus thermophilus* ATCC 14425 suşun [$NiCl_2$] farklı konsantrasyonlarda EPS üretim…….....54

Şekil 4.12. *Streptococus thermophilus* ATCC 14425 suşun [$K_2Cr_2O_7$] farklı konsantrasyonlarda hücre gelişimi……54

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.13. *Streptococus* ATCC 14425 suşun [$K_2Cr_2O_7$] farklı konsantrasyonlarda EPS üretim……..…...…..56

Şekil 4.14. *Streptococus thermophilus* ATCC 14425 suşun [$CuSO_4.5H_2O$] farklı konsantrasyonlarda hücre gelişimi…….……..…..56

Şeki 4.15. *Streptococus thermophilus* ATCC 14425 suşun [$CuSO_4.5H_2O$] farklı konsantrasyonlarda EPS üretim ……...…..58

Şekil 4.16. *Streptococu thermophilus* ATCC 14425 suşun [$AgNO_3$] farklı konsantrasyonlarda hücre gelişimi…….……...58

.

Şekil 4.17. *Streptococus thermophilus* ATCC 14425 suşun [$AgNO_3$] farklı konsantrasyonlarda EPS üretim……....….61

Şekil 4.18. *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* ATCC 11842 suşun kullanılan metallere karşı MİK düzeyleri……..……63

Şekil 4.19. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun [$AgNO_3$] farklı konsantrasyonlarda hücre gelişimi……..…....63

Şekil 4.20. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 Suşun [$AgNO_3$] farklı konsantrasyonlarda EPS üretim……..….....65

Şekil 4.21. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun [$AgNO_3$] farklı konsantrasyonlarda hücre gelişimi.....…65

Şekil 4.22. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun [$AgNO_3$] farklı konsantrasyonlarda EPS üretimi.....68

Şekil 4.23. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun [$Cr(NO_3)_3.9H_2O$] farklı konsantrasyonlarda hücre gelişimi ……..….68

Şekil 4.24. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun [$Cr(NO_3)_3.9H_2O$] farklı konsantrasyonlarda EPS üretimi ……..70

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.25. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun [$Cr(NO_3)_3.9H_2O$] farklı konsantrasyonlarda hücre gelişimi …….……....70

Şekil 4.26. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun [$Cr(NO_3)_3.9H_2O$] farklı konsantrasyonlarda EPS üretimi. …….....72

Şekil 4.27. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun [$NiCL_2$] farklı konsantrasyonlarda hücre gelişimi……..…72

Şekil 4.28. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun [$NiCL_2$] farklı konsantrasyonlarda EPS üretim……..……..74

Şekil 4.29. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun [$K_2Cr_2O_7$] farklı konsantrasyonlarda hücre gelişimi…….....74

Şekil 4.30. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun [$K_2Cr_2O_7$] farklı konsantrasyonlarda EPS üretimi……76

Şekil 4.31. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun [$CuSO_4.5H_2O$] farklı konsantrasyonlarda hücre gelişimi……...….76

Şekil 4.32. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun [$CuSO_4.5H_2O$] farklı konsantrasyonlarda EPS üretim……....78

Şekil 4.33. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun [$AgNO_3$] farklı konsantrasyonlarda hücre gelişimi ……....78

Şekil 4.34. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun [$AgNO_3$] farklı konsantrasyonlarda EPS üretim……..…81

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim **Sayfa**

Resim 2.1. *Streptococcus thermophilus*……..……...9

Resim 2.2. *Lactobacillus delbrueckii* ssp.*bulgaricus*……10

Resim 2.3. Süt teknolojisinde kullanılan metal ekipmanlar.....14

Resim 2.3. *Thauera* sp. MZ1T tarafından üretilen
ekzopolimerin fotoğrafı…….…….28

Resim 2.4. Ekzopolisakkarit matrikste *Staphylococcus epidermidis.*….....28

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
ºC	Santigrat derece
mM	Milimolar
nm	Nanometre
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
g	Gram
M	Molar
N	Normal
pH	Asitlik Bazlık Birimi
spp	Species (Türleri)
subsp	Subspecies (Alt Tür)

Kısaltmalar	Açıklama
Cfu	Coloni Forming Units
Dk	Dakika
EPS	Eksopolisakkarit
IgA	İmmünoglobulin A
LAB	Laktik asit bakterileri
LDH	Laktat dehidrogenaz
Mİk	Minimum inhibasyon konsantrasyonu
MRS	Man Rogosa Sharpe

1.GİRİŞ

Son yıllarda süt ve süt ürünlerinin fermentasyonunda kullanılan laktik asit bakterilerinin safra ve asitli ortamlara dayanıklıkları, antikolestrol aktiviteleri, safra tuzlarını hidroliz edebilmeleri, antimikrobiyal madde üretebilmeleri ve bağırsakta canlılıkları ve gelişebilme özellikleri ile agregasyon ve koagregasyon durumları bu bakterilerin probiyotik olarak kullanımları üzerinde çalışmalar önem kazanmıştır.

Ağır metaller, gıda maddelerinin yapısına toprak, gübreleme, sulama, ilaçlama ve benzeri çevresel faktörlerle alınabildiği gibi, gıda maddelerinin üretimi ve depolanması sırasında temas ettiği makine, ekipman veya paketleme materyallerinden de bulaşabilmekte ve gıda zinciri yoluyla tüketiciye geçmektedir [Li ve ark., 2005]. İnsanlarda uzun dönemde ağır metallerin birikimi sağlık riskine yol açmaktadır [Cabrera ve ark., 1995].

Bu çalışma ile, yoğurt ve diğer fermente süt ürünlerin üretiminde kullanılan *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 ve *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 starter bakterilerinin çeşitli ağır metallere karşı dirençlilikleri araştırılmıştır. Ayrıca bu bakterilerin ağır metal içeren ortamlarda süt ürünlerinin kıvamını sağlayan ekzopolisakkarit (EPS) üretme yeteneği ve toplam hücre protein miktarındaki değişmenin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Süt ve Süt Ürünleri

2.1.1. Tarihçe

İnsanların çocuk bakım tarihinde süt ve süt ürünlerinin çok önemli bir yeri vardır. Süt çocukların ve bebeklerin önemli temel bir besinidir. Yoğurt, tereyağı, peynir sütten hazırlanmaktadır. Ek olarak kımız, kımız mayası ile sütden elde edilen önemli bir süt ürünüdür.

Yoğurt ilk kez Hunlar zamanında hazırlanmıştır. Uygur Türkleri gıda ve uykusuzluk hastalığının tedavisi için yoğurdu kullanmışlardır. Sarımsak ve yoğurt karıştırılarak hastalara verilmiştir. Karahanlılar döneminde Türklerin çok önemli besin kaynağı ve ilac olarak süt ve süt ürünlerinin olduğu belirtilmiştir [Erdemir, 2004].

2.1.2. Probiyotik olarak bakteriler

İnsanlık tarihinin belli bir sürecinde kullanılmaya başlanan süt, zaman içinde daha farklı kullanım alanlarına girmiştir. Besinlerin saklanma şekillerine ve ortamına bağlı olarak süt fermente olmuştur. Ve böylece ilk fermantasyon ürünleri oluşmuştur. Bununla birlikte her toplumun coğrafik ve topografik faktörlerinin etkisi ile bu ürünlerin özellikleri çeşitlenmiş ve buna paralel olarak toplumların yaşam biçimleri de farklılaşmıştır [Galland ve Barrie, 1993].

Rus araştırmacı Metchnikoff yıllar önce Bulgar köylülerinin daha uzun yaşadığını farketmiş ve bunu araştırdığında bu insanların yüksek miktarda yoğurt tükettiklerini gözlemiş ve yoğurdu incelediğinde canlı bakterilerle karşılaşmış ve bunlara *Lactobacillus bulgaricus* adını vermiştir. Bunu izleyen

birçok araştırma ile özellikle fermente süt ürünlerinden birçok canlı patojen olmayan bakteriler izole edilmiş ve bunlar probiyotikler olarak anılmaya başlanmıştır. Başta anne sütü, kefir, ayran, yoğurt ve peynir gibi fermente süt ürünleri probiyotikler açısından çok önemli kaynaklardır. Patojen olmayan canlı mikroorganizmalar olan probiyotikler ağız yolu ile parçalanmadan kolona vardıklarında intestinal mikrobiyal balansı geliştirip, zenginleştirerek floraya katkıda bulunurlar ve özellikle de kompetisyon yolu ile reseptörlere bağlanarak patojen ajanlara fırsat vermeyerek onların dışarı atılmalarını sağlarlar [Yağcı, 2001]

Probiyotik terimi ilk defa 1965 yılında, Lilly ve Stillwell araştırıcılar tarafından, diğer mikroorganizmaların gelişimini destekleyen maddeleri tanımlamak için kullanılmıştır [Kaur ve ark., 2002]. Genel anlamıyla probiyotikler, insan ve hayvanların doğal mikroflorasına ait özellikleri geliştiren, tüketimleri sonucunda ağızda, sindirim sisteminde, üst solunum yollarında yada ürogenital kanallarda yararlı etkileri ile konakçının sağlığını koruyan, buralarda oluşan enfeksiyonların iyileşmesine katkıda bulunan , tek veya karışık mikroorganizma kültürleridir [Klaenhammer,1999].

Probiyotikler özellikle organizmada, gerek sağlıklı bir gelişme gerekse hastalıkların tedavisinde antibiyotiklerin yerine, doğal biyolojik ürünleri destekleyici alternatif ürünler olarak kullanılabilir. Bu sayede mikroflorada stabilite sağlandığı gibi dışarıdan alınan diğer maddelerin (ilaç, antibiyotik vb.) olumsuz etkilerinin de önüne geçilmiş olunur.

2.1.3. Probiyotiklerin insan sağlığı üzerine etkisi

Probiyotiklerin bağırsak fizyolojisi üzerine dolaylı veya doğrudan etkide bulunarak immun sistemi uyardığı, bu çerçevede konakçının ağız ve sindirim sistemi dahil, üst solunum yolu ve ürogenital sistem mukozal yüzeyini etkileyerek sağlığı geliştirici, hastalık riskini azaltıcı potansiyel etkiye sahip

olduğu bilinmektedir. Probiyotiklerin zararlı etkilerini azalttığı hastalıklar ile güçlenmesine yardımcı olduğu sistemler üzerine etkisi hakkında bilgiler aşağdaki gibi sıralanmıştır [Yücesan, 2002; Shah, 2001].

Akut diyare (ishal) : Çevre koşullarının genellikle yetersiz olduğu gelişmekte olan ülkelerde bebek ve çocuklarda diyare ataklarına rastlanır. Diyare ile seyreden hastalıkların büyük çoğunluğundan enterotoksijenik *E. coli* ve *Rotavirüs* birlikte sorumludur. Endüstrileşmiş ülkelerde ise bebekler ve çocuklarda diyare ataklarına daha az rastlanmaktadır. Ancak en sık görülen sorumlu etken *Rotavirüs*'dür. Fermente süt ürünlerin *Rotavirüs* diyareli çocuklarda diyarenin süresini yarı yarıya azaltmaktadır [Salminen ve ark., 1996].

Antibiyotik kullanımı sonucu oluşan diyare: Antibiyotiğe bağlı diyare de; bağırsak mikroflorasındaki faydalı mikroorganizmaların bir kısmının ölmesi ile zararlı mikroorganizmaların baskın hale gelmesine sebep olur. Bu nedenle antibiyotik tedavisinin genellikle sindirim sisteminde bazı yan etkilere neden olduğu, antibiyotik alan hastaların %<20 sinde diyare oluştuğu bildirilmektedir.

Antibiyotik kaynaklı diyarenin önlenmesi için birçok probiyotik kullanılmıştır. Bunlardan bazıları *Saccharomyces, Lactobacillus, Bifidobacterium* ve *Streptococcus*' dur. Bu probiyotiklerin kullanımı sonucu diyare süresinin kısaldığı ve hatta bazı suşların kullanılmasıyla önlendiği belirlenmiştir [Marteau ve ark., 2001; Rolfe, 2000].

Helicobacter pylori enfeksiyonları: *Helicobacter pylori*, insan ve diğer primatların midesine yerleşen spiral şeklinde, gram-negatif, mikroaerofilik bir bakteridir. Günümüzde insanlarda ve hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, *H. pylori*'nin lokal inflamasyona ve sistemik olarak da humoral bağışık yanıta neden olduğunu göstermiştir [Yılmaz, 2004].

Bu bakteri İnsanlarda kronik gastrit ve peptik ülser hastalıklarının nedenidir [Zubillago ve ark., 2001].

Bazı laktik asit bakterileri, özellikle mandıra starter kültürleri ile fermente edilen süt, *H. pylori* üzerinde antibakteriyel etkiye sahiptir. Laktik asit bakterileri genellikle organik asitler, hidrojen peroksit ve peptit gibi düşük moleküler ağırlıklı bileşikleri içeren birkaç antimikrobiyal bileşik üretir. Yapılan bir çalışma sonucunda, *Lactobacillus salivarus'* un, *H. pylori'* ye karşı potansiyel etkili probiyotik olduğu bulunmuştur [Rolfe, 2000; Wendakoon ve Özimek, 2002].

Hepatik ensefalopati: Barsaklarda azotlu bileşiklerin amino asit deaminasyonu ve bakteriyal hidrolizi ile oluşan amonyağın, hepatik ensefalopati patogenezinde önemli rol oynadığı kabul edilmektedir. *Lactobacillus acidophilus* ve neomisin ile tedavi edilen hastalarda yanlız neomisin ile tedavi edilen hastalara kıyasla fekal üreaz aktivitesinin daha fazla azaldığı belirlenmiştir. Fekal üreaz aktivitesinin azalması; serum amonyak düzeyini düşürerek hastanın klinik durumunun düzelmesine yol açmaktadır [Çakır, 2003; Rolfe, 2000; Yücesan, 2002].

Laktoz intoleransı: Laktoz direk olarak bağırsaktan absorbe edilemediğinden, glukoz ve galaktoz gibi basit şekerlere hidrolize olması gerekmektedir. Enerji üretiminde ya da vücudun temel taşlarının yapımında kullanılan bu monosakkaritlerin arzu edilen faydayı sağlayabilmesi için gerekli olan hidroliz, ince bağırsak kanalında iç yüzeyinde bulunan β-galaktosidaz enzimiyle sağlanır. İnsanlarda laktaz enzimiyle ilgili olarak ortaya çıkan problemler, bu enzimin salgılanmamasından veya doğumdan itibaren ince bağırsakta yetersiz miktarda bulunmasından kaynaklanmaktadır. Alınan laktoz ince bağırsakta parçalanmadan kalın bağırsağa (kolon) geçer. Burada laktoz yoğunluğu artar ve bunun sonucu olarak ozmotik basınç yükseldiği için bağırsak lümenine hızlı bir şekilde su gelir. Laktoz daha sonra kalın bağırsakta bulunan bakterilerin sentezledikleri enzimle parçalanır.

Fermentasyona uğrar ve bu fermentasyon sonucu kısa zincirli yağ asitleri, hidrojen, karbondioksit ve çeşitli asitler oluşur. Bu olayların sonunda kişilerin bağırsağında gaz toplanır ve bunlarda şişkinlik, karın ağrısı, kramplar ve diyare gibi rahatsızlıklar oluşturarak, buna "laktoz intoleransı" denilir. Laktoz intoleransı olan kişiler yoğurt ve ayranı daha rahat tüketebildikleri gibi probiyotik mikroorganizma içeren süt ürünlerini de kullanabilirler. *Lactobacillus acidophilus* içeren sütle beslenmenin laktozun sindirilmesinde etkili olduğu ve bununda *L. acidophilus*' un bağırsaktaki işlevinden kaynaklandığı bildirilmiştir [Yücesan, 2002].

Yoğurt yapımında kullanılan *Lactobacillus delbrueckii* ssp*. bulgaricus* ve S*treptococcus thermophilus*' tan oluşan geleneksel kültürler önemli miktarda β- D-galaktosidaz enzimi içerdikleri için, yoğurt tüketimi laktozun metabolize edilememesine bağlı bağırsak hastalıklarını azaltmaktadır. Yoğurt ve probiyotik yoğurtla yapılan çalışmalarda laktoz emilimi iyi tolere edilmiştir. Sütteki laktozun bir kısmı yoğurt bakterileri tarafından fermantasyon sırasında parçalanmaktadır [Çakır, 2003; Eralp, 1974].

Serum kolestrolünün düşürülmesi: Bazı kan lipidlerinin yüksek düzeye ulaşması kalp damar hastalıkları açısından risk faktörü oluşturabilir. Araştırmalar, kültürlü fermente süt ürünleri tüketiminin, serum kolestrol değerinin düşmesine yardımcı olduğunu göstermiştir [Çakır, 2003]. Hiperkolestremik insanların 10^9 /g oranında probiyotik bakteri içeren fermente süt ürünleriyle beslenmesi sonucunda, kolestrol değerinin 3,0 g/l' den 1,5 g/l' ye düştüğü belirlenmiştir [Shah, 2001].

Kanser: Birçok ülkede kırmızı et ve yağ tüketimi ile bağırsak kanseri arasında pozitif bir ilişkinin var olduğu kanıtlanmıştır. Bununla birlikte, Finlandiya' da, yüksek oranda yağ tüketimine karşın kalın bağırsak kanseri oranı oldukça düşük düzeydedir. Bu çelişkinin Finlilerin oldukça yüksek miktarda fermente süt ürünü tüketmelerinden kaynaklandığı sanılmaktadır [Ozer ve Akın, 2000].

Hipertansiyon: Yaşlı hipertensif bireyler üzerinde yapılan çalışmalarda 8 hafta süreyle fermente edilmiş süt tüketiminin sistolik ve diastolik kan basıncını önemli derecede azalttığı bildirilmiştir. Bu ve benzeri çalışmalar sonucu probiyotik bakterilerin hipertansiyonu düşürmek için alternatif bir yaklaşım olabileceği belirlenmiştir [Çakır, 2003].

İmmün sistemin düzenlenmesi: Probiyotik bakterilerin endojen savunma mekanizmasının arttırdığı ileri sürülmektedir. Probiyotiklerin barsaklarda özgül olmayan savunma bariyerini uyarıcı etkisi , artan intestinal permeabiliteyi normale dönüştürmesi ve barsak mikroflorasını değiştirmesi ile açıklanmaktadır. Probiyotiklerin bu etkinliklerini fagositik aktivite, sitokin salınımı, doğal öldürücü hücre aktivitesi, immünoglobulin aktivitesi (Ig A, IgG, IgM), T ve B hücre fonksiyonunu arttırarak gösterdiği ileri sürülmektedir [Çakır, 2003].

Probiyotiklerin insan sağlığı üzerine yararlı etkileri ve bu etkilerin mekanizması kısaca Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Probiyotiklerin potansiyel etki mekanizmalarının temeli [Çakır,2003]

Yararlı etki	Etkinin mekanizması
Laktoz sindirimine katkı	Bakteriyel laktaz ile laktozun sindirimi
Enterik patojenlere karşı direnç	Bağışıklık salgılama etkisi Kolonizasyon direnci İntestinal sistemin patojenleri için uygun olmayan koşullara değişimi (pH, kısa zincirli yağ asitleri ve bakteriyosinler) Toksin bağlama bölgelerinin yapısal değişimi İntestinal flora populasyonları üzerindeki etki İntestinal mukozada agregasyon oluşturarak patojenlerin bağlanmasını engelleme İntestinal müsin üretimini düzenleyerek patojenleri epitel hücrelere tutunmasını önlemek

Çizelge 2.1. (devam) Probiyotiklerin potansiyel etki mekanizmalarının temeli [Çakır,2003].

Bağırsak kanserini önleyici etki	Mutajenleri bağlama Karsinojenlerin aktivitesini engelleme Bağırsak mikroorganizmalrının ürettiği karsinojen üreten enzimlerin inhibisyonu Bağışıklık sistemini güçlendirme İkincil safra tuzu konsantrasyonunu etkileme
İmmün sisteminin düzenlenmesi	Enfeksiyon ve tümör oluşumuna karşı spesifik olmayan savunma mekanizmasını güçlendirir. Antijene özgü immün yanıta yardımcı etki IgA üretimini arttırılması
Alerji	Antijen etkiye sahip maddelerin dolaşım sistemine geçişinin engellenmesi
Kan lipidleri ve kalp hastalıklarını önlemesi	Kolestrolün bakteri hücresi içinde asimilasyonu Safra tuzu hidrolazın dekonjugasyonu ile safra tuzlarının atılımını arttırmak Antioksidasyon etkisi
Hipertansiyonu önleyici etkisi	Peptidazın süt proteinleri üzerine etkisi sonucu oluşan tripeptidler angiotensin1 enzim dönüşümünü inhibe etmesi Hücre duvarı komponentlerinin angiotensin 1 enzim inhibitörleri gibi davranması
Ürogenital enfeksiyonlar önleyici etkisi	Ürinar ve vajinal bölge hücrelerine adhesyon Bölgeye güçlü kolonize olabilme İnhibitör üretimi (H2 O2 , biyosürfaktant)
Helicobacter pylori'nin neden olduğu enfeksiyonların önlenmesi	H.pylori inhibitörlerinin (laktik asit, bakteriosin v.b.) üretimi

2.2. Laktik Asit Bakterileri

Laktik asit bakterileri prokaryot, heterotrof ve kemoorganotrof olan canlı grubu içinde yer alır [Kılıç, 2001].

Laktik asit bakterilerinin özellikleri; G(+), immobil, spor oluşturmazlar, anaerobdurlar, fakat oksijene toleransları vardır. Katalaz enzimini içermezler

(bazıları yalancı katalaz içerebilir), nitratı redükte etmezler. Sitokromoksidaz enzimleri bulunmaz. Hidrokarbonları fermente ederek önemli miktarda laktik asit üretirler. Bu özelliklere uyan bakteriler arasında 4 bakteri sınıfı ayırdedilir; *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc'* lar. [Çakır, 2001]

Laktik bakterilerin çoğu insan, hayvan ve bitki gibi doğal ortamlardan izole edilebilirler ve doğal habitatlarında bulunurlar (örneğin süt, vajina, sıcak kanlıların bağırsağı, feçes, dudaklar, meyve veya sebzelerde) [Çakır, 2001]

2.2.1. *Streptococcus* cinsi bakterilerin genel özellikleri

Streptococcus cinsi bakteriler *Streptococcaceae* familyasına ait olup Laktik asit bakterileri grubundandır [Sneath,1986].

Gram pozitif, katalaz negatif, fakültatif anaerobik, bazı türleri mikroaerofiliktirler. Hücreler yuvarlaktan ovale kadar değişen şekilde olup 2 µm çapta, ikili veya zincir şeklinde bulunurlar. Genellikle hareketsiz olan bu bakteriler kültür ortamında küçük ve renksiz koloniler oluştururlar [Kılıç, 2001; Raśić ve Kurmann,1978; Ayhan, 2000]. *Streptococcus thermophilus* bakterinin morfolojik görüntüsü Resim 2.1'de verilmiştir [internet, bioweb.usu.edu].

Resim 2.1. *Streptococcus thermophilus' un* morfolojik görüntüsü

Kemoorganotrof canlılardır. Fermentatif metabolizmaları mevcuttur. Homofermentatif olarak glukozu (L+) laktik asite dönüştürürler. Bazı türleri malik ve sitrik asit gibi organik asitleri serin ve arginin gibi aminoasitleri fermente ederler [Kılıç, 2001].

10 ^{o}C' de gelişmez,45 ^{o}C' de gelişir %6,5 NaCl çözeltisinde, 9,6 pH ve %0,1 metilen mavili sütte gelişmezler. Argininden NH_3 oluşturmazlar. Beta hemolitik negatiftirler. Bu cinsin temsilcisi *Streptococcus thermophilus*' dur [Kılıç, 2001].

2.2.2. *Lactobacillus* cinsi bakterilerin genel özellikleri

Lactobacillus spp. suşları 2-53 ^{o}C'de (Optimum 30-40 ^{o}C) gelişirler. Hafif asidik ortamda daha hızlı çoğalarak *Streptococcus*' lardan daha fazla asit oluştururlar. Bu nedenle aside dayanıklıdırlar. Aynı zamanda, bu bakteriler % 1–3 oranında laktik asit oluşturarak pH'yı 3,2–3,5'e kadar düşürürler. Ayrıca *Lactobacillus* cinsine ait türlerin proteolitik aktiviteleri de yüksektir [Salminen ve ark., 1996; Marteau ve ark., 2001]. *Lactobacillus delbrueckii* spp*. bulgaricus'* un morfolojik görüntüsü Resim 2.2'de verilmiştir [internet, bioweb.usu.edu].

Resim 2.2. *Lactobacillus delbrueckii* ssp*. bulgaricus'* un morfolojik görüntüsü.

Çoğu türleri patojen değildir. *L. catenaforme*, plöropulmoner enfeksiyonlar ile ilişkili olduğu bulunmuştur [Rolfe, 2000].
Lactobacillus cinsi bakteriler anaerobik, gram pozitif, katalaz negatif, spor oluşturmayan bakterilerdir ve genelde hareketsiz olsalar da bazı türleri flagellalara sahiptirler. Çoğu *Lactobacillus* cinsi bakteriler çubuk (basil) şekillidirler ancak bazı türleri farklı uzunlukta ve zincir şeklindedirler (koko-basil) [Zubillago ve ark., 2001].

Laktik asit bakterilerinin çoğu en az bir adet plazmid içerir. Plazmidler, ekzopolisakkarit ve antimikrobiyal madde sentezi gibi koruma görevi üstlenmiştir [Wendakoon ve Ozimek, 2002].

Yoğurt üretimi için hazırlanan saf kültürlerde *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* birlikte bulunur.

2.3. Gıda Güvenliği

Gıda güvenliği ve halk sağlığı tüm ülkelerin stratejik öneme sahip konularının başında yer almaktadır. Gıda ile ilişkili tehlikler fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak üç sınıfa ayrılmaktadır. Fiziksel tehlikeler gıda maddelerinde bulunması istenmeyen her türlü yabancı maddeler (taş, toprak, metal, cam, kemik, tahta ve benzeri) olup, tüketici tercihini etkiler ve sağlık sorunlarına yol açabilir. Gıda güvenliği yönünden önemli biyolojik tehlikeler kapsamında bakteriyel, fungal, viral ve paraziter etkenler yer almaktadır. Başlıca kimyasal tehlikeler kapsamında hayvancılıkta ve bitkisel üretimde verim arttırmak amacıyla hatalı ve bilinçsiz olarak kullanılan veteriner ve zirai ilaç kalıntıları ile çevresel kaynaklardan bulaşan poliklorlu bifeniller, dioksin ve ağır metaller veya gıda işleme aşamalarında oluşan polisiklik aromatik hidrokarbon bileşikleri, nitrozaminle, ambalaj materyalinden kaynaklı polivinil klorür benzeri maddeler sayılabilir. Ayrıca, gıda katkı maddelerinin gıda sınıfı olması, tekniğine uygun olarak kullanılması ve öngörülen dozlarda uygulanmasının kontrolü büyük öneme sahiptir. Bugün ilaç, gıda katkı

maddesi, kozmetik, tarım ilacı, endüstri kimyasalı olarak kullanılan her kimyasalın insan sağlığı ve çevreye olan etkisi ayrıntılı olarak incelenmekte, insan sağlığı ve çevre üzerinde kabul edilemez ölçüde risk taşıyanların kullanımına izin verilmemektedir.

2.3.1. Gıdalardaki kimyasal maddeler

Gıdalar kompleks kimyasal karışımlardır Çizelge 2.2' de gösterilmektedir

Çizelge 2.2. Gıdalarda bulunabilen kimyasal madde grupları

Besin ögeleri	Besin değeri olmayan kimyasallar
Karbonhidratlar	Gıda ürünündeki doğal kimyasallar
Proteinler	Gıda katkı maddeleri
Yağlar	Gıda kontaminantları
Mineraller	
Vitaminler	

Besin öğeleri olarak adlandırılan karbonhidratlar, proteinler, yağlar, mineraller ve vitaminler yaşam için mutlak gerekli olan maddelerdir. Bitkilerdeki doğal kimyasal maddelerden bir bölümü bitkinin evrimi sırasında kendisini diğer canlılardan korumak için geliştirdiği kimyasallardır. Bitkilerde bulunan bu tür kimyasallar, doğal pestisitler olarak da adlandırılmaktadırlar. Gıdalarda doğal olarak bulunan kimyasal maddeleri toksik niteliğindedir. Bu maddeler arasında yüksek dozlarda deney hayvanlarında karsinojenik etki dahil değişik toksik etki şekillerini gösteren çok sayıda kimyasal vardır.

Herhangi bir işleme uğratılmadan tüketilen gıdalar içerisinde gıda kontaminantları da dahil olmak üzere çok sayıda kimyasal madde bulunur. İşlenmiş gıdalarda (hazır gıdalar) ise bu gruplara ilaveten gıda katkı maddeleri de bulunur. Gıda katkıları işlenmiş gıdaların üretiminde teknolojik işlemlere yardımcı olma, mikrobiyolojik bozulmayı önleme, dayanıklılığı

arttırma, besleyici değeri koruma, renk, görünüş ve lezzet gibi duyusal özellikleri düzeltme gibi değişik amaçlarla kullanılan çeşitli kimyasal maddelerdir.

2.3.2. Gıda kontaminantları

Gıda kontaminantları gıdalara bulaşan kimyasal maddelerdir. Üretim sırasında kullanılan tarım ilaçlarının (pestisitler) gıdadaki kalıntıları, kurşun (Pb), cıva (Hg), dioksin, polisiklik aromatik hidrokarbonlar vb. çevre kirliliği ajanları, hayvansal ürünlerdeki veteriner ilaçları kalıntıları, pişme sırasında oluşan piroliz ürünleri, gıda üzerinde kimyasal tepkimelerle oluşan N-nitroso bileşikleri, gıdalarda üreyen mantarların metabolizma artıkları olan mikotoksinler, gıda ambalaj maddelerinden gıdalara bulaşan kimyasallar, gıda kontaminantı olarak adlandırılırlar. Gıdalardaki çok sayıda kontaminantı (kimyasal kirlilikleri) Çizelge 2.3' teki gibi sınıflandırılabiliriz

Çizelge 2.3. Gıdalarda bulunabilen kimyasal madde grupları

1. Pestisit Kalıntıları (Üretim sırasında kullanılan tarım ilaçlarının sebze ve meyvelerdeki kalıntıları)
2. Çevre Kirleticileri (Çevre kirliliğine neden olan kimyasalların doğrudan ya da biyokonsantrasyon gibi mekanizmalarla zenginleşerek gıdalara yansıması sonucu oluşan kirlilikler)
a. Pestisitler (Klorlu Hidrokarbonlar: *DDT, Aldrin, Lindan, Dieldrin, Endrin, Klordan*)
b. Metaller (*Kurşun, Kadmiyum, Cıva*)
c. Radyonüklidler (Cs-137, Sr-90)
d. Klorlu Organik Bileşikler (*Poliklorobifeniller, Dibenzodioksinler, Dibenzofuranlar*)
3. Mikotoksinler (*Aflatoksinler, Patulin*)
4. Gıdalarda Kimyasal Tepkimeler ile Oluşan Kimyasal Kirleticiler (*N-Nitrozo Bileşikleri*)
5. Veteriner Hekimlikte Kullanılan İlaçlar
6. Ambalaj Malzemelerinden Gıdaya Taşınan Kirleticiler (*Plastifiyanlar, Monomerler*)
7. Pişirme Sırasında Oluşan Kirleticiler (Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar, Piroliz Ürünleri, Akrilamid)

2.4. Süt Ürünlerinde Kontaminasyon

Kimyasal kontaminantlar diğer doğal ürünlerde bulunabildiği gibi süt ve süt ürünlerinde de bulunabilir. Sütte bulunma olayı, ineklerin doğada kontaminant bulunan çimenleri tüketmeleri sonucunda ortaya çıkmaktadır. Kontaminantların büyük bir kısmı idrar veya dışkı ile atılır, bir kısmı karaciğerde inaktive edilir veya giderilir ve bir kısmı da süt ile dışarı çıkartılır,

Veteriner ilaçları sütte bulunabilen birçok kimyasal kontaminantlardan birisidir. Kimyasal kontaminantlar yanlız insan kaynaklı olmayıp, doğal toksinler (bitkilerden veya mantarlardan) kaynaklanabilir.

Resim 2.3. Süt teknolojisinde kullanılan metal ekipmanlar.

Günümüzde 80 000 civarında kimyasal madde çeşitli amaçlar için kullanılmakta ve bu sayı her geçen yıl artmaktadır. Bugün bu değer 400 milyon ton/yıl ulaşmıştır. Gerek kimyasal maddelerin her alanda yoğun olarak kullanılmaya başlanması gerekse kontrolsuz kullanımın yarattığı ciddi sağlık ve çevre sorunları, toplumlarda kimyasal kullanımına karşı oluşan korku ve tepkinin nedenidir. Kimyasalların insan sağlığı üzerindeki etkileri devamlı tartışma konusu olmaktadır.

2.4.1. Kontaminasyon Kaynakları

Ağır metaller, gıda maddelerinin yapısına toprak, gübreleme, sulama, ilaçlama ve benzeri çevresel faktörlerle alınabildiği gibi, gıda maddelerinin üretimi ve depolanması sırasında temas ettiği makine, ekipman veya paketleme materyallerinden de bulaşabilmektedir [Özrenk, 2002].

Şimşek ve ark. (2000) Türkiye' de üç farklı bölgeden topladıkları süt örneklerinde bazı ağır metallerin içeriğini belirlemişler ve 75 örnekte kurşun (Pb) 0,032, 0,049,0,018 mg/kg, çinko (Zn) 4,49, 5,01, 3,77 mg/kg; bakır (Cu) 0,58, 0,96, 0,39 mg/kg; demir (Fe) 1,78, 4,27, 1,01 mg/kg olarak belirlenirken örneklerin hiçbirinde civa (Hg) belirlenmemiştir. En yüksek ağır metal içeriği endüstriyel bölgelerden toplanan süt örneklerinde ve bunu izleyerek yoğun trafik bölgelerinde ve kırsal bölgelerde tespit etmişlerdir [Şimsek ve ark.,2000].

Çinko (Zn), bakır (Cu), krom (Cr), kadmiyum (Cd) ve kurşun (Pb) gibi ağır metaller süt üretim sisteminin potansiyel biyoakümülatif toksinleridir [Li ve ark., 2005].

Gıda maddelerine bulaşan ağır metaller gıda zinciri yoluyla insan vücuduna alınmaktadır. Böylece kontamine olmuş gıda maddesinin tüketilmesi ile vücuda alınan ağır metaller konsantrasyonu ve vücutta tutulma miktarına bağlı olarak önemli ani ölümlerle bile sonuçlanabilecek sağlık sorunlarına yol açabilirler.

Ağır metallerin süt ile buluşması iki yolla olmaktadır.

1- Direk Kontaminasyon: Süt hayvanlarının ağır metal kaynaklarından; örneğin yalama taşları, gübreler, biyosidler, kanalizasyon atıkları, madencilik atıkları, egzos atıkları ile yoğun bulaşık yeşil alanlar gibi kaynaklardan

vücuda dolayısıyla meme dokusu vasıtası ile direkt süte bulaşan kontaminasyondur.

2- Sağım Sonrası Kontaminasyon: Sütün taşınması, işlenmesi sırasında temas ettiği metalik yüzeyler ve diğer metal kaynakları ile teması sonucu meydana gelen kontaminasyondur.

Sütün belirtilen sağlık açısından olumsuzluğunun yanı sıra süt teknolojisinin evreleri sırasında süt ürünleri yapımında meydana getirdiği bozukluklardır. Bunlardan mayalanmanın gerçekleşmemesi, kaynama derecesine etkisi, pıhtılaşmama, renk bozuklukları vs. olarak gösterilebilinir. Ülkemiz gıda üretiminin yaklaşık % 20 sini oluşturan süt endüstrisi için bu zarar oldukça önemlidir [Çelik, 2003].

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) süt ve diğer gıdalardaki bu ağır metal kontaminasyonu ve etkilerinin araştırılması üzerine oluşturduğu komisyonlarla son derece hassas yaklaşmakta ve dünya çapında çalışmalar yapmaktadır.Ülkemizde ise yapılan birçok çalışma sonucu özellikle direkt; yani çevresel kirlenmeden dolayı sütteki ağır metal miktarları ve etkisi üzerine araştırmalar yapılmış olup, bazı araştırmalarda özellikle endüstriyel bölgelerimizde yapılan çalışmalarda kritik değerlerin üstünde ağır metal içeren süt ve ürünlerine rastlanmıştır [Bayraktaroğlu, 1993].

2.4.2. Süt ve süt ürünlerinde ağır metallerin durumu

Sütte bulunan önemli ağır metallerin konsantrasyonları çizelge 2.4’ de verilmiştir [IDF Bülteni 278/1992].

Çizelge 2.4. Sütte bulunan esansiyel ağır metaller ve selenyumun normal konsantrasyonları

Element	Ortalama	Değişim oranı	Birim
Zn	0,38	0,21-0,55	mg/kg (ppm)
Fe	45	30-70	µg/kg (ppb)
Cu	10	2-30	“ “
Se	4,7	4,5-5	“ “
Mo	4,2	2,4-6,0	“ “
Cr	2,5	1-4	“ “
Ni	2,5	0,4-6	“ “
Mn	2,5	1,3-4	“ “
Co	80	50-130	ng/kg (ppt)

Ağır metallerden kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), civa (Hg), arsenik (As), krom (Cr) ve selenyumun toksik etkileri aşağdaki gibi özetlenebilir;

Kurşun = Nörofizyolojik gelişme
Kadmiyum = Nefrotoksik
Civa = Sinir zehiri, nefrotoksik
Arsenik = İnorganik arsenik kansorejendir; organik arsenik ise daha az toksiktir.
Krom = Genotoksik
Selenyum = Sinir zehiri

Kurşun (Pb), civa (Hg), kadmiyum (Cd) ve arsenik (As)’ nin yetişkinler için tavsiye edilen dozları WHO/FAO'nun uzmanlar grubu tarafından Geçici TWI (PTWI) değerleri (mg/60 kg yetişkin/haftada) aşağıda verilmiştir [IDF Bülteni 278/1992].

Kurşun : 1,5 mg
Kadmiyum : 0,42 mg
Civa : 0,30 mg
Arsenik : 0,09 mg

Diğer bir problem de kötü proses koşullarının neden olduğu ve özellikle demir (Fe) veya bakır (Cu) gibi metal katyonlarınca kataliz edilen aroma bozukluklarıdır.

Sütte ağır metal ve diğer iz elementlerin miktarları oransal olarak sabit olup, yalnızca kontamine olmuş hayvan yemleri ile beslenme bu miktarları sütte artmaktadır. Özellikle kurşun (Pb) ve civa (Hg) gibi yağda çözünen ve genellikle süt yağı ile dışarı atılan ağır metallerin alifatik ve/veya aromatik organik bileşikleri ile bunların iyonik/katyonik tuzlarının, süt serumuna bulaşması süt ineklerinin değişik metabolik aktiviteleri sonucunda önlenmektedir. Sütteki esansiyel iz elementlerin miktarı çok düşük olup, bir insanın fizyolojik gereksinimlerini karşılayacak düzeyde değildir ve sütte bulunan düzeyleri büyük ölçüde intoksikasyonlara yol açma sınırının altında bulunmaktadır. Bununla birlikte süt ve süt ürünlerindeki bazı tat ve aroma kusurları demir (Fe) , bakır (Cu) gibi elementlerin katalitik etkisi sonucu meydana gelmektedir. Bu yüksek konsantrasyon düzeyleri özellikle uygun olmayan ekipmanların kullanımı ve sonucunda ürünlerde sonradan kontaminasyonlar şeklinde görülmektedir [Kınık ve ark., 2002].

Kadmiyum (Cd) ve civanın (Hg) diğer elementlerle kıyasladığında kaynama noktalarının düşük olması bu elementlerin çevreye yayılmasında ısısal işlemlerin etkili olabileceğini göstermektedir. Kurşunun (Pb) ise kaynama noktası daha yüksek olup atmosferde daha çok oksitleri yada sülfit/sülfat bileşikleri halinde inorganik yapıda bulubnmaktadır. Dünya kurşun (Pb) üretiminin büyük çoğunluğu, benzinden kaynaklanan çevresel kontaminasyonları engellemek amacı ile tetraalkil kurşun (Pb) bileşiklerinin eldesinde yararlanılmaktadır. Kadmiyumun organik yapıdaki bileşikleri olup yüksek toksik olmasına karşın stabil yapıda bulunmamaktadır [Kınık ve ark. 2002].

Özdemir ve ark. (2000) belirttiğine göre; özellikle sütteki demir (Fe) ve bakır (Cu) düzeyinin yüksek olması, süt yağının oksidasyonunu artırmakta ve

tereyağı teknolojisinde tat ve aroma bozukluklarına neden olmaktadır. Ayrıca metaller, süt bakterilerinin fermantatif aktivitelerini de olumsuz yönde etkilemektedirler [Özdemir ve ark., 2000].

Yapılan bir çalışmada, bakır (Cu) bakterilerin gelişmesini yavaşlattığı, kadmiyum'un (Cd) inhibitör etkiye neden olduğu ve kurşun' un (Pb) da yüksek düzeyde ortamda bulunmasında benzer etkiyi gösterdiği açıklanmıştır [Kottferova ve Korenekova, 1998].

Kaşar peyniri üzerine yapılan ve iki kısım halinde yürütülen bir çalışma ile ağır metallerin hem hammaddedeki ve hem de son ürün piyasadaki durumu tespit edilmiştir. Çalışmanın birinci kısmında, 120 adet kaşar peyniri örneği 12 ay boyunca piyasadan toplanarak incelenmiştir. İkinci kısımda ise kaşar peyniri üretim basamaklarından (süt, pıhtı, teleme ve ham kaşar peyniri) alınan örneklerde metal araştırması yapılmıştır. Analiz sonuçlarına göre; piyasa örneklerine ait değerlerin yıl boyunca düzensiz bir değişim gösterdiği, mevsim faktörünün $p<0,01$ düzeyinde önemli olduğu belirlenmiş, fakat kaşar peynirlerinde sağlık açısından bir risk bulunmadığı bildirilmiştir. Üretim proseslerinden alınan örneklerde, en fazla artışın sütten pıhtı eldesi aşamasında olduğu ve metal içeriklerinin son ürüne doğru giderek azaldığı saptanmıştır [Yüzbaşı, 2001].

Van' da da tüketime sunulan beyaz ve otlu peynir örneklerinde bazı metal (bakır (Cu), çinko (Zn), mangan (Mn)) kalıntı düzeyleri Ağaoğlu ve ark. (1999) tarafından incelemeye alınmıştır. Yapılan analizler sonucunda bu elementlerin düzeyleri, beyaz peynir örneklerinde sırasıyla 1,77±0,31 mg/kg, 45,80±0,68 mg/kg ve 0,61±0,05 mg/kg, otlu peynirlerde ise 0,49±0,11 mg/kg, 38,82±2,70 mg/kg ve 2,63±0,36 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Çalışmada beyaz peynir örneklerinin % 46,6' sı, otlu peynir örneklerinin ise % 20' si bakır (Cu) elementi açısından Türk Standartlarına uygun bulunmamıştır [Ağaoğlu ve ark., 1999].

Süt ve süt ürünlerinin toksik metal içeriği özellikle faktörlere bağlıdır. Üretim işleminin çeşitli basamaklarında kontaminasyon riski bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada İtalya' da peynir örneklerinde ağır metal analizi yaptıkları çalışmada günlük, olgun Ricotta peynirinde en yüksek düzeyde bulunan metalin krom (Cr) olduğu belirlenmiştir. En düşük konsantrasyon da ise kadmiyumdur. Sütte 0,05 µg/g, günlük peynirde 0,05 µg/g ve olgun peynirde 0,06 µg/g olarak belirlenmiştir. İşletme bölgelerinden alınan örneklerde metallerin içeriği en yüksek bulunmuştur. Kurşun (Pb) sütte (0,18 µg/g) Ricottada peynirinde (0,39 µg/g) olarak belirlenmiştir. Peynir yapımı sırasında kontaminantlar süt proteinlerine bağlanmaktadır. Çalışmada en yüksek civa (Hg) düzeyi taze peynirde bulunmuştur [Anastasio ve ark., 2006].

Yüzbaşı ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada Ankara ' da tüketime sunulan Kaşar peynirlerinin kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), demir (Fe), bakır (Cu) ve çinko (Zn) içeriklerini inceledikleri 240 örnekte, kurşun (Pb) içeriğini 86(10-421) µg/kg, kadmiyum (Cd) 1,8 (0,3-8,3) µg/kg, demir (Fe) 4,2 (1,0-14,1) mg/kg, bakır (Cu) 0,7(0,3-1,6) mg/kg ve çinko (Zn) 37,7(26,5-63,0) mg/kg olarak belirlemişlerdir [Yüzbaşı ve ark., 2003].

Şimşek ve ark. (2000) yaptıkları çalışmada Bursa' da endüstriyel, yoğun trafik alanı olarak 3 farklı bölgeden toplanan süt örneklerinde bazı ağır metallerin içeriğini belirlemişlerdir. Toplam 75 ham süt örneğindekurşun (Pb) 0,032, 0,049, 0,018 mg/kg;arsenik (As) 0,05,0,009, 0,0002 mg/kg,çinko (Zn) 4,49, 5,01, 3,77 mg/kg; bakır (Cu) 0,58, 0,96, 0,39 mg/kg; demir (Fe) 1,78, 4,27, 1,01 mg/kg olarak belirlenmiştir. Çalışılan örneklerde civaya (Hg) rastlanmamıştır. Metal içeriği trafiği yoğun alanlarda ve endüstriyel bölgelere kırasal daha fazla olduğu belirtilmiştir [Şimşek ve ark., 2000].

1993-1994 yıllarında Trakya'nın Hayrabolu, Malkara, Kırklareli yörelerinden temin edilen ve İstanbul Süt Endüstrisi Kurumunun (SEK) işleyerek pazarladığı inek sütlerindeki demir (Fe), kadmiyum (Cd), kobalt (Co), nikel

(Ni) ve krom (Cr) miktarları incelenmiştir. Söz konusu sütlerdeki elementlerin yıllık ortalama miktarları sırasıyla, l,81±0,04 ppm, 0,02±0,002 ppm, 0,04±0,002 ppm, 0,11±0,01 ppm ve 0,08±0,01 ppm olarak bulunmuştur [Ergenç ve ark., 1995].

Erzurum ve yöresinde de benzer bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada, Erzurum'a ait 4 ilçe ve 3 yerleşim biriminden toplam 116 adet inek sütü örneği, hem bazı fiziksel-kimyasal özellikleri hem de bir kısım mineral maddeler açısından incelemeye tabi tutulmuştur. Yapılan mineral madde analizlerinde (100 g) sütte ortalama (32,78 mg) sodyum, (149,88 mg) potasyum, (145,21 mg) kalsiyum, (104,34 mg) fosfor, (26,89 mg) magnezyum, (0,45 mg) çinko, (0,028 mg) bakır ve (0,040 mg) demir tespit edilirken, analiz edilen örneklerin hiçbirisinde civa (Hg), kurşun (Pb), kadmiyum (Cd) ve arsenik (As) gibi ağır metaller rastlanmamıştır [Özdemir ve ark., 2000].

Türkiye' nin çeşitli yörelerinden toplanan peynir örneklerinde ağır metal içeriklerinin araştırıldığı bir çalışmada toplanan peynir örnekleride Fe, Mn, Zn, Cu, Pb, Cr, Ni, Na, K, Ca ve Mg olduğunu tespit edilmiş ve metal konsantrasyonları demir (Fe) 4,1-12,5 µg/g, manganez (Mn) 0,28-1,1 µg/g, çinko (Zn) 8,8-13,2 µg/g, bakır (Cu) 0,10-0,27 µg/g, kurşun (Pb) 0,14-1,2 µg/g, krom (Cr) 0,02-0,62 µg/g, nikel (Ni) 0,18-0,34 µg/g, sodyum (Na) 3957-6558 µg/g, potasyum (K) 305-362 µg/g, kalsiyum (Ca) 3473-4556 µg/g ve magnezyum (Mg) 28,9-127 µg/g olarak bulunmuştur. Örneklerdeki metal içeriğini Na>Ca>K>Mg>Zn>Fe>Pb>Mn>Cr>Ni olarak belirlemiştir. Van otlu peynirinde demir (Fe), ordu Çerkez peynirinde sodyum (Na), kayseri çömlek peynirinde manganez (Mn), kurşun (Pb) , çeçil peynirinde çimko (Zn), Kars kaşar peynirinde bakır (Cu), krom (Cr), tokat peynirinde nikel (N)i, kalsiyum (Ca) ve Erzincan tulum peynirinde potasyum (K), magnezyum (Mg) bulunduğu bildirilmiştir [Mendil, 2006]..

2.4.3. Peynirde bulunan ağır metal içerikleri ve kaynakları

Peynirde bulunan eser elementler, peynirin oluştuğu sütten ve ambalajlamadan ileri gelmektedir. Bu elementlerin çoğunluğu toprakta, havada ve suda genellikle sülfür, oksit, karbonat ve silikat mineralleri şeklinde bulunmaktadır. Bunlarında en önemli kaynağı endüstridir. Dolayısıyla sütte bulunan ağır metallerin süte geçişi ; süt hayvanlarının almış olduğu sulardan (brom, flor), insektisidlerden ve ilaç artıklarından arsenik (As), kurşun (Pb), cam kaplardan (silisyum), mandıralardaki ekipmanlardan ve metal kaplardan demir (Fe), bakır (Cu), nikel (Ni), çinko (Zn)), yemlerden süte ağır metal geçişi olur. Bu ağır metal geçişleri sütte kantitatif olarak determine edilir [Johnson ve ark, 1971].

Peynirin temel maddesi süt olduğundan, bu ağır metallerin peynirde bulunması mümkündür.

Peynirde bulunan çinko (Zn),demir (Fe),bakır (Cu) ve mangan (Mn) insan beslenmesi açısından çok önemlidir. Çinkonun (Zn) sütteki konsantrasyonu yüksek olmalıdır. Günde % 15-12 oranında alınması gerekir. Koyun, keçi ve inek sütlerindeki kül miktarı sabit kalırken, mineral tuzların oranı numunelerde değişiklikler gösterir.Bu değişim genetik faktörlere, laktasyon dönemine bağlıdır. Peynir içindeki kompozisyonlar üretime, pıhtılaşmaya, sütün durumuna ve tuzluluğa bağlıdır [Carmen, 1991].

Kurşun (Pb) vücutta fazla miktarda olduğunda derileri ve organları etkiler. Kurşun (Pb) kandaki oksijen taşıyıcıların konsantrasyonunu azaltarak kansızlığa sebep olur [Oysun, 1987].

Bakır (Cu) veya demir (Fe) gibi bazı metallerin varlığı, besinlerin renk, berraklık, tat veya dayanıklılığına olumsuz yönde etki gösterebilir [Sencer, 1983].

Larsen ve Rasmussen (1990) süt ve süt ürünlerindeki kurşun (Pb), kadmiyum (Cd) ve krom' u (Cr) atomik absorbsiyon spektrometri yöntemiyle determine etmişlerdir. Sonuç olarak insan tarafından süt ve süt ürünleri ile alınan kurşun (Pb), kadmiyum (Cd) ve krom (Cr) miktarı olarak ; (50 g) peynir ve (45 g) sütün günlük alımında (toplam 95 g süt ve süt ürünü için), 1,22 (µg/gün) kurşun (Pb), 0,022 (µ/gün), kadmiyum (Cd) ve 1,08 (µg/gün), krom (Cr) tespit edilmiştir. Süt ve süt ürünlerindeki kurşun (Pb) konsantrasyonunun yaklaşık (1 ng/g) civarında olduğunu yaptıkları çeşitli denemeler sonucunda karar vermişlerdir [Larsen ve Rasmussen, 1990].

Carmen ve ark. (1991) farklı peynirlerde mineral madde düzeylerini Çizelge 2.5' de bildirmişlerdir.

Çizelge 2.5. Peynirlerde ağır metal miktarları

Metal Adı	Metal Miktarları (mg/kg)		
	İnek	Koyun	Keçi
Fe	1,143	4,319	0,9
Cu	0,354	0,852	0,5
Zn	43,87	54,86	69,0
Mn	0,277	0,112	0,1

Farklı süt ürünlerindeki ağır metalleri ve hayvanlar için ciddi sağlık problemlerine neden olmaktadır. Bu nedenle düzenli olarak bu ürünleride ağır metallerin determinasyonu gerekmektedir.

Son yıllarda gıdaların iz metal kompozisyonu ilgi odağı olmuştur. Bunun nedeni bunların esansiyel veya toksik doğasından kaynaklanmaktadır. Ağır metallerin orta ve uzun dönem birikimleri sağlık riski oluşturmakta ve bu kontaminantların sıkı periyodik gözetimi önemli görülmüştür [Şimşek ve ark., 2000].

2.4.4. Ağır Metal dirençliliği

Ağır metaller bazı toksik kimyasal elementleri ve onlardan türeyen kimyasal bileşikleri içerir. Bu bileşiklerin çoğu fonksiyonel olarak yaşam için herhangi bir aktivite içermez. Diğer yandan bu ağır metaller sık güçlü reaktif oksijen türevleri meydana getirerek, ve direk veya indirek olarak gen mutasyonlarına neden olurlar. Bu nedenle bunların varlığı hücreler için tehlikeli ve toksisitleri farklıdır. Ağır metallerin hücresel proteinler üzerinde etkileri yüksektir.

2.4.5. Mikroorganizmalar tarafından ağır metal' lerin alınımı ve metal dirençliği

Metaller ve metalloidler hem prokaryotik hemde ökaryotik olmak üzere tüm mikroorganizmalar için toksiktir ve bu organizmalar metallere karşı dirençlik mekanizmaları geliştirmişlerdir [Rosen, 1996].

Evremsel gelişimin başlangıcından mikroorganizmalar toksik metallere maruz bırakılmışlardır. Gerek doğal yolla, gerek endüstriyel aktiviteler sonucunda oluşan ağır metaller ekosistemlerde mikroorganizmalara etkileşim içindedirler [Fry ve ark., 1992].

Metallerin mikroorganizmalar a bağlanması iki şekilde olur :

1. Metalin yüzey tabakasın veya ekstrasellüler matrikslere özgül olmayan adsorbsiyonu.
2. Metabolik yolla interasellular alımı.

Metallerin hücre yüzeyine veya yüzeyi oluşturan ürünlere özgül olmayan şekillerde bağlanması, canlı veya ölü organizmalarda olabilirken, metabolik yolla alım sadece canlı hücrelerde söz konusudur. Ağır metallerin çoğu yüksek konsantrasyonlarda mikreorganizmalar için toksiktir [Merian. 1991]

Bir çok mikroorganizma çeşitli dirençlik mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bazıları çok yüksek konsantrasyonlarada çoğalabilme yeteneğine sahiptiler [Fry ve ark., 1992].

Bazı mikrooganizmalar direnç geliştirme yoluyla metal iyonlarının hücreye girişini engelliyici metabolik yöntemler geliştirirler. *Staphylococcus aureus'* daki kadmiyum (Cd) dirençliği ve *Westiellopsis prolifica'* daki civa (Hg) dirençliği buna örnektir [Merian, 1991].

Algler dahil bir çok mikroorganizmalar EPS salgılayarak metalleri kompleksleştirip onların hücre içerisine alımını önler. Siyanobakterilerin nikel (Ni) toksitesine yeşil alglardan daha hassas oldukları bildirilmiştir. Bu da prokaryot ve ökaryot için transport mekanizmasının farklı olduğunu göstermektedir. Birçok bakterinin gümüş (Ag) hücre yüzeyinde Ag_2S şeklinde çöktürdüğü tespit edilmiştir. Belirli mantarların ise uranyumu elde etmede başarlı oldukları tespit edilmiştir [Merian, 1991].

Metaller hücre içerisine alındıktan sonra bir çok transformasyon işlemi gerçekleşir. Cıva (Hg), kurşun (Pb), (Sn)' nın metile olduğu sanılmaktadır. Bu yöntemler birçok bakteri, mantar, maya ve mavi-yeşil alg tarafından gerçektirilmektedir.

Metal iyonları hücre içine alındıktan sonra hücre bölümlerine dağılır ve biriktirilir veya daha az toksik formlara dönüştürülür. Bu da metal bağlayan proteinlere (MTs) bağlanarak gerçekleştirilir [Fry ve ark., 1992].

Araştırılan tüm mikrobiyal gruplarda metal bağlayan proteinler tespit edilmiştir. Bunların arasında siyanobakteriler, bakteriler, mikroalg ve filametli funguslar yer almaktadır. Metaloproteinler (MTs) metal bağlayan, düşük moleküler ağırlıkta, sisteince zengin polipeptidlerdir [Hucle ve ark., 1993].

Birçok mikroorganizma sitoplazmada metal bağlayıcı proteinler sentezledikleri tespit edilmiştir, ağır metalleri detoksifikasyon mekanizması gereği yapıldığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmalar metal derişimlerinin artışına paralel olarak metal–bağlayıcı proteinlerin arttığını göstermektedir [Beyatlı, 2004].

Mikrobiyal hücrelerin toksik metallerden arsenik (As), antimon ve kadmiyum (Cd) olan direncinin hücresel dışa atma mekanizmasının gelişmesi ile bağlı olduğu gösterilmiştir. *E. Coli'* de operon benzeri bir yapı arsenit, antimoniye direncini indükler. Kadmiyum (Cd) durumunda dirençlik bir plazmit araclığı ile gerçekleşmektedir. Kadmiyum (Cd) dirençliğinde iki ayrı plazmid gen sorumludur. Bu genler aynı zamanda çinko (Zn) toksisitesini de önler [Merian, 1991].

Mikroorganizmalar çevredeki ağır metalleri ve radionükleititleri çok fazla miktarda akümüle edebilirler. Adsorbsiyon, presipitasyon, kompleksleştirme ve transportu içeren çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik mekanizmalar oluşabilir. Canlı ve ölü hücreler yanı sıra salgılanan ürünlere veya mikrobiyal hücrelerden edilmiş (örneğin hücre duvarı) bileşinleri, EPS, metal bağlayan proteinler (MTs) ve solusyonda bulunan metal radionüklid yanı sıra ilgili elementleri veya metabolitleri, organometal veya organometaloidleri kapsayan bileşikleri ve metal içeren partikülleri uzaklaştırma yeteneğine sahiptiler [Fry ve ark., 1992].

2.4.6. Ağır metal hücre toksisitesinin moleküler mekanizması

Ağır metallerin protein, peptidler ve amino asitlerdeki sülfhidril, hidroksil, karboksil ve amino gruplarına bağlanabileceği bilinmektedir. Ağır metal iyonları, amino asitlerin polipeptidlerin sülfhidril gurupları ilre daha dayanıklı bileşikler oluşturur. Bu nedenle hücreye giren ağır metaller –SH guruplarına olan yüksek affinitesinden dolayı membranların ve organellerin ya yapısal ve enzimatik bileşinleri ile veya çözünebilir enzimlerle girebilir. Hücre

membranları ağır metaller için birinci hedef olup, onların yapısını ve fonksiyonunu değiştirirler. Metal katyonları (Cd^{++} ve Hg^{++}) en önemli etkilerinden biride kaslardaki Ca^{++}, Mg^{++} –ATPaz' lar ve Na, K-ATPaz' lar gibi membran transport enzimlerinin aktivitesinin inhibisyonu ile ilgilidir.

Ağır metal iyonlarının diğer birçok enzim sistemlerinin aktivitisi üzerine olan etkisi tespit edilmiştir. Örneğin balıklarda fosfatazlar, amino asit transferazlar, farklı maya türlerinde süper oksit dismutaz ve katalaz aktiviteleri, Pekin ördeklerinde, renal enzimler ve bakterilerde ß-galaktozidaz ve dehidrojenazlar enzimleri gibi gösterilmiştir [Güven ve Ark., 1994].

Ökaryot hücrelerde mitokondri ve endoplazmik retikulum da metal toksisitesinin hedefidir. $Cu^{++,}$ kaslardaki mitokondriyal enzimlerin aktivitesini değiştirerek etkili olur. Ayrıca ağır metaller lizozomal aktivite ve protein sentezi ile nükleer metabolizma gibi önemli hücresel foksiyonları da etkiliyebilir [Güven ve Ark., 1994].

Ağır metallerin hücredeki toksisitesini belirleyen en önemli faktörlerden biri, canlı hücre ortamının içerdiği kalsiyum konsantrasyonudur. Sucul ortamda bulunan kalsiyum ağır metallerin alım aşamasında yarışarak toksik metallerin hücreye alınımını engellediğini bilinmektedir [Güven ve Ark., 1994].

2.5. Ekzopolisakkaritlerin (EPS) Üretimi

Bazı laktik asit bakterileri polisakkarit polimeri salgılarlar. Bu ekzopolisakkaritin (EPS) gıdaların üretiminde fonksiyonel işlevleri ve yararlı birçok etkileri olmasından dolayı ekonomik açıdan önemlidir [Welman ve Madox, 2003]. Polisakkaritler petrol işleme, kağıt endüstrisi, tekstil, ilaç ve kozmetik endüstrisinde de kullanılır.

2.5.1. Polisakkaritlerin bileşimi ve Yapısı

Homopolisakkaritler

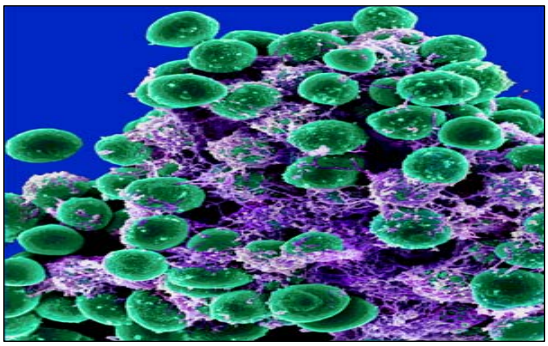
Leuconostoc mesenteroides ssp. *mesenteroides* dekstran üreten temel mikroorganizmadır.

Çizelge 2.6. Farklı Streptokoklar tarafından üretilen polimer tipleri

Türler	Üretilen Polimerler
Steptococcus mutans	α-glukan ya da β-fruktan(inülin)
Steptococcus sobrinus	α -glukan ya da β -fruktan (levan)
Steptococcus salivarius	α -glukan ya da β -fruktan
Steptococcus sanguis	α –glukan

Polimerlerin kimyasal bileşim ve yapılarındaki farklılıklar sakkarozdan hücre dışı sakkaritlerin sentezi sırasında bir çok karmaşık reaksiyonların devreye girmesinden kaynaklanmaktadır. Ortamdaki sakkaroz konsantrasyonu, bakteri geliştirme ortamı, inkübasyon süresi ile sakkarozu parçalayan enzimlerin varlığı gibi bir çok etmen polimer molekül ağırlığı ve yapısını belirgin şekilde etkiler.

Resim 2.4. Thauera sp. MZ1T tarafından üretilen ekzopolimerin görüntüsü.



Resim 2.5. Ekzopolisakkarit matrikste *Staphylococcus epidermidis* ‘ in SEM görüntüsü.

Heteropolisakkaritler

Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus*' un suşun ürettiği polimerin önemli miktarda galaktoz, az miktarda mannoz, arabinoz ve glukozu içerdiği bildirilmiştir [Tamime, 1978].

Yoğurt kültürü kullanılarak sütün pıhtılaştırılması sonucu oluşan polimerin yalnızca α-glukan' dan meydana geldiğini ortaya bildirilmiştir [Groux, 1973]. Oda ve arkadaşları (1983), *Lb. helveticus* ssp. *jughurti*' ye ait bir suşun ürettiği polimerde 2:1 oranında glukoz ve galaktoz bulunduğunu, bu polimerin antitümör özellik taşıdığını belirlemişlerdir [Oda ve ark., 1983], *Lb. helveticus* 766'nın ürettiği Ekzopolisakkaritin yapısını incelenmişlerdir. Araştıcılar yağsız süt ortamında 1:1 oranında D -glukoz ve D-galaktoz dan oluşan monomerik yapısı belirmişlerdir. Bir diğer araştırmada anaerob ortamda laktozun dışında kompleks bir besiyerinide pH 5 de geliştirilen *Bifidobacterium longum*' un 100 mg/1 glukoza eşdeğer Ekzopolisakkarit ürettiği belirlenmiştir. Bu heteropolisakkaritin glukoz, galaktoz ve az miktarda uranik asit ile heksozamin içerdiği tespit edilmiştir [Marshall, 1987].

Yapılan çalışmalarda aynı suş tarafından üretilen polimer zincirinin, kültür ortamına göre farklı uzunluk gösterdiği belirlenmiştir. Araştırıcılar, incelemeye aldığı EPS’ lerin 2:1 oranında galaktoz ve glukozdan oluştuğunu ve bunlar arasındaki bağların α ve β tipinde olduğunu ortaya

çıkarmıştır. [Sutherland, 1977], bakteriler tarafından üretilen polimerin molekül ağırlığının, bir çoğalma fonksiyonu olarak değiştiğini bildirmiştir.

Laktik asit bakterileri tarafından üretilen EPS' lerin yapı taşları olan monomerlerin en önemlileri galaktoz ve glukozdur. Çeşitli araştırmacıların bulguları da bunu doğrulamaktadır [Cerning ve ark., 1986].

Mozzi ve ark. (1995) yaptıkları bir çalışmada *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Streptococcus thermophilus* için 24 saatlik inkübasyon sonucunda optimum gelişme sıcaklığı ile maksimum ekzopolisakkarit üretimi arasında ilişkiyi tespit edilmiştir. *Streptococcus thermophilus*' un 30°C 'de 24 saatin sonunda 2,5 kat daha fazla polimer ürettiği, viskozitenin de 1-20 kat ve molekül ağırlığının 5,10 Da olduğu araştıcılar tarafından bildirilmiştir [Mozzi ve ark., 1995].

Doco ve ark. (1990) tarafından *Streptococcus thermophilus* ssp. izole edilen polisakkaritin bileşiminde 2:1:1 oranında galaktoz, glukoz ve N acetil galaktozamin içerdiğni bildimişlerdir. Bakterinin inkibasyon süresi artığında (72 saat) ekzopolisakkarit sentezinde azalma gözlendiğini bildirmişlerdir.
Lactobacillus delbrucckii ssp. *bulgaricus'* un 37°C de 42°C ye göre daha yüksek miktarda EPS ürettiği, 42°C de ise viskozite ve laktik asit miktarının arttığı belirlenmiştir [Doco ve ark, 1990].

<u>Ekzopolisakkaritlerin önemi ve kullanımı</u>

Bakteriyel polisakkaritlerin varlığı ve rolleri ilk olarak tıbbi incelemelerde ortaya konmuştur. Ancak; EPS' lerin varlığı yalnızca virulent karakterli bakterilere özgül değildir. Yapılan çalışmalarda; su, toprak gibi çok farklı kaynaklarda yaşayan bir çok bakterinin de kapsül içerdiğini ortaya koymuştur.

Ekzopolisakkaritlerin (EPS) olası işlevleri aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

- Polisakkaritler üretici suşlar tarafından katabolize edilemediklerinden enerji kaynağı değildirler.
- Buna karşılık mikroorganizmayı veya ortamı kurumaya karşı korur, diğer mikroorganizmaları ortamdan uzaklaştırır.
- Ortamdaki metalik iyonların tutulmasını sağlar.
- Bakteri - faj ilişkilerinde adesif ajan olarak rol oynar. Ayrıca bitkilerle bakteriler arasında bir etkileşim aracıdır.

Dekstranlar, petrol işleme, kağıt endüstrisi, tekstil, ilaç ve kozmetik endüstrisinde kullanılır. 40 000-70 000 Da gibi düşük mol ağırlıklı olanlar tıpta en çok kullanılanlardır; dekstransulfatlar kandaki yağ oranını ayarlayıcı, pıhtılaşmayı ve ülseri önleyici özelliğe sahiptir. Dekstran - demir kompleksi, anemi vakalarında, dekstran - kalsiyum ise hayvan beslemede hipokalsemi tedavisinde kullanılır.Agar yapılı sephadex dekstranlar ise, biyolojik maddelerin saflaştırılması ve fraksiyonlara ayrılmasında kullanılır [Kılıç, 2001].

Son yıllarda bitkisel kökenli hidrokolloidlere alternatif olarak laktik bakterilerin koyulaştırıcı kökenli hidrokolloidlere alternatif olarak laktik bakterilerin koyulaştırıcı suşlarından yararlanma yoluna gidilmektedir. Bu amaçla ekzopolisakkarit üreten *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşları yoğurt yapımında, mezofil laktik bakteriler ise bir çok fermente süt üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca bazı araştırıcılar antitumor etkinliğinin bir laktobasil ve bir streptokok tarafından üretilen polisakkarite bağlandığını da bildirmişlerdir

Laktik asit bakterileri tarafından ekzopolisakkarit üretimi suşlara bağlı olarak farklık göstermektedir. Bu özellik, bakterilerin optimum gelişme sıcaklığı ile ortamın farklı inkübe edilmelerinden de etkilenmektedir [Kılıç, 2001].

Yoğurt ve kıvam istenen ferrmente süt içeceklerinin yapımında asitlik, aroma oluşumu, proteolitik aktivite ve probiotik özellikleri yanı sıra Ekzopolisakkarit üreten bakterilerin kullanımına önem verilmektedir [Kılıç, 2001].

2.5.1.4. Polisakkarit üreten laktik asit bakteriler

Dekstran, glükan ve fruktan gibi homopolisakkaritlerin üretimi için özel bir substrat olan sakkaroza gereksinim vardır. Bu aşamada bir dizi enzim, üretiminde görev alır. Polisakkaritlerin üretimi azotlu maddelerce sınırlandırılmış ve karbonlu maddelerce zenginleştirilmiş olan ortamlarda teşvik edilir. Eğer ortamdaki karbon ve nitrojen kaynağı birlikte azaltıldığında, EPS üretimide azalma meydana gelmektedir. Dekstran, normal olarak *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides'* in uygun besin maddeleri içeren, nötre yakın pH' da mineral tuz içeren sakkaroz çözeltisinde üretiminin gerçekleştirilmesi sonucu oluşur. Burada ortamın pH değeri, sakkaroz konsantrasyonu gibi fermantasyon parametreleri, üretimi ve miktarını etkiler [Kılıç, 2001].

Çizelge 2.7' de termofil ve mezofil laktik bakteriler tarafından üretilen hücre dışı polisakkaritleri göstermektedir. [Cerning ve ark., 1990, 1992].

Çizelge 2.7. Eksopolisakarit üretme yeteneğine sahip laktik asit bakterileri

Laktik asit bakterileri		
Lactobacillus genusu	*Streptococcus genusu*	*Leuconostoc genusu*
Lactobacillus delbrueckii ssp.*lactis*	*Lactococcus lactis* ssp. *Lactis*	*Leuconostoc mesenteroides* ssp.*mesenteroides*
Lactobacillus deibueckii ssp. *bulgaricus*	*Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*	*Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris*
Lactobacillus hilgardii	*Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*	
Lactobacillus casei	*Streptococcus mutans*	
Lactobacillus helveticus	*Streptecoccus sobrinus*	

Laktik asit bakterilerinin bulunduğu sıvı ortamlardaki viskozitenin artması yalnızca oluşan polimer miktarına değil, bu arada polimerin tipi, diğer oluşan (laktik asit) ve metabolik ürünlerede bağlıdır [Bouillane ve Desmazeaud, 1980].

Polisakkarit üretimi ve miktarlarının inkübasyon süresinden çok, bakteri suşuna bağlı olarak değişiklik gösterdiği *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*' le yapılan çalışmada ortaya konmuştur [Cerning ve ark., 1986].

Kefir üretiminde kullanılan *Lb. hilgardi*' nin bazı suşları da polisakkarit üretmektedir [Cerning ve ark., 1986].

Araştırmacılar *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* bir suşunun tam yağlı sütte (250 mg/L) polimer üretirken, aminoasit ilaveli ultrafiltra süte ancak (50 mg/L) üretebildiğini bildirmişlerdir. *Streptococcus thermophilus* için bu değerler sırasıyla 350 mg/L ve 20 mg/L olarak belirlenmiştir [Cerning ve ark., 1986].

2.5.1.5. Ekzopolisakkaritlerin metal alımındaki etkisi

EPS genellikle fonksiyonel grupların değişimi ile yüksek moleküler ağırlıklı bileşikleri içerir ve adsorptive ve adhesive özelliklere sahiptir. EPS diğer yüklü partikül/molekülleri içeren metaller için bağlanma alanları sağlar. Mikrobiyal EPS' nin metal bağlama özellikleri ve EPS' nin kurşun (Pb),nikel (Ni), kadmiyum (Cd)' yi içeren ağır metallerin biyoremediasyonununda geniş olarak kullanılmaktadır. EPS bilinen diğer mineral sorbentlerin her birinden metaller için daha yüksek bağlama kapasitesine sahiptir. Aynı zamanda hayvanların dokularında çözülmüş metalleri direk olarak absorblamaya fazla yeterli değildir. Bununla birlikte bir değişken-karasız ve adsorptive bakteriyel EPS' nin varlığı çözülen metallerin immobilizasyonuna yardım eder. EPS agregasyonda, mikrobiyal yığın ve biyofilm üstünde beslenen birçok organizmanın karbon talebini tamamlamasında-ilavesinde önemli bir rol

oynar. Beslenmekle birlikte bu organizmalar hücre ve diğer organik materyaller boyunca EPS' ye adsorbe olan toksik ağır metalleri kullanırlar. Bu sebeple besleyicinin dokularında bu metallerin biyoakümülasyonuna sebep olurlar. Radyoizotop işaretli substratların kullanımı EPS' nin geri alımı ve biriken besleyicilerde metallerin biyoakümülasyonunda rolünün daha iyi anlaşılmasına yardım eder [Bhaskar ve Bhosle, 2006].

EPS ile ağır metallerin adsorbsiyonu metabolik değildir, enerjiden bağımsızdır ve EPS' nin asidik fonksiyonel gruplarının negatif yükü ve metal katyonları arasında bir etkileşime neden olabilir.

Salehizadeh ve ark. (2003) EPS üreten *Bacillus firmus* suşu tarafından sıvı çözeltilerdeki metal iyonlarının uzaklaştırılmasına, PH 'nın, metal konsantrasyonu ve EPS konsantrasyonunun etki ettiğini bildirmişlerdir [Salehizadeh ve ark., 2003].

Kaplan ve ark. (1987) tek hücreli bir alg olan *Cholorella* sp. suşundaki EPS' lerin şelat özelliğini tespit etmişlerdir. Özellikle üronik asit varlığında, metal alımının EPS' lerin kompozisyonunu etkilediğini açıklamışlardır [Kaplan ve ark., 1987].

Kong ve ark. (1998) denizden izole edilen *Zoogloea* spp. 'de üretilen EPS' lerin kadmiyum (Cd), kurşun (Pb) ve krom (Cr) gibi metallerin adsorbsiyonunda rol oynadığı tespit etmişlerdir[Kong ve ark.. 1998].

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1.Materyal örnekleri

Çalışmada kullanılan *Lactobacillus delbrueckii* ATCC 11842 ssp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşları Gazi Üniversitesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji laboratuarı kültür stoklarından temin edilmiştir.

3.1.2. Bakterilerin aktifleştirilmesi ve gelişme ortamları

Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşu MRS Broth ve agarı, *Streptoccus thermophilus* ATCC 14425 suşu Ellikler Broth ve agarı besiortamlarında geliştirilmiştir. Çalışmalarda suşların gelişme eğrileri göz önüne alınarak 16-18 saatlik (logaritmik faz) kültürleri kullanılmıştır.

3.1.3. Çalışmada kullanılan besiyerleri

Çizelge 3.1. MRS (Man Rogosa and Sharpe) Sıvı Besiortamı

Maddeler	(g/L)
Peptone	10,0
Beef Extract	10,0
Yeast Extract	5,0
Glucose	20,0
Tween 80	1,08 mL
K_2HPO_4	2,0
Sodium Acetate.3 H_2O	5,0
Tri Amonium Citrate	2,0
$MgSO_4.7\ H_2O$	0,2
$MnSO_4.4\ H_2O$	0,05

Maddeler 1000 mL distile suya ilave edilmiştir. Besiortamının pH' sı 0,01 N HCl ve 0,01 N NaOH' le 6,2±0,2' ye ayarlanmıştır. Amaca uygun olacak şekilde besiortamına %1,5 oranında agar ilave edilip katı besiortamı hazırlanmıştır. Besiortamı 121 ˚C' de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

Çizelge 3.2. Elliker Sıvı Besiortamı

Maddeler	(g/L)
Tryptone	20,0
Yeast Extract	5,0
Glucose	5,0
Sucrose	5,0
Lactose	5,0
Sodium Chloride	4,0
Sodium Acetate	1,0
Ascorbic Acid	0,5

Maddeler 1000 mL distile suya ilave edilmiştir. Besiortamının pH' sı 0,01 N HCl ve 0,01 N NaOH' le 6,8±0,2'ye ayarlanmıştır. Amaca uygun olacak şekilde besiortamına %1,5 oranında agar ilave edilip katı besiyeri hazırlanmıştır. Besiortamı 121 ˚C' de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Bakterilerin muhafazası

1,5 mL' lik ağzı kapaklı tüplere yaklaşık 400 µL gliserol dağıtılarak, 121 ºC' de 15 dakika sterilize edilmiştir. Bakteriler uygun sıvı besi ortamında iki kez ard arda aktifleştirilip, aktif kültürlerden 600 µL gliserol içeren steril tüplere paralelli olarak aktarılmıştır. Suşlar derin dondurucuda -80 ºC' de depolanarak, muhafaza edilmiştir. Muhafazaya alınan stoklar iki ayda bir yenilenmiştir.

3.2.2. Bakterilerin ağır metal dirençliliğinin belirlenmesi

Suşların ağır metal dirençlilikleri Ceylan (2003)' e göre agar dilusyon metoduyla belirlenmiştir. $NiCl_2.6H_2O$, $ZnSO_4.7H_2O$, $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$, $CoCl_2.6H_2O$, $CuSO_4.5H_2O$, $K_2Cr_2O_7$, $AgNO_3$ metallerinin sırasıyla 0.005; 0.01; 0.05; 0.1; 0.5; 1; 2.5; 5; 10; 20; 40 ve 80 (mmol l^{-1}) konsantrasyonları kullanılmıştır. 20 ml farklı metal konsantrasyonları içeren yarı katı MRS agar ve Elikler agar kullanılmıştır. 0,1 ml logaritmik faza kadar gelişen kültürlerden inokulasyon yapılmıştır . Plaklar 42 °C' de 2 gün inkübe edilmiştir. Metal eklenmeyen plak kontrol olarak kullanılmıştır. MİK düzeyi metal iyonlarının gelişmeyi engellediği en düşük konsantrasyon olarak belirlenmiştir. Tüm testler çift –paralelli olarak yapılmıştır..

3.2.3. Bakterilerin hücre gelişiminin ve canlı hücre sayısının belirlenmesi

Farklı ağır metal konsantrasyonlarının suşların gelişimi üzerine etkisi hem spektrofotometrik olarak hem de MRS ve Elliker agarlı petri üzerindeki canlı mikroorganizma sayısı saptanarak belirlenmiştir.

<u>Farklı ağır metal konsantrasyonlarının gelişim üzerine etkisinin sıvı besiortamlarında spektrofotometrik olarak belirlenmesi</u>

- Aktif suşlar, farklı konsantrasyonlarda metal içeren (0,05-80 mM) 10 ml' lik MRS ve Elliker broth besiortamına aşılanarak 42 ± 1 ^{o}C 'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ayrıca kontrol olarak metal içermeyen MRS ve Elliker broth besiortamına bu kültürlerden aynı oranda ekim yapılmıştır.

- İnkübasyon sonunda örneklerin optikal yoğunluk (OD) değerleri 600 nm dalga boyundaki spektrofotometrede (Digilab Hitachi U–1800) ölçülmüştür.

Farklı ağır metal konsantrasyonlarının gelişim üzerine etkisinin MRS ve Elliker agarlı petrilerde belirlenmesi

- Aktif suşlar, farklı konsantrasyonlarda metal içeren (0,05-80 mM) 10 ml' lik MRS ve Elliker broth besiortamına aşılanarak 42 ± 1 ^{o}C 'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.
- İnkübasyon sonunda örneklerden dilüsyonlar (10^{-1}-10^{-8}) yapılarak MRS ve Elliker agar yüzeyine ekilmiş ve 42°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.
- İnkübasyon sonunda koloni sayımları yapılarak canlı mikroorganizma sayıları $\log_{10}$ cfu/mL olarak tespit edilmiştir.

3.2.4. Bakterilerin EPS üretiminin belirlenmesi

Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 ve *Streptoccus thermophilus* ATCC 14425 suşlarında EPS üretim miktarlarını belirlemek için Valerie ve ark. (1999) ile Dubois ve arkadaşları'nın (1956) metodu kullanılmıştır

- *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşu farklı metal konsantrasyonu içeren 10 ml' lik MRS besiortamlarına ve *Streptoccus thermophilus* ATCC 14425. suşu 10 ml' lik Elliker besiortamlarına ikişer paralelli olarak %2 oranında inoküle edilerek , 42 ºC' de 16-18 saat inkübasyona bırakılmıştır.
- kontrol olarak metal içermeyen MRS ve Elliker broth besiortamına bu kültürlerden aynı oranda ekim yapılmıştır.
- İnkübasyon sonunda örneklerden 1 mL'lik örnekler ependrof tüplerine aktarılmıştır.
- Örnekler 100°C'de 10–15 dk kaynatıldıktan sonra, oda sıcaklığına varıncaya kadar soğutulmuştur.

- 1 mL örnek üzerine % 85 lik triklorasetik asit (Merck) (% 0,17= 1,7µL) ilave edilmiştir.
- Örnekler 13 000 rpm'de 25 dk santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj sonrası oluşan berrak kısım diğer bir ependrof tüpüne alınmış ve üzerine alabildiği kadar eşit hacimde (yaklaşık 1 mL) etanol ilave edilmiştir. Örnekler 13 000 rpm'de 25 dk santrifüj edilmiştir.
- Berrak kısım ayrıldıktan sonra, pelletin üzerine ikinci kez etanol (1000 µL) ilave edilmiş ve pelletin etanol içinde çözülmesi sağlanmıştır.
- Örnekler 13 000 rpm'de 25 dk santrifüj edilmiştir.
- Bu örneklerin üzerine 0,5 mL fenol (Sigma) ilave edilmiştir.
- Örneklerin üzerine hızlı bir şekilde 5 mL saf sülfürik asit ilave edilmiştir.
- Örnekler 10 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra, iyice karıştırılmıştır.
- Örnekler tekrar 25–30°C'de 15–20 dk bekletilmiştir.
- 490 nm dalga boyundaki spektrofotometrede örneklerin optikal yoğunlukları okunmuştur.

EPS üretim miktarlarını belirlemek için 5-100 mg/L arasında değişen oranlarda glikoz kullanılarak standart bir eğri çıkarılmıştır. Bu standarda göre örneklerin EPS miktarları mg/L olarak belirlenmiştir.

3.2.5. Bakterilerin toplam hücre protein miktarının belirlenmesi

Suşların toplam hücre protein miktarlarının belirlenmesi [Bradforte, 1976] metoduna göre Protein Assay Bradford kiti kullanılarak belirlenmiştir.

<u>Standart hazırlaması</u>

- Dört farklı ependrof tüplerine sırasıyla 5 µL, 10 µL, 15 µL ve 20 µL 0.5 N NaCl mg/ml BSA solüsyonun'dan ilave edilir, 0.15 N NaCL ile her biri 100 µL' ye tamamlanır.

5 µL	BAS	+	95 µL
10 µL	BAS	+	90 µL

15 µL	BAS	+	85 µL
20 µL	BAS	+	80 µL

- Blank olarak 100 µL 0.15 N NaCL + 1 ml Bradford reagent kullanılır.
- Her bir ependrof tüpüne 1ml Bradford reagent ilave edildikten sonra 2dk. Vortekslenir ve oda sıcaklığında bekletilir.
- 595 nm dalga boyunda örneklerin optikal yoğunlukları (OD) değerleri ölçünür.

<u>Örneklerin toplam hücre proteinlerinin belirlenmesi</u>

- Örnekler 10, 000 rpm'de 25 dk santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj sonrası süpernatant' tan 100 µL örnek diğer bir ependrof tüpüne alınmış ve üzerine 100 µL 0,15 N NaCL ilave edilmiştir.
- Örneklerin üzerine 1 ml Bradford reagent ilave edildikten sonra, iyice karıştırılmıştır.
- Örnekler 10 dk. oda sıcaklığında bekletilmiştir.
- Örneklerin optikal yoğunlukları595 nm dalga boyundaki spektrofotometrede ölçülmüştür.

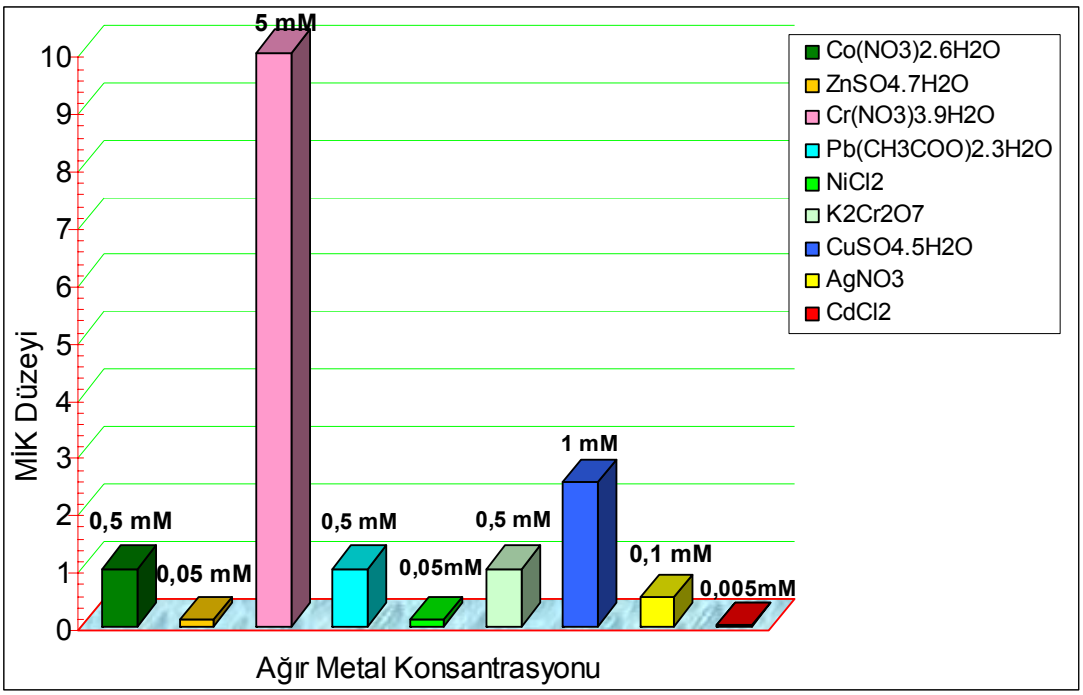
3.2.6. İstatistiksel analiz

Metal stresinin hücre canlılığına etkisinin istatiksel olarak değerlendirebilmek için probit analiz yöntemi ile LC_{50} değerleri belirlenmiştir [Finney, 1963].

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4. 1. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 Suşun Hücre Gelişimi ve EPS Üretimi

Streptococcus thermophilus ATCC 14425 suşun farklı metallere karşı direnci ve hücre gelişimi Bölüm 3.2.3' de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1 -4.17 ' da verilmiştir. Suşun farklı metallere karşı MİK düzeyleri Şekil 4.1' de sunulmuştur.



Şekil 4.1. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun kullanılan metallere karşı MİK düzeyleri.

4.1.1. *Streptococcus thermopillus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda [$Co(NO_3)_2.6H_2O$] içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi

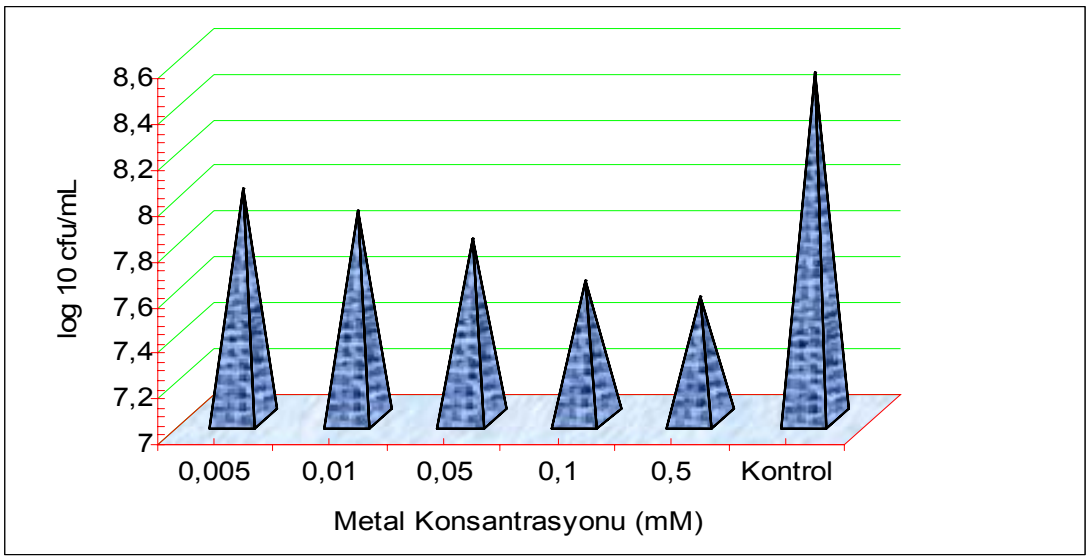
Streptococcus thermophilus ATCC 14425 suşun ($Co(NO_3)_2.6H_2O$)' nın farklı metal konsantrasyonlarındaki hücre gelişimi ve EPS üretimi üzerine etkisi Çizelge 4.1' de gösterilmiştir. Suşun ağır metaldeki MİK düzeyi (0,5 mM) olarak belirlenmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişimi ve EPS üretiminde azalma belirlenmiştir. En yüksek hücre gelişimi ve EPS üretimi 0,005 mM $Co(NO_3)_2.6H_2O$ konsantrasyonunda (8,0 cfu/ml) ve (1667 mg/L) olarak tespit edilmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC_{50} değeri (0,008 mM) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.1. *Streptococcus thermophillus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $Co(NO_3)_2.6H_20$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi.

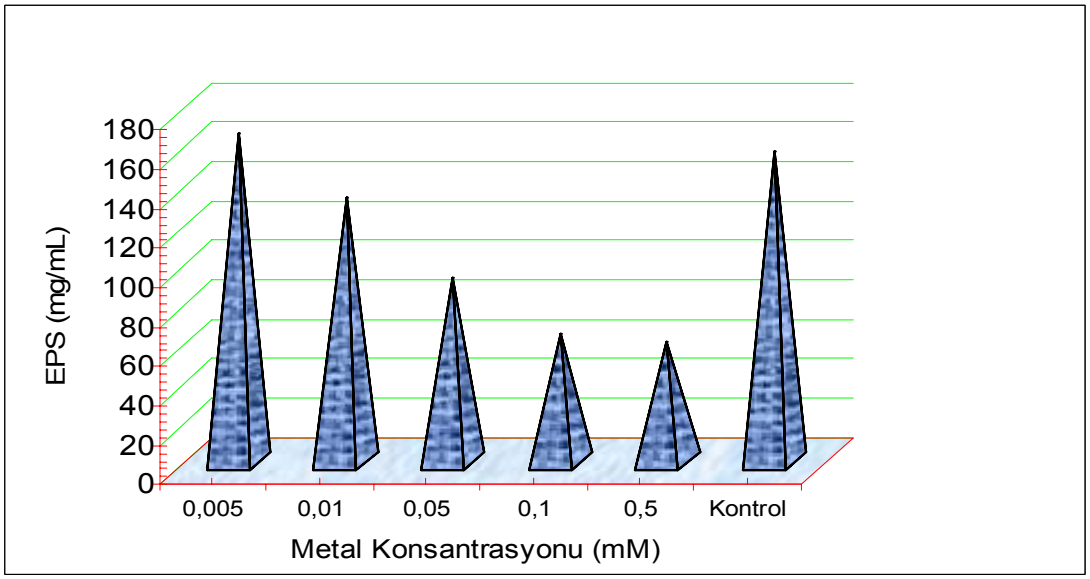
Metal konsantrasyonu (mM)	log_{10} cfu/mL	EPS üretim miktarı (mg/L)
0,005	8,0	167
0,01	7,9	134
0,05	7,7	93
0,5	7,5	61
KONTROL	8,5	157

Çizelge 4.2. *Streptococcus thermophillus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $Co(NO_3)_2.6H_20$ içeren besiortamında toplam hücre içi protein miktarı.

Metal konsantrasyonu (mM)	Protein Miktarı (mg/mL)
0,005	0,058 ± 0,00
0,01	0,051 ± 0,00
0,05	0,049 ± 0,00
0,5	0,039 ± 0,00
KONTROL	0,058 ± 0,00



Şekil 4.2. *Streptococcus thermophillus* ATCC suşun farklı konsantrasyonlard $Co(No_3)_2.6H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi.



Şekil 4.3.*Streptococcus thermophillus* ATCC suşun farklı konsantrasyonlarda $Co(No_3)_2.6H_2O$ içeren besiortamında EPS üretimi.

4.1.2. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $ZnSO_4.7H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi

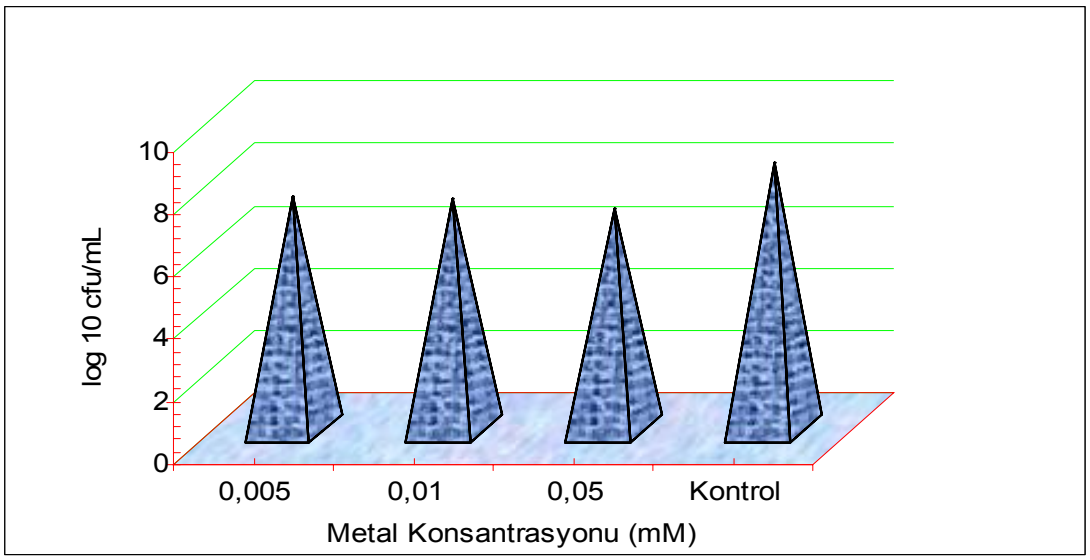
Streptococcus thermophilus ATCC 14425 suşun $ZnSO_4.7H_2O$' nin farklı metal konsantrasyonlarındaki hücre gelişimi ve EPS üretimi üzerine etkisi Çizelge 4.2' de gösterilmiştir. Suşun ağır metaldeki MİK düzeyi (0,05 mM) olarak belirlenmiştir. Metal konsantrasyonuındaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişimi ve EPS üretiminde azalma tespit edilmiştir. En yüksek hücre gelişimi ve EPS üretimi 0,005 mM $ZnSO_4.7H_2O$ konsantrasyonunda (7,4 cfu/mL) ve (92 mg/L) olarak belirlenmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC_{50} değeri (0,074 mM) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.3. *Streptococcus thermophillus* ATCC suşun farklı konsantrasyonlarda [$ZnSo_4.7H_2O$] içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi.

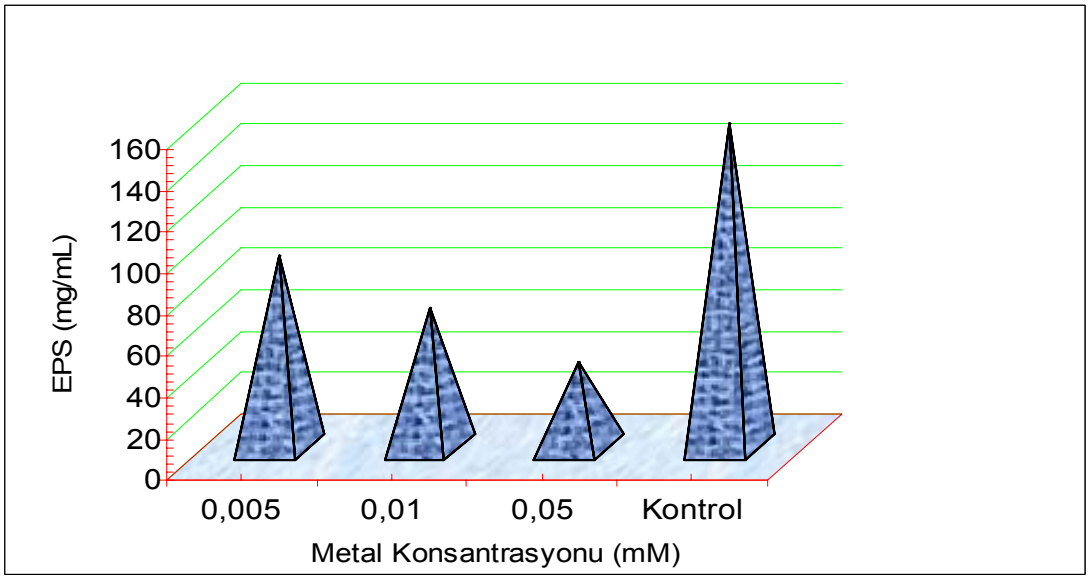
Metal konsantrasyonu (mM)	log_{10} cfu/mL	EPS üretim miktarı (mg/L)
0,005	7,4	92
0,01	7,3	68
0,05	7,0	41
KONTROL	8,5	157

Çizelge 4.4. *Streptococcus thermophillus* ATCC suşun farklı konsantrasyonlarda [$ZnSo_4.7H_2O$] içeren besiortamında hücre içi protein miktarı.

Metal konsantrasyonu (mM)	Protein Miktarı (mg/mL)
0,005	0,049± 0,00
0,01	0,047± 0,00
0,05	0,042 ± 0,00
KONTROL	0,058 ± 0,00



Şekil 4.4. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $ZnSO_4.7H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi .



Şekil 4.5. *Streptococcus.thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyolarda $ZnSO_4.7H_2O$ içeren besiortamında EPS üretimi.

4.1.3. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $Cr(NO_3)_3.9H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi

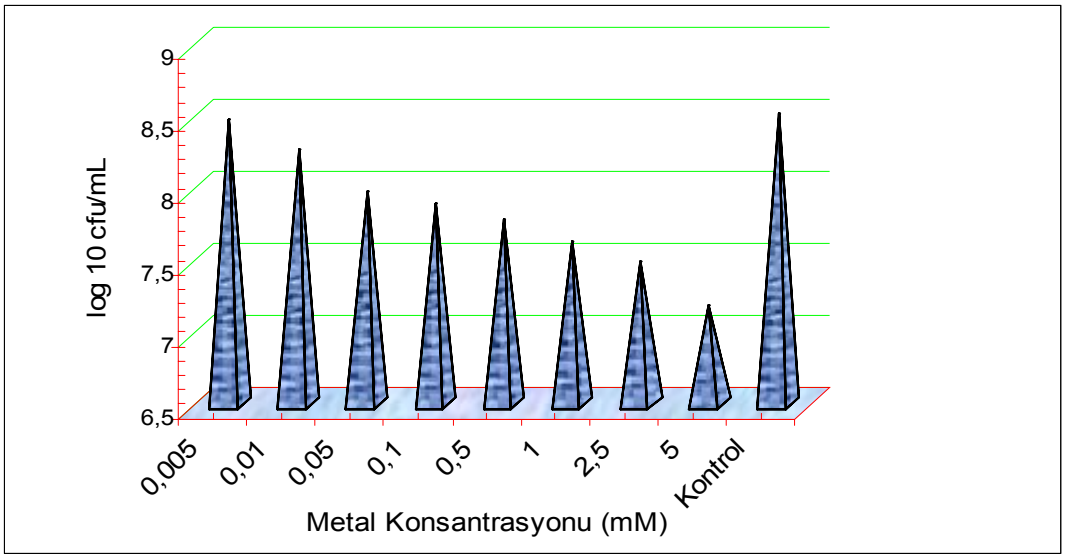
Streptococcus thermophilus ATCC 14425 suşun $Cr(NO_3)_3.9H_2O$' nin farklı metal konsantrasyonlarındaki hücre gelişimi ve EPS üretimi üzerine etkisi Çizelge 4.3' de gösterilmiştir. Suşun ağır metaldeki MİK düzeyi (5 mM) olarak belirlenmiştir. Metal konsantrasyonuındaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişimi ve EPS üretiminde azalma tespit edilmiştir. En yüksek hücre gelişimi ve EPS üretimi 0,005 mM[$Cr(NO_3)_3.9H_2O$ konsantrasyonunda (8,4 cfu/mL) ve (164 mg/L) olarak belirlenmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC_{50} değeri (3,246 mM) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.5. *Streptococcus. thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarında $Cr(NO_3)_3.9H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi.

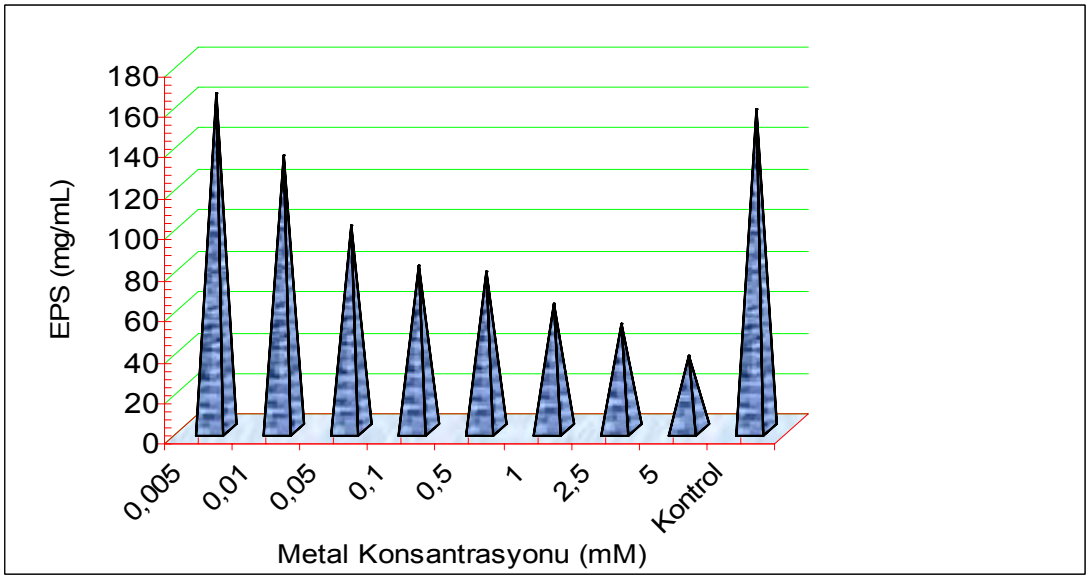
Metal konsantrasyonu (mM)	log_{10} cfu/mL	EPS üretim miktarı (mg/L)
0,005	8,4	164
0,01	8,2	134
0,05	7,9	100
0,1	7,.8	80
0,5	7,7	77
1	7,.6	67
2,5	7,4	52
5	7,1	37
KONTROL	8,5	157

Çizelge 4.6. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarında $Cr(NO_3)_3.9H_2O$ içeren besiortamında hücre içi protein miktarı.

Metal konsantrasyonu (mM)	**Protein Miktarı (mg/mL)**
0,005	0,057 ± 0,00
0,01	0,056 ± 0,00
0,5	0,045 ± 0,00
5	0,035 ± 0,00
KONTROL	0,058 ± 0,00



Şekil 4.6. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $Cr(NO_3)_3.9H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi .



Şekil 4.7. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $Cr(NO_3)_3.9H_2O$ içeren besiortamında EPS üretimi.

4.1.4. *Streptococcus thermophilus* ATCC suşun farklı konsantrasyonlarda $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi

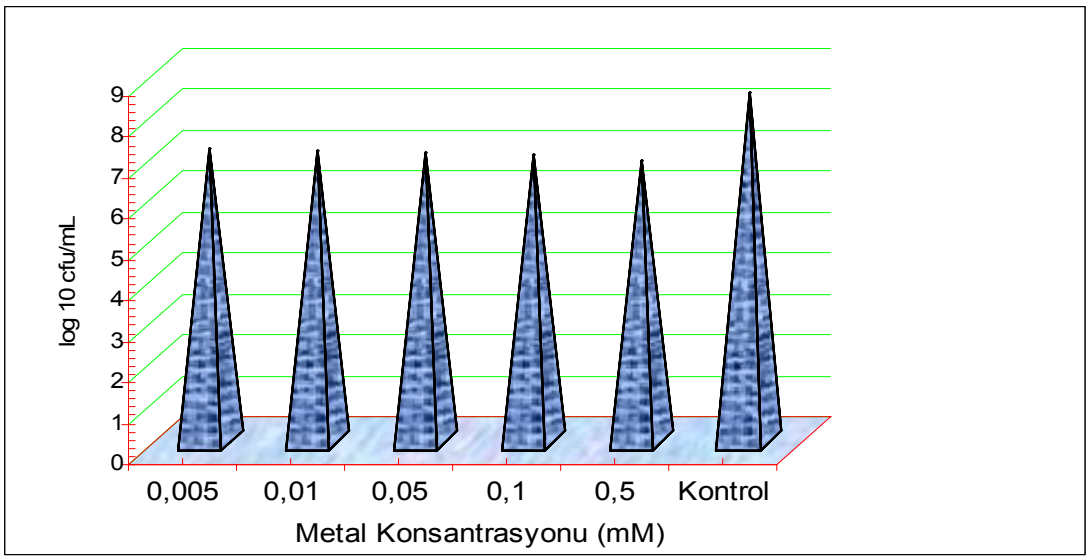
Streptococcus thermophilus ATCC 14425 suşun $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$' nin farklı metal konsantrasyonlarındaki hücre gelişimi ve EPS üretimi üzerine etkisi Çizelge 4.4' de gösterilmiştir. Suşun ağır metaldeki MİK düzeyi (0,5 mM) olarak belirlenmiştir. Metal konsantrasyonuındaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişimi ve EPS üretiminde azalma belirlenmiştir. En yüksek hücre gelişimi ve EPS üretimi 0,005 mM $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$ konsantrasyonunda (7,1 cfu/mL) ve (173 mg/L) olarak tespit edilmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC_{50} değeri (0,012 mM) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.7. *Streptococcus thermophillu* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $Pb(CH_3COOH)_2.3H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi.

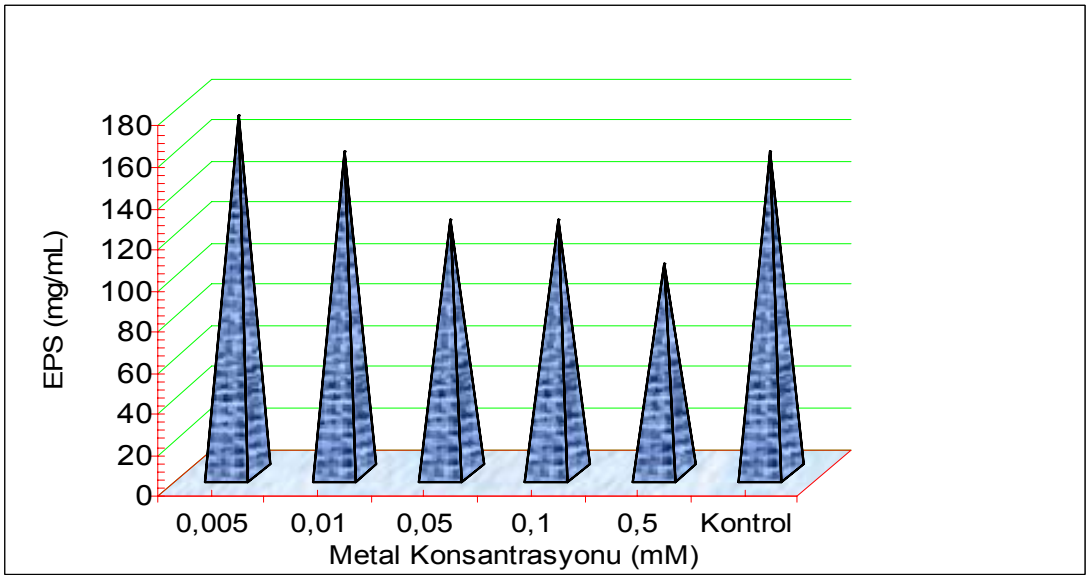
Metal konsantrasyonu (mM)	log_{10} cfu/mL	EPS üretim miktarı (mg/L)
0,005	7,1	173
0,01	7,0	157
0,05	7,0	123
0,1	6,9	123
0,5	6,8	101
KONTROL	8,5	157

Çizelge 4.8. *Streptococcus thermophillu* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $Pb(CH_3COOH)_2.3H_2O$ içeren besiortamında hücre içi protein miktarı.

Metal konsantrasyonu (mM)	Protein Miktarı (mg/mL)
0,005	0,042 ± 0,00
0,05	0,040 ± 0,00
0,5	0,038 ± 0,00
KONTROL	0,058 ± 0,00



Şekil 4.8. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi.



Şekil 4.9. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$ içeren besiortamında EPS üretimi.

4.1.5. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $NiCl_2$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi

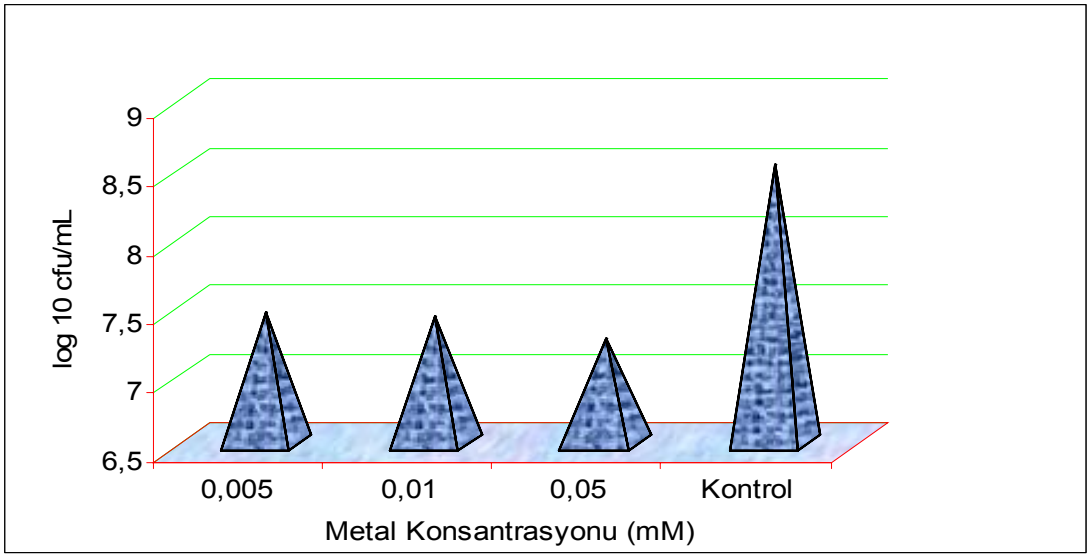
Streptococcus thermophilus ATCC 14425 suşun $NiCl_2$' nin farklı metal konsantrasyonlarındaki hücre gelişimi ve EPS üretimi üzerine etkisi Çizelge 4.5' de gösterilmiştir. Suşun ağır metaldeki MİK düzeyi (0,5 mM) olarak belirlenmiştir. Metal konsantrasyonuındaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişimi ve EPS üretiminde azalma tespit edilmiştir. En yüksek hücre gelişimi ve EPS üretimi 0,005 mM $NiCl_2$ konsantrasyonunda (7,5 cfu/mL) ve (255 mg/L) olarak belirlenmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC_{50} değeri (0,004 mM) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.9. *Streptococcus thermophillus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $NiCl_2$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi.

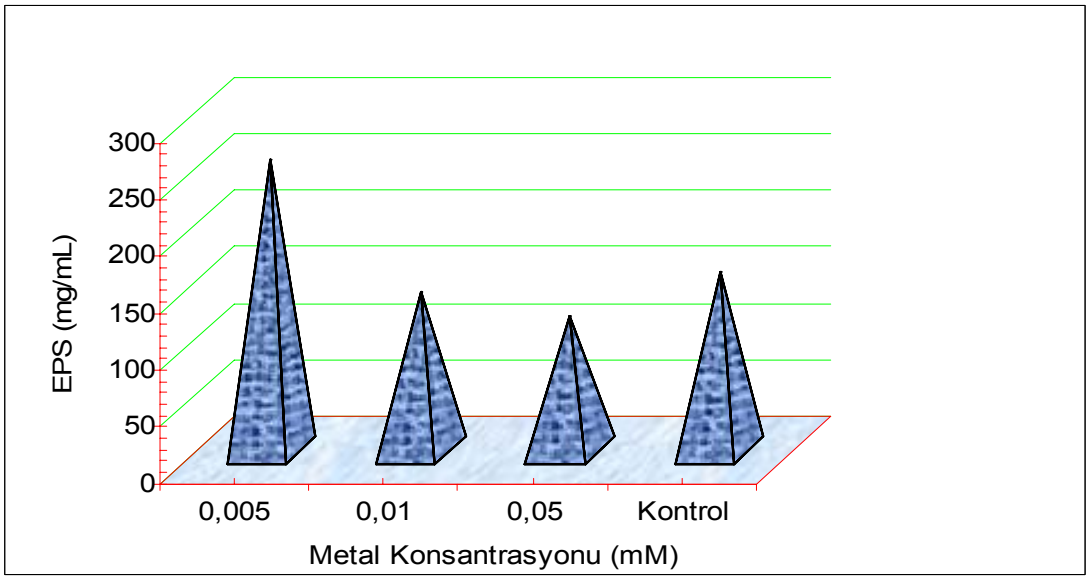
Metal konsantrasyonu (mM)	log_{10} cfu/mL	EPSüretim miktarı (mg/L)
0,005	7,5	255
0,01	7,4	138
0,05	7,2	119
KONTROL	8,5	157

Çizelge 4.10. *Streptococcus thermophillus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $NiCl_2$ içeren besiortamında toplam hücre içi protein miktarı.

Metal konsantrasyonu (mM)	Protein Miktarı (mg/mL)
0,005	0,051 ± 0,00
0,01	0,049 ± 0,00
0,05	0,043 ± 0,00
KONTROL	0,058 ± 0,00



Şekil 4.10. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $NiCl_2$ içeren besiortamında hücre gelişimi.



Şekil 4.11. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $NiCl_2$ içeren besiortamında hücre gelişimi.

4.1.6. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda K_2Cr2O_7 içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi

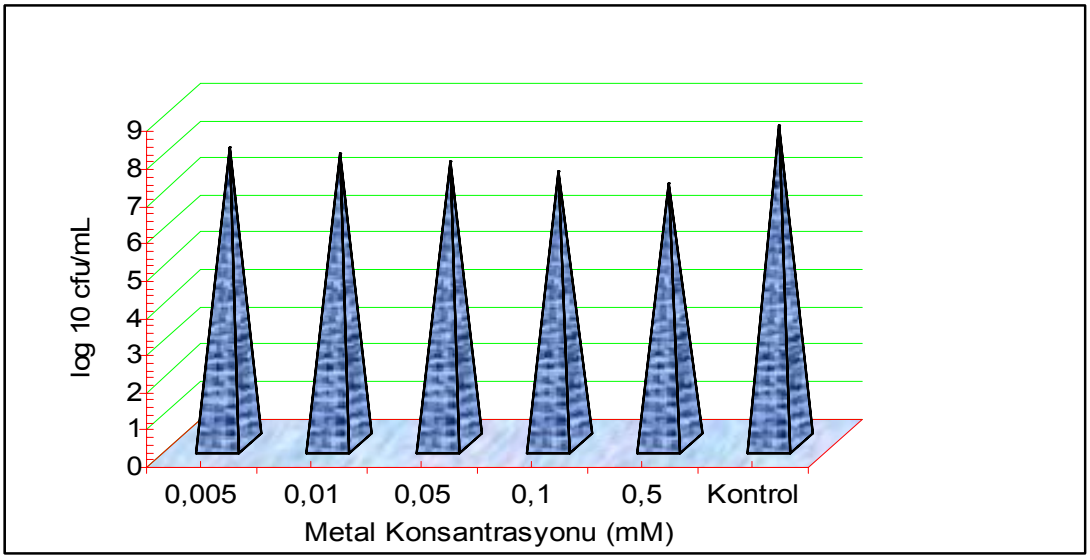
Streptococcus thermophilus ATCC 14425 suşun $K_2Cr_2O_7$' nin farklı metal konsantrasyonlarındaki hücre gelişimi ve EPS üretimi üzerine etkisi Çizelge 4.6' de gösterilmiştir. Suşun ağır metaldeki MİK düzeyi (0,5 mM) olarak belirlenmiştir. Metal konsantrasyonuındaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişimi ve EPS üretiminde azalma tespit edilmiştir. En yüksek hücre gelişimi ve EPS üretimi 0,005 mM K_2Cr2O_7 konsantrasyonunda (7,9 cfu/mL) ve (185 mg/L) olarak belirlenmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC_{50} değeri (1,174 mM) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.11. *Streptococcus thermophillus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $K_2Cr_2O_7$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi.

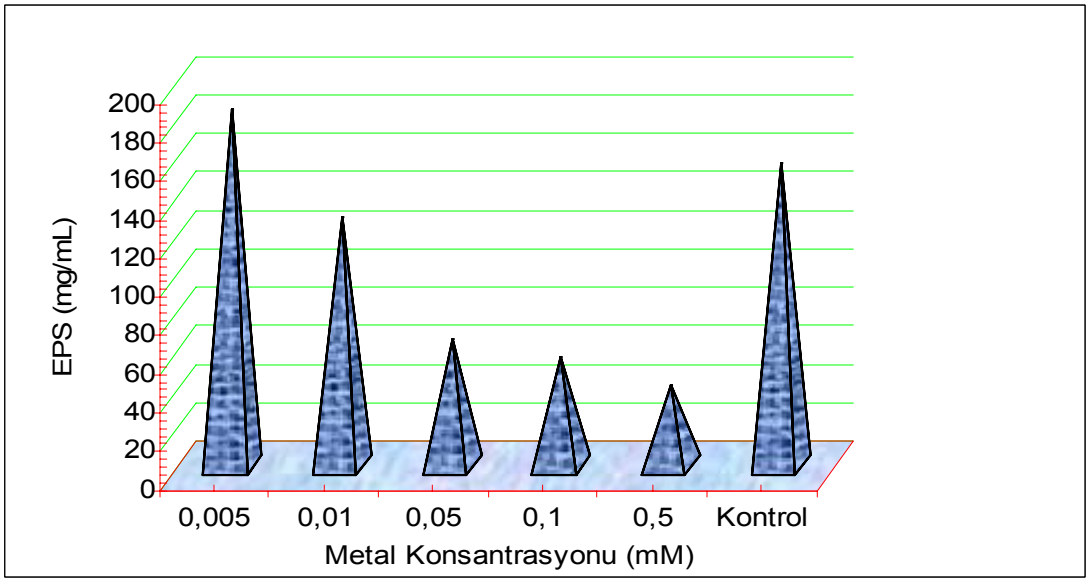
Metal Konsantrasyonu (mM)	log_{10} cfu/mL	EPS üretim miktarı (mg/L)
0,005	7,9	185
0,01	7,7	129
0,05	7,5	65
0,1	7,3	56
0,5	6,9	42
KONTROL	8,5	157

Çizelge 4.12. *Streptococcus thermophillus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $K_2Cr_2O_7$ içeren besiortamında hücre içi toplam protein miktarı.

Metal Konsantrasyonu (mM)	Protein Miktarı (mg/mL)
0,005	0,046 ± 0,00
0,01	0,046 ± 0,00
0,05	0,042 ± 0,00
0,5	0,030 ± 0,00
KONTROL	0,058 ± 0,00



Şekil 4.12. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $K_2Cr_2O_7$ içeren besiortamda hücre gelişimi.



Şekil 4.13. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $K_2Cr_2O_7$ içeren besiortamda hücre gelişimi.

4.1.7. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $CuSO_4.5H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi

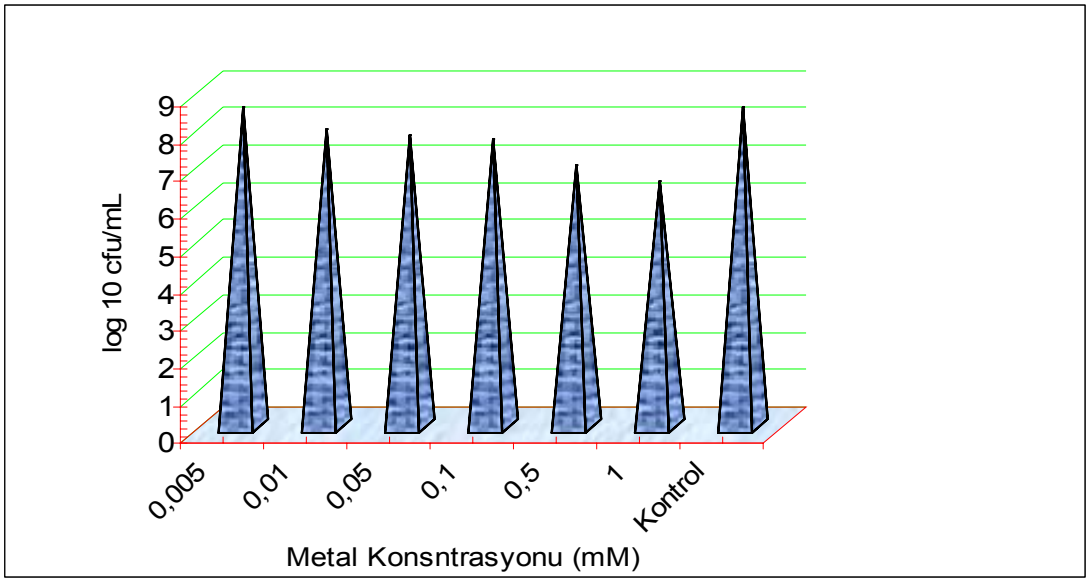
Streptococcus thermophilus ATCC 14425 suşun $CuSO_4.5H_2O$' nin farklı metal konsantrasyonlarındaki hücre gelişimi ve EPS üretimi üzerine etkisi Çizelge 4.7' de gösterilmiştir. Suşun ağır metaldeki MİK düzeyi (1 mM) olarak belirlenmiştir. Metal konsantrasyonuındaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişimi ve EPS üretiminde azalma belirlenmiştir. En yüksek hücre gelişimi ve EPS üretimi 0,005 mM $CuSO_4.5H_2O$ konsantrasyonunda (8,4 cfu/mL) ve (251 mg/L) olarak tespit edilmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC_{50} değeri (0,031 mM) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.13. *Streptococcus thermophillus* ATCC14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $CuSO_4.5H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi.

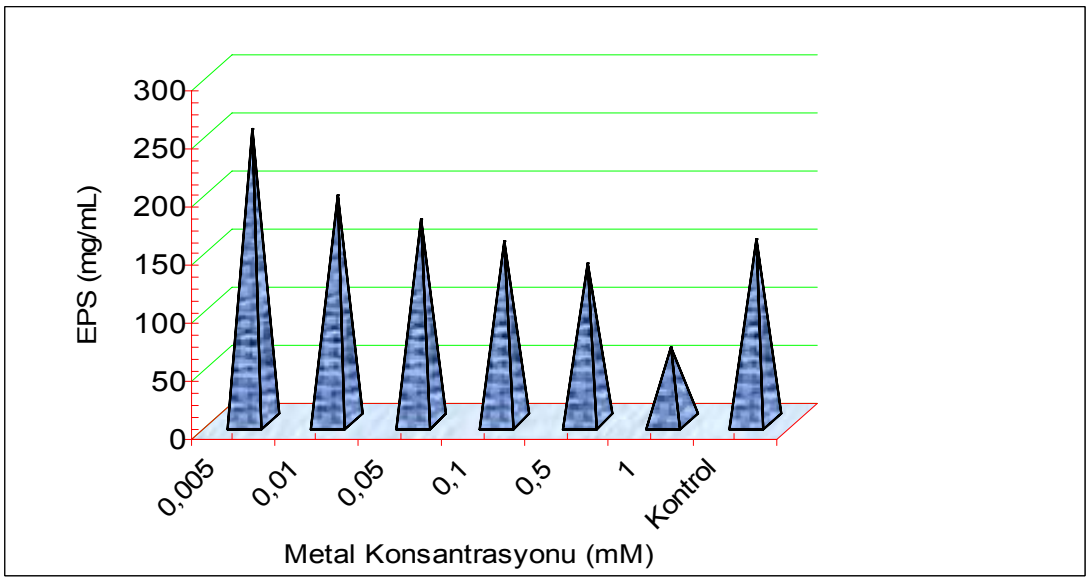
Metal Konsantrasyonu (mM)	log_{10} cfu/mL	EPS üretim miktarı (mg/L)
0,005	8,4	251
0,01	7,9	195
0,05	7,7	174
0,1	7,6	156
0,5	6,9	136
1	6,5	64
KONTROL	8,5	157

Çizelge 4.14. *Streptococcus thermophillus* ATCC14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $CuSO_4.5H_2O$ içeren besiortamında hücre içi toplam protein miktarı.

Metal Konsantrasyonu (mM)	Protein Miktarı (mg/mL)
0,005	0,054 ± 0,00
0,05	0,048 ± 0,00
0,5	0,042 ± 0,00
1	0,037 ± 0,00
KONTROL	0,058 ± 0,00



Şekil 4.14. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $CuSO_4.5H_2O$ içeren besiortamda hücre gelişimi.



Şekil 4.15. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $CuSO_4.5H_2O$ içeren besiortamda EPS üretimi.

4.1.8. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $AgNO_3$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi

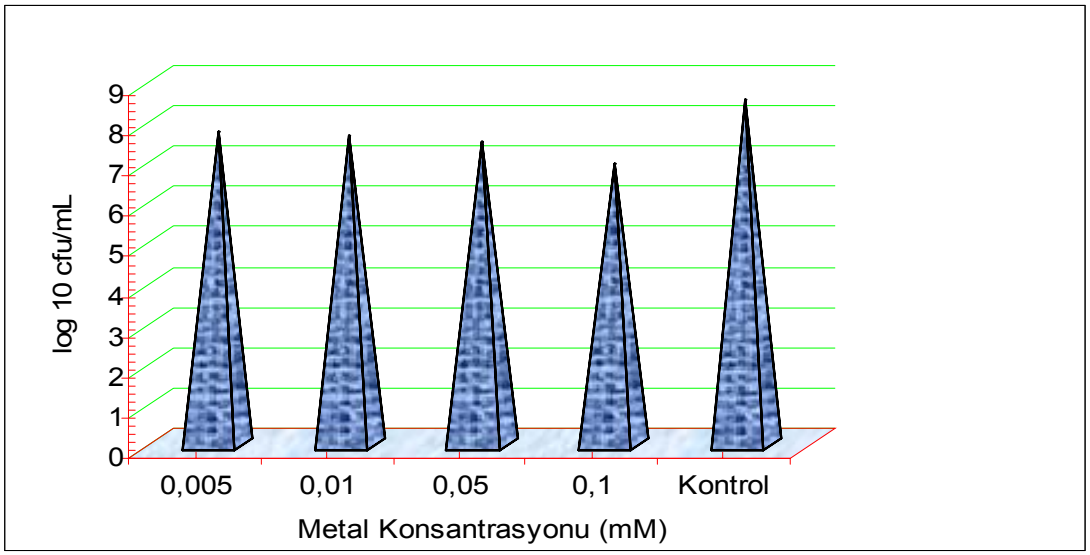
Streptococcus thermophilus ATCC 14425 suşun $AgNO_3$' nin farklı metal konsantrasyonlarındaki hücre gelişimi ve EPS üretimi üzerine etkisi Çizelge 4.8' de gösterilmiştir. Suşun ağır metaldeki MİK düzeyi (0,1 mM) olarak belirlenmiştir. Metal konsantrasyonuındaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişimi ve EPS üretiminde azalma belirlenmiştir. En yüksek hücre gelişimi ve EPS üretimi 0,005 mM $AgNO_3$ konsantrasyonunda (7,7 cfu/mL) ve (234 mg/L) olarak tespit edilmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC_{50} değeri (0,031 mM) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.15. *Streptococcus thermophillus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $AgNO_3$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi.

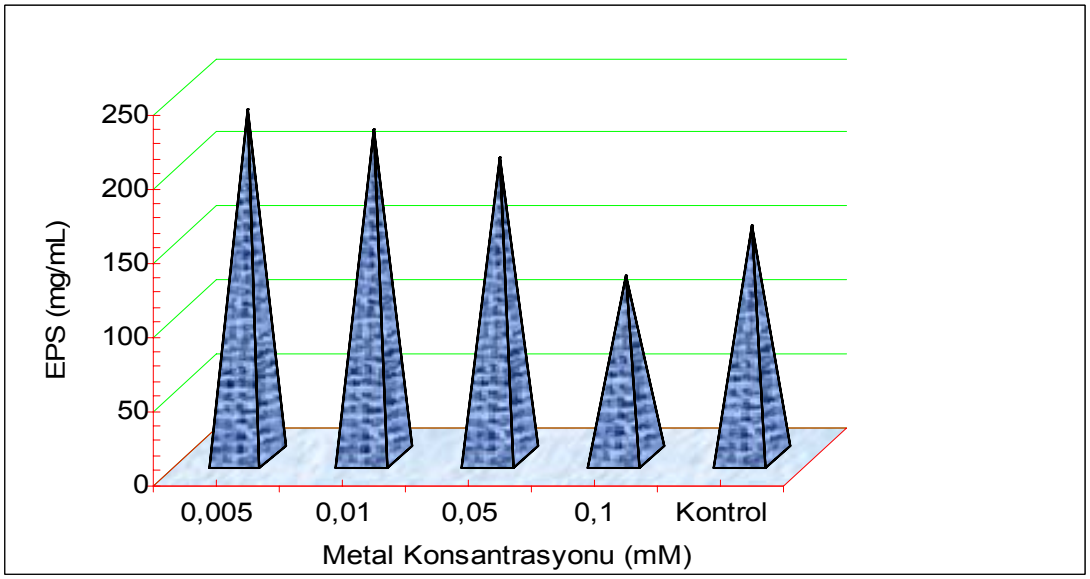
Metal Konsantrasyonu (mM)	log_{10} cfu/mL	EPS üretim miktarı (mg/L)
0,005	7,7	234
0,01	7,6	221
0,05	7,4	202
0,1	6,9	123
KONTROL	8,5	157

Çizelge 4.16. *Streptococcus thermophillus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $AgNO_3$ içeren besiortamında hücre içi toplam protein miktarı.

Metal Konsantrasyonu (mM)	Protein Miktarı (mg/mL)
0,005	0,048 ± 0,00
0,01	0,045 ± 0,00
0,05	0,037 ± 0,00
0,1	0,035 ± 0,00
KONTROL	0,058 ± 0,00



Şekil 4.16. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $AgNO_3$ içeren besiortamda hücre gelişimi.



Şekil 4.17. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $AgNO_3$ içeren besiortamda EPS üretimi.

4.1.9. *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $CdCl_2$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi

Streptococcus thermophilus ATCC 14425 suşun tüm $CdCl_2$ metal konsantrasyonlarında üremediği tespit edilmiştir. Suşun ağır metaldeki MİK düzeyi 0,005 mM olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. *Streptococcus thermophillus* ATCC 14425 suşun farklı konsantrasyonlarda $CdCl_2$içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi.

Metal Konsantrasyonu (mM)	log_{10} cfu/mL	EPS üretim miktarı (mg/L)	Protein Miktarı (mg/mL)
0,005	-	-	-
0,01	-	-	-
0,05	-	-	-
0,1	-	-	-
0,5	-	-	-
1	-	-	-
2,5	-	-	-
5	-	-	-
10	-	-	-
20	-	-	-
40	-	-	-
80	-	-	-
KONTROL	8,5	157	0,058 ± 0,00

(-) Üreme yoktur.

Streptococcus thermophillus ATCC 14425 suşun tüm metallera karşı LC_{50} değerleri Çizelge 4.18' de verilmiştir.

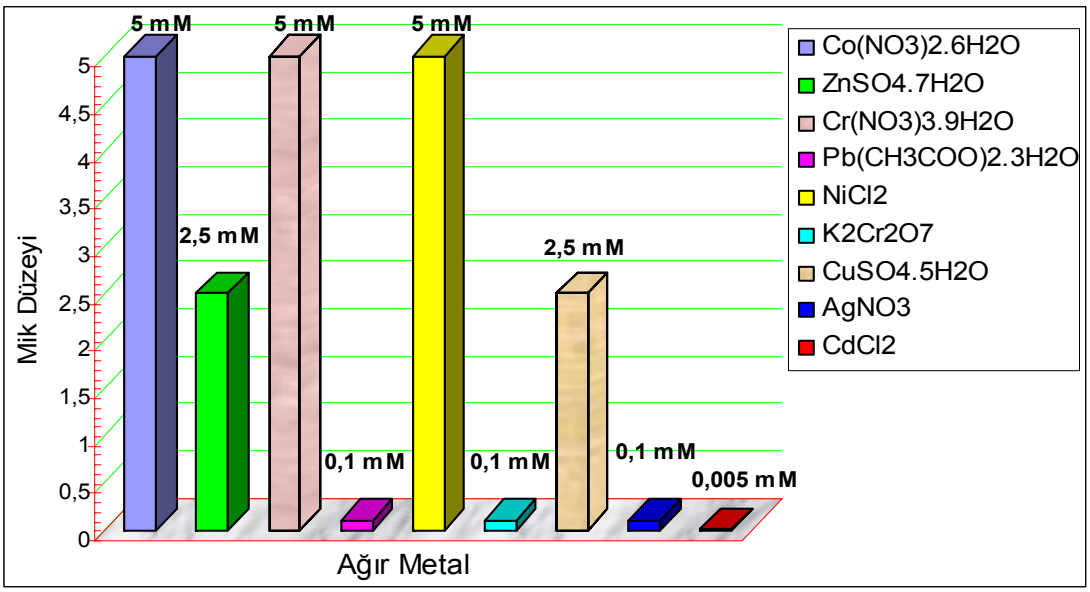
Çizelge 4.18. *Streptococcus thermophillus* ATCC 14425 suşun metallera karşı LC_{50} değerleri.

Metal	**LC_{50} Değeri (mM)**
$Co(NO_3)_2.6H_2O$	0,008
$ZnSO_4.7H_2O$	0,074
$Cr(NO_3)_3.9H_2O$	3,246
$Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$	0,012
$NiCl_2$	0,004
$K_2Cr_2O_7$	1,174
$CuSO_4.5H_2O$	0,031
$AgNO_3$	0,031
$CdCl_2$	-

(-) Üreme yoktur.

4.2. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 Suşunun Hücre Gelişimi ve EPS Üretimi.

Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı metallere direnci ve hücre gelişimi Bölüm 3.2.3' de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.19.-4.35' da verilmiştir. Suşun farklı metallere karşı MİK düzeyleri Şekil 4.18' de sunulmuştur.



Şekil 4.18. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşunun Kullanılan metallere karşı MİK düzeyleri.

4.2.1. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $Co(NO_3)_2.6H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi

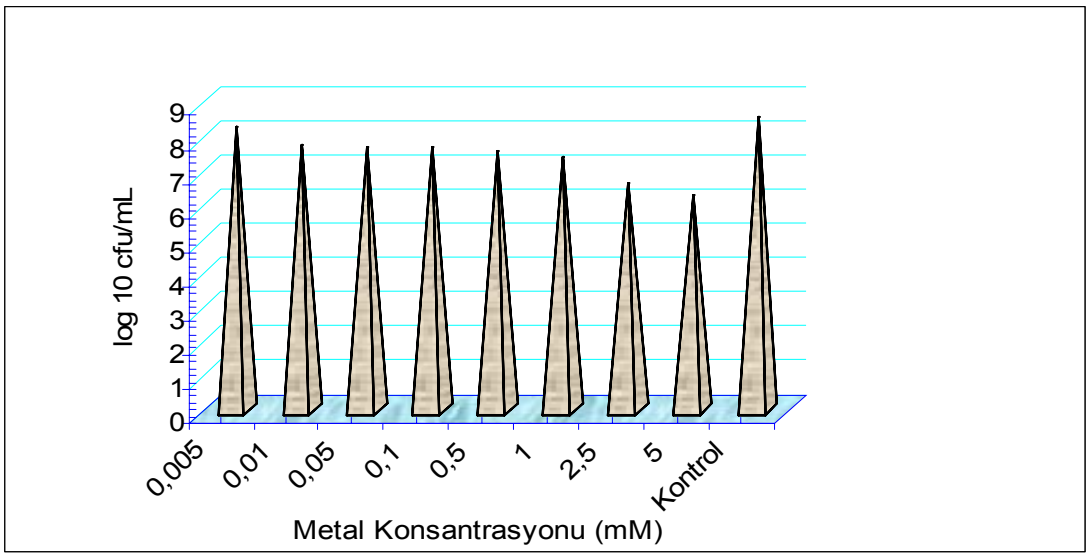
Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $Co(NO_3)_2.6H_2O$' nin farklı metal konsantrasyonlarındaki hücre gelişimi ve EPS üretimi üzerine etkisi Çizelge 4.11' de gösterilmiştir. Suşun ağır metaldeki MİK düzeyi (5 mM) olarak belirlenmiştir. Metal konsantrasyonuındaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişimi ve EPS üretiminde azalma belirlenmiştir. En yüksek hücre gelişimi ve EPS üretimi 0,005 mM $Co(NO_3)_2.6H_2O$ konsantrasyonunda (8,2 cfu/mL) ve (251mg/L) olarak tespit edilmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC_{50} değeri (0,578 mM) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.19. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $Co(NO_3)_2.6H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi.

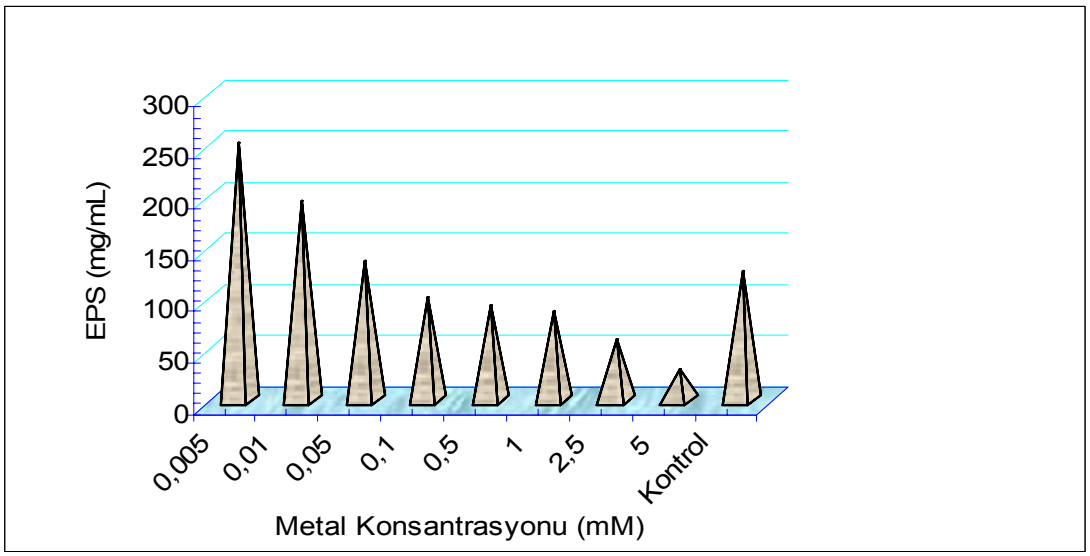
Metal Konsantrasyonu (mM)	log_{10} cfu/mL	EPS üretim miktarı (mg/L)
0,005	8,2	251
0,01	7,7	195
0,05	7,6	137
0,1	7,6	101
0,5	7,5	93
1	7,4	87
2,5	6,6	61
5	6,2	31
KONTROL	8,5	127

Çizelge 4.20. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $Co(NO_3)_2.6H_2O$ içeren besiortamında hücre içi toplam protein miktarı.

Metal Konsantrasyonu (mM)	Protein Miktarı (mg/mL)
0,005	0,051 ± 0,00
0,1	0,050 ± 0,00
0,5	0,048 ± 0,00
5	0,034 ± 0,00
KONTROL	0,052 ± 0,00



Şekil 4.19. *Lactobacillus delbrueckii* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $Co(NO_3)_2.6H_2O$ içeren besiortamda hücre gelişimi.



Şekil 4.20. *Lactobacillus delbrueckii* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $Co(NO_3)_2.6H_2O$ içeren besiortamda EPS üretimi.

4.2.2. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $ZnSO_4.7H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi

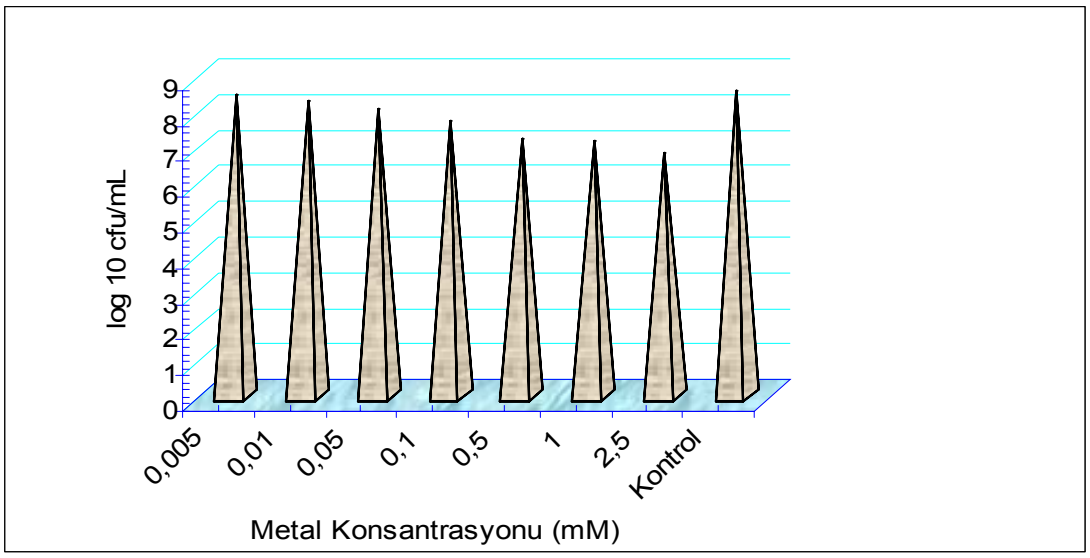
Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $ZnSO_4.7H_2O$' nin farklı metal konsantrasyonlarındaki hücre gelişimi ve EPS üretimi üzerine etkisi Çizelge 4.12 ' de gösterilmiştir. Suşun ağır metaldeki MİK düzeyi (2,5 mM) olarak belirlenmiştir. Metal konsantrasyonuındaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişimi ve EPS üretiminde azalma belirlenmiştir. En yüksek hücre gelişimi ve EPS üretimi 0,005 mM $ZnSO_4.7H_2O$ konsantrasyonunda (8,4 cfu/mL) ve (129 mg/L) olarak tespit edilmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC_{50} değeri (0,909 mM) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.21. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $ZnSO_4.7H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi.

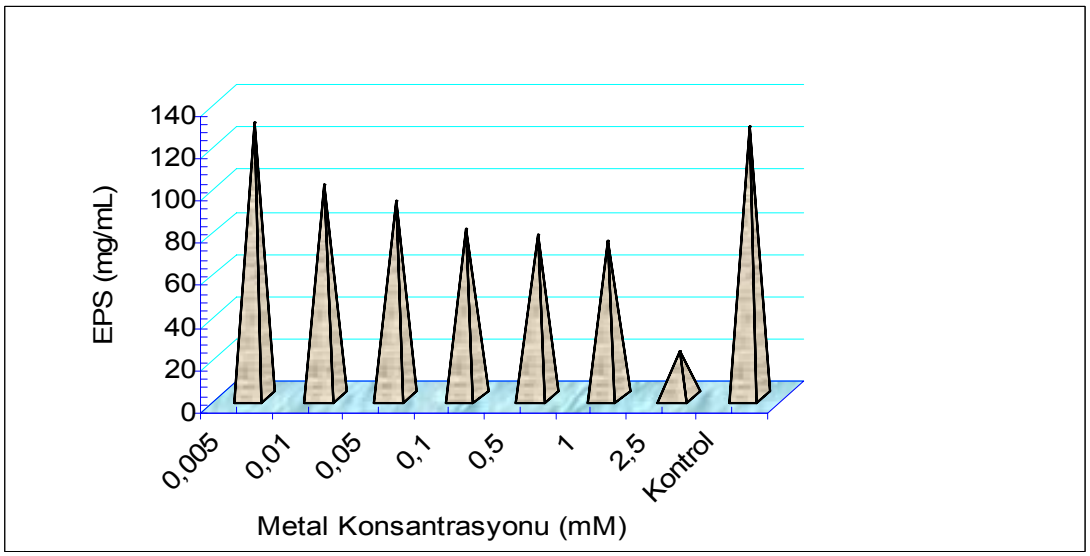
Metal Konsantrasyonu (mM)	log_{10} cfu/mL	EPS üretim miktarı (mg/L)
0,005	8,4	129
0,01	8,2	100
0,05	8,0	92
0,1	7,7	80
0,5	7,2	76
1	7,1	73
2,5	6,7	22
KONTROL	8,5	127

Çizelge 4.22. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $ZnSO_4.7H_2O$ içeren besiortamında hücre içi toplam protein miktarı.

Metal Konsantrasyonu (mM)	Protein Miktarı (mg/mL)
0,005	0,043± 0,00
0,1	0,042± 0,00
2,5	0,034± 0,00
KONTROL	0,052 ± 0,00



Şekil 4.21. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $ZnSO_4.7H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi.



Şekil 4.22. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $ZnSO_4.7H_2O$ içeren besiortamında EPS üretimi.

4.2.3. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $Cr(NO_3)_3.9H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi.

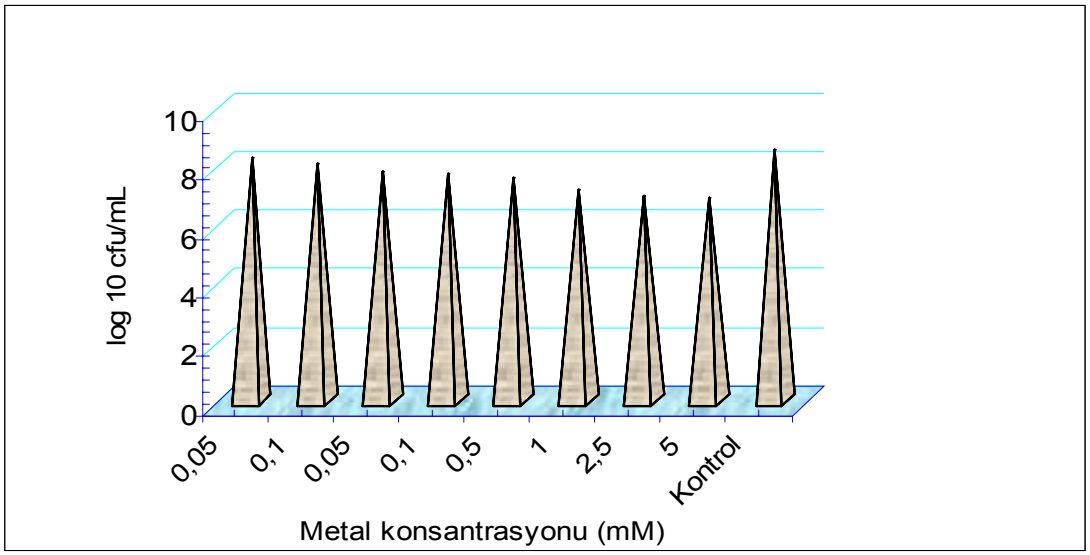
Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $Cr(NO_3)_3.9H_2O$' nin farklı metal konsantrasyonlarındaki hücre gelişimi ve EPS üretimi üzerine etkisi Çizelge 4.13' de gösterilmiştir. Suşun ağır metaldeki MİK düzeyi (5 mM) olarak belirlenmiştir. Metal konsantrasyonuındaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişimi ve EPS üretiminde azalma belirlenmiştir. En yüksek hücre gelişimi ve EPS üretimi 0,005 mM $Cr(NO_3)_3.9H_2O$ konsantrasyonunda (8,2 cfu/mL) ve (184 mg/L) olarak tespit edilmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC_{50} değeri (0,415 mM) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.23. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $Cr(NO_3)_3.9H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi.

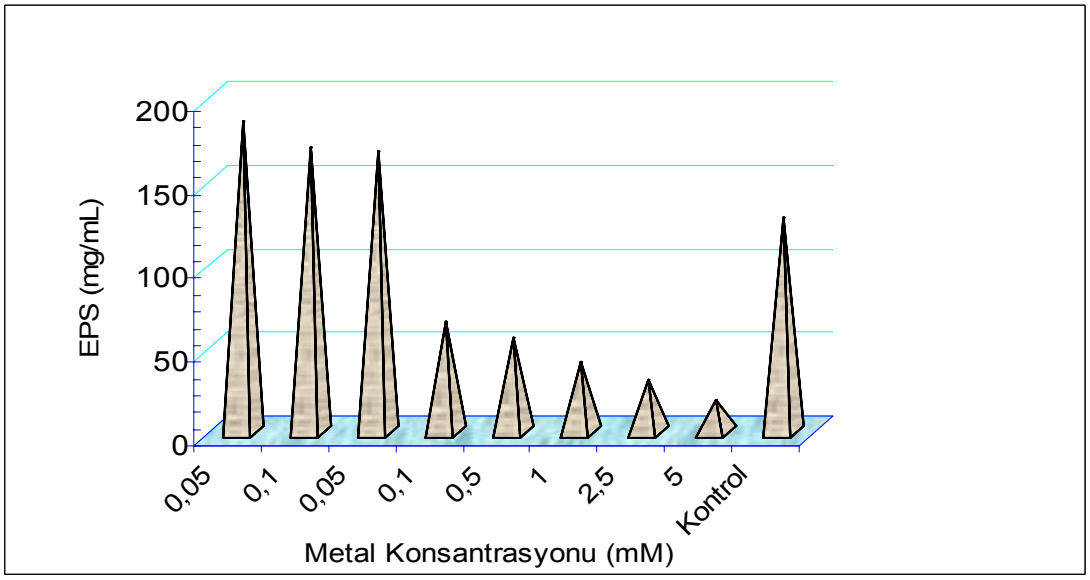
Metal Konsantrasyonu (mM)	log_{10} cfu/mL	EPS üretim miktarı (mg/L)
0,005	8,2	185
0,01	8,0	169
0,05	7,8	167
0,1	7,7	65
0,5	7,5	56
1	7,1	42
2,5	7,0	30
5	6,9	18
KONTROL	8,5	127,27

Çizelge 4.24. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $Cr(NO_3)_3.9H_2O$ içeren besiortamında hücre içi toplam protein miktarı.

Metal Konsantrasyonu (mM)	**Protein Miktarı (mg/mL)**
0,005	0,052 ± 0,00
0,1	0,049± 0,00
0,5	0,048 ± 0,00
5	0,031 ± 0,00
KONTROL	0,052 ± 0,00



Şekil 4.23. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $Cr(NO_3)_3.9H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi.



Şekil 4.24. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $Cr(NO_3)_3.9H_2O$ içeren besiortamında EPS üretimi.

4.2.4. *Lactobacillus delbruecki* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi

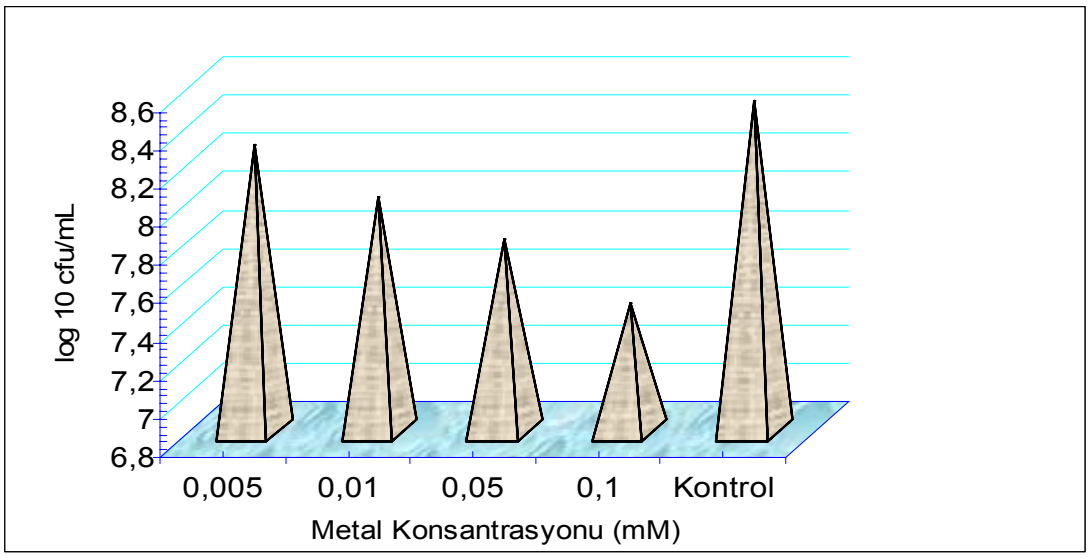
Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$' nin farklı metal konsantrasyonlarındaki hücre gelişimi ve EPS üretimi üzerine etkisi Çizelge 4.14' de gösterilmiştir. Suşun ağır metaldeki MİK düzeyi (0,1 mM) olarak belirlenmiştir. Metal konsantrasyonuındaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişimi ve EPS üretiminde azalma belirlenmiştir. En yüksek hücre gelişimi ve EPS üretimi 0,005 mM $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$ konsantrasyonunda (8,2 cfu/mL) ve (128 mg/L) olarak tespit edilmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC_{50} değeri (0,216 mM) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.25. *Lactobacillus delbruecki* ssp.*bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi.

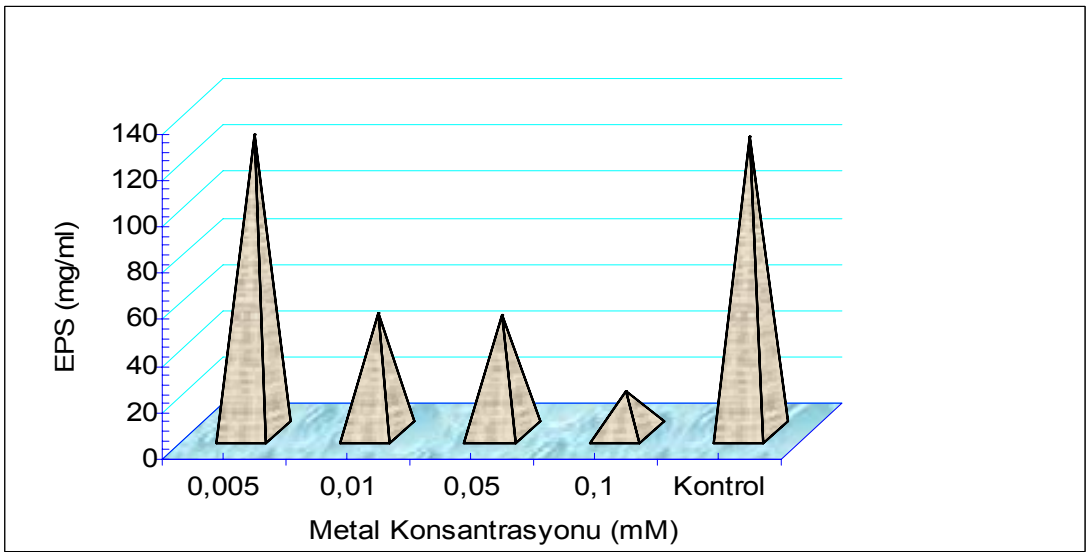
Metal Konsantrasyonu (mM)	log_{10} cfu/mL	EPS üretim miktarı (mg/L)
0,005	8,2	128
0,01	8,0	51
0,05	7,7	50
0,1	7,4	17
KONTROL	8,5	127

Çizelge 4.26. *Lactobacillus delbruecki* ssp.*bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$ içeren besiortamında hücre içi toplam protein miktarı.

Metal Konsantrasyonu (mM)	Protein Miktarı (mg/mL)
0,005	0,044 ± 0,00
0,01	0,044 ± 0,00
0,05	0,043 ± 0,00
0,1	0,041 ± 0,00
KONTROL	0,052 ± 0,00



Şekil 4.25. *Lactobacillus delbruecki* ssp.*bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi.



Şekil 4.26. *Lactobacillus delbruecki* ssp.*bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$ içeren besiortamında EPS üretimi.

4.2.5. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $NiCL_2$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi

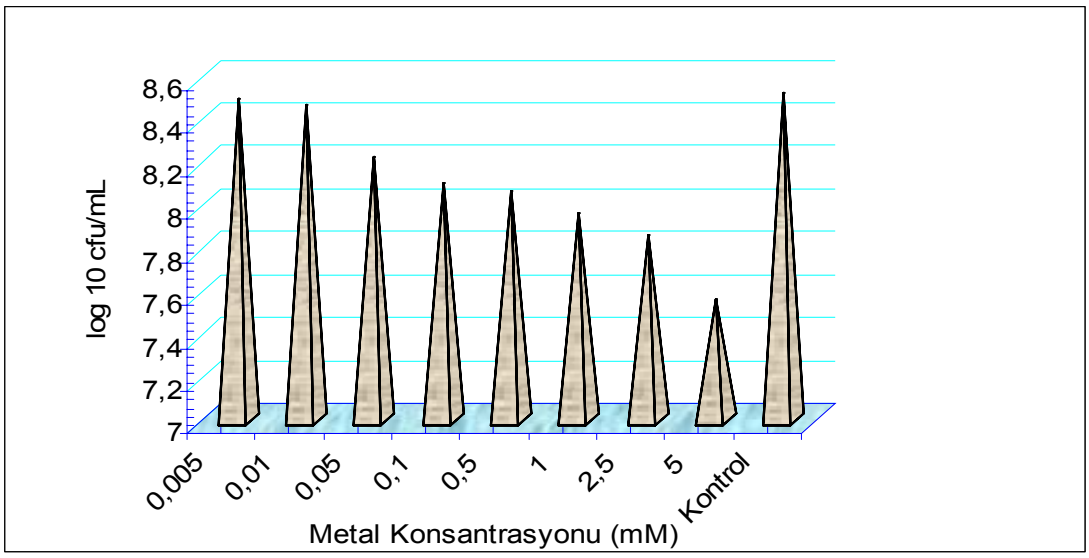
Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $NiCL_2$' nin farklı metal konsantrasyonlarındaki hücre gelişimi ve EPS üretimi üzerine etkisi Çizelge 4.15' de gösterilmiştir. Suşun ağır metaldeki MİK düzeyi (5 mM) olarak belirlenmiştir. Metal konsantrasyonuındaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişimi ve EPS üretiminde azalma belirlenmiştir. En yüksek hücre gelişimi ve EPS üretimi 0,005 mM $NiCL_2$ konsantrasyonunda (8,49 cfu/mL) ve (147 mg/L) olarak tespit edilmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC_{50} değeri (0,003 mM) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.27. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $NiCL_2$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi.

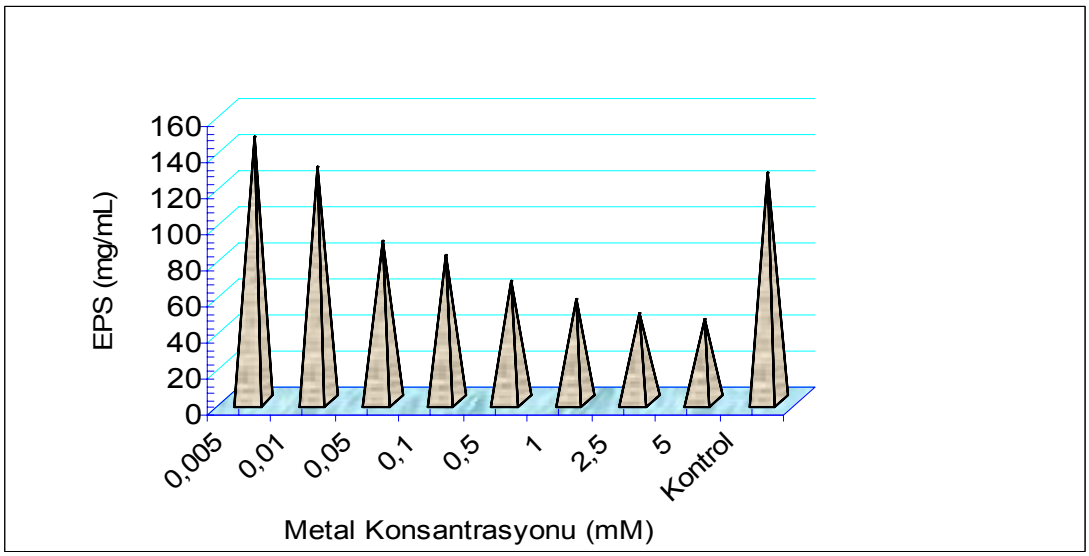
Metal Konsantrasyonu (mM)	log_{10} cfu/mL	EPS üretim miktarı (mg/L)
0,005	8,4	147
0,01	8,4	130
0,05	8,2	88
0,1	8,1	81
0,5	8,0	66
1	7,9	56
2,5	7,8	49
5	7,5	45
KONTROL	8,5	127

Çizelge 4.28. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $NiCL_2$ içeren besiortamında hücre içi toplam protein miktarı.

Metal Konsantrasyonu (mM)	Protein Miktarı (mg/mL)
0,005	0,045 ± 0,00
0,1	0,041± 0,00
5	0,027 ± 0,00
KONTROL	0,052 ± 0,00



Şekil 4.27. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $NiCL_2$ içeren besiortamında hücre gelişimi.



Şekil 4.28. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $NiCL_2$ içeren besiortamında EPS üretim.

4.2.6. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $K_2Cr_2O_7$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi

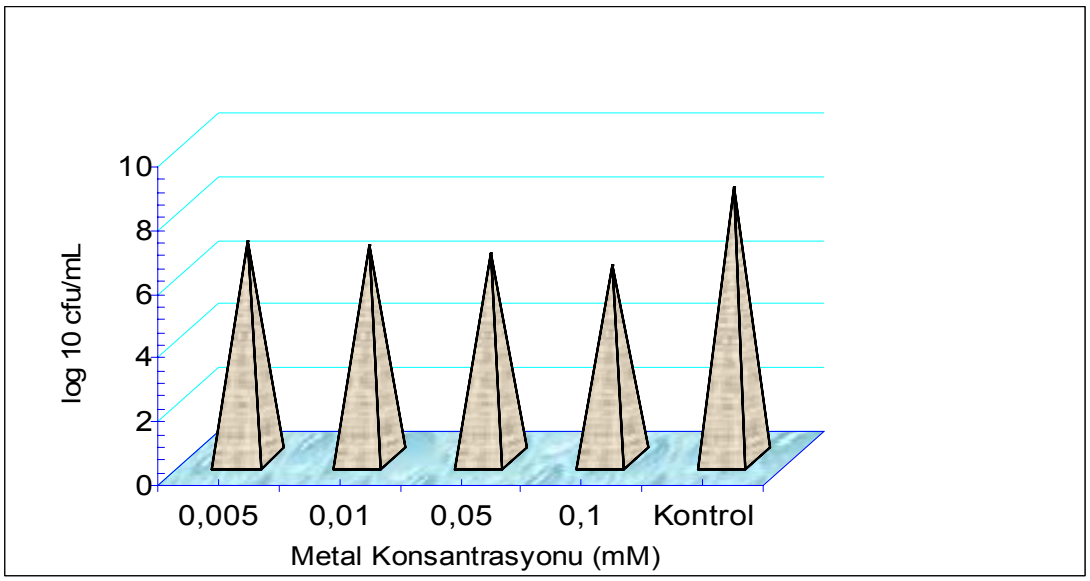
Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $K_2Cr_2O_7$' nin farklı metal konsantrasyonlarındaki hücre gelişimi ve EPS üretimi üzerine etkisi Çizelge 4.16' de gösterilmiştir. Suşun ağır metaldeki MİK düzeyi (0,1 mM) olarak belirlenmiştir. Metal konsantrasyonuındaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişimi ve EPS üretiminde azalma belirlenmiştir. En yüksek hücre gelişimi ve EPS üretimi 0,005 mM $K_2Cr_2O_7$ konsantrasyonunda (7,1 cfu/mL) ve (135 mg/L) olarak tespit edilmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC_{50} değeri (0,001 mM) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.29. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $K_2Cr_2O_7$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi

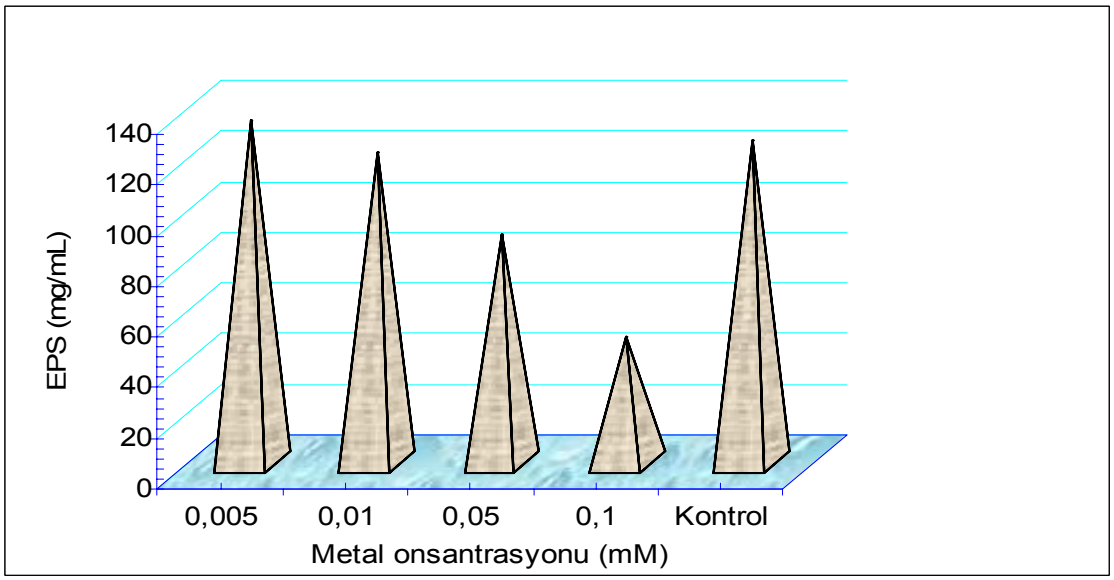
Metal Konsantrasyonu (mM)	log_{10} cfu/mL	EPS üretim miktarı (mg/L)
0,005	7,1	135
0,01	6,6	122
0,05	6,4	90
0,1	6,0	49
KONTROL	8,5	127

Çizelge 4.30. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $K_2Cr_2O_7$ içeren besiortamında hücre içi toplam protein miktarı.

Metal Konsantrasyonu (mM)	Protein Miktarı (mg/mL)
0,005	0,046 ± 0,00
0,01	0,042 ± 0,00
0,05	0,041 ± 0,00
0,1	0,036 ± 0,00
KONTROL	0,052 ± 0,00



Şekil 4.29. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $K_2Cr_2O_7$ içeren besiortamında hücre gelişimi.



Şekil 4.30. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $K_2Cr_2O_7$ içeren besiortamında EPS üretimi.

4.2.7. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $CuSO_4.5H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi

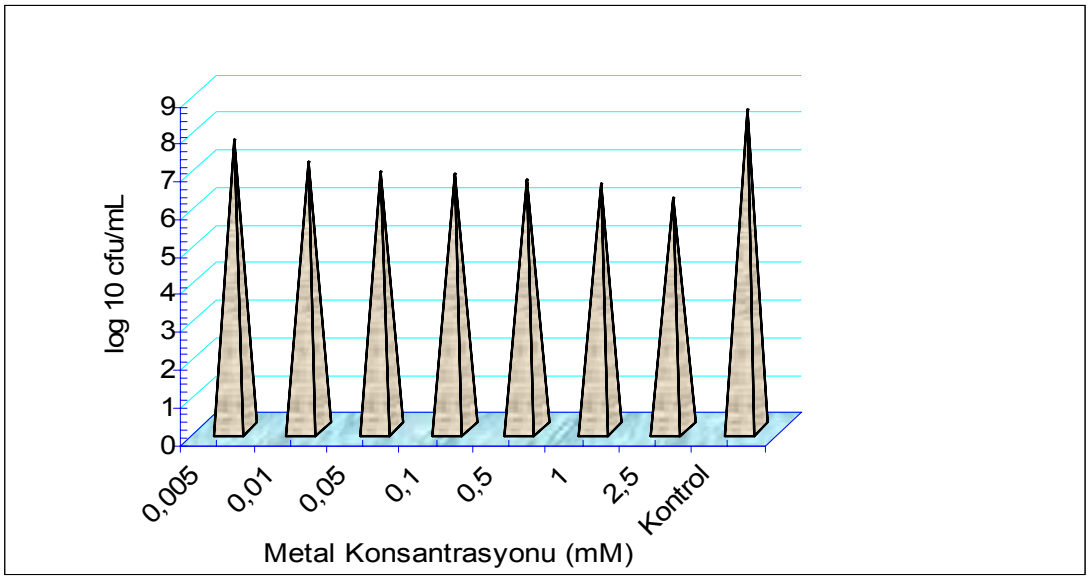
Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $CuSO_4.5H_2O$' nin farklı metal konsantrasyonlarındaki hücre gelişimi ve EPS üretimi üzerine etkisi Çizelge 4.17' de gösterilmiştir. Suşun ağır metaldeki MİK düzeyi (2,5 mM) olarak belirlenmiştir. Metal konsantrasyonuındaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişimi ve EPS üretiminde azalma belirlenmiştir. En yüksek hücre gelişimi ve EPS üretimi 0,005 mM $CuSO_4.5H_2O$ konsantrasyonunda (7,7 cfu/mL) ve (505 mg/L) olarak tespit edilmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC_{50} değeri (0,556 mM) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.31. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $CuSO_4.5H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi

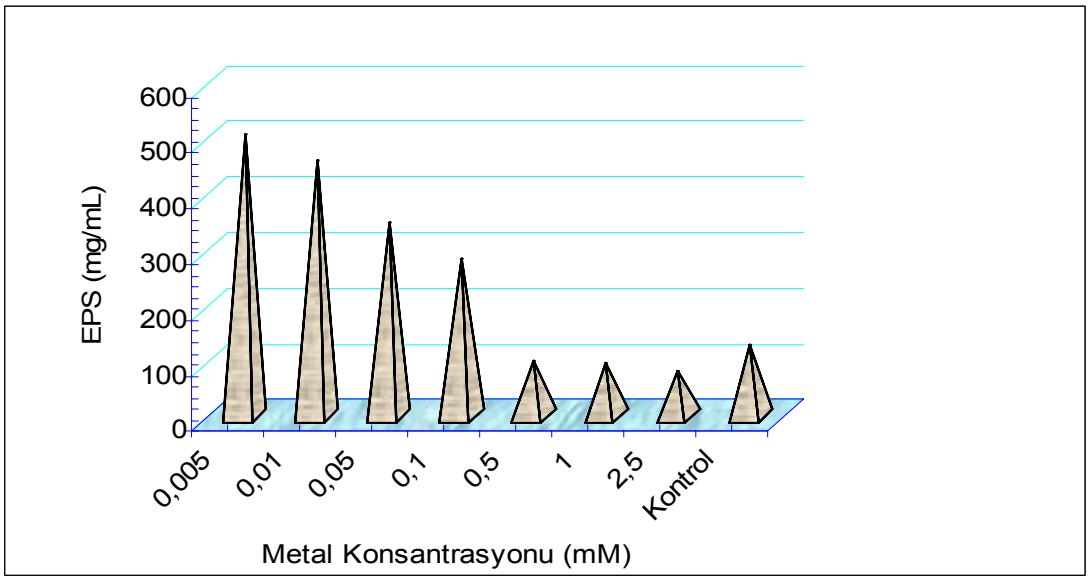
Metal Konsantrasyonu (mM)	log_{10} cfu/mL	EPS üretim miktarı (mg/L)
0,005	7,7	505
0,01	7,1	457
0,05	6,8	346
0,1	6,7	281
0,5	6,6	99
1	6,5	94
2,5	6,1	81
KONTROL	8,5	127

Çizelge 4.32. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $CuSO_4.5H_2O$ içeren besiortamında hücre içi toplam protein miktarı.

Metal Konsantrasyonu (mM)	Protein Miktarı (mg/mL)
0,005	0,040 ± 0,00
0,1	0,037 ± 0,00
2,5	0,031 ± 0,00
KONTROL	0,052 ± 0,00



Şekil 4.31. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $CuSO_4.5H_2O$ içeren besiortamında hücre gelişimi.



Şekil 4.32. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $CuSO_4.5H_2O$ içeren besiortamında EPS üretim.

4.2.8. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $AgNO_3$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi.

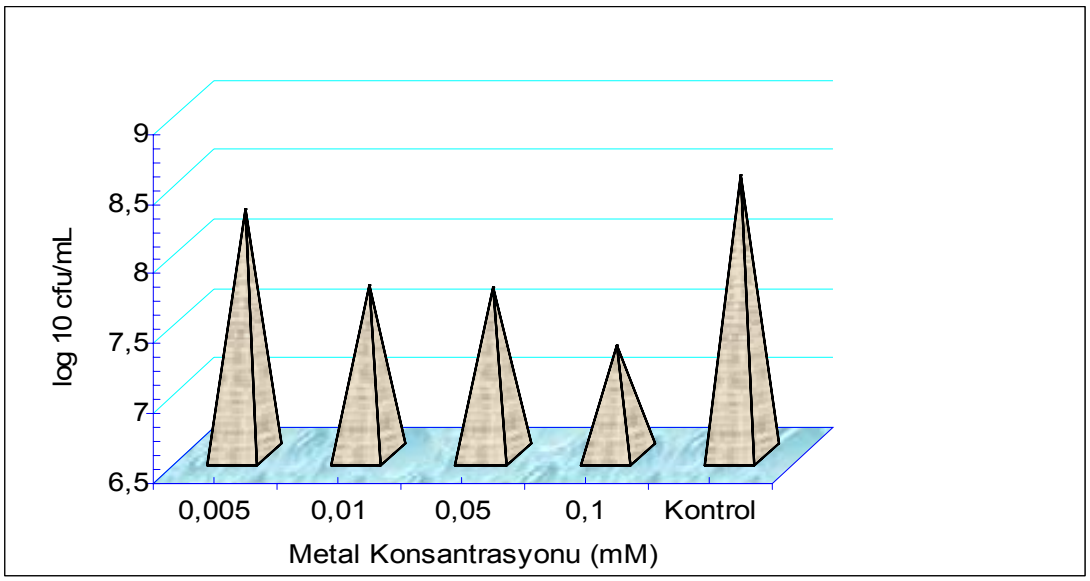
Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun $AgNO_3$' nin farklı metal konsantrasyonlarındaki hücre gelişimi ve EPS üretimi üzerine etkisi Çizelge 4.18' de gösterilmiştir. Suşun ağır metaldeki MİK düzeyi (0,1 mM) olarak belirlenmiştir. Metal konsantrasyonuındaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişimi ve EPS üretiminde azalma belirlenmiştir. En yüksek hücre gelişimi ve EPS üretimi 0,005 mM $AgNO_3$ konsantrasyonunda (8,2 cfu/mL) ve (402 mg/L) olarak tespit edilmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC_{50} değeri (0,572 mM) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.33. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $AgNO_3$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi.

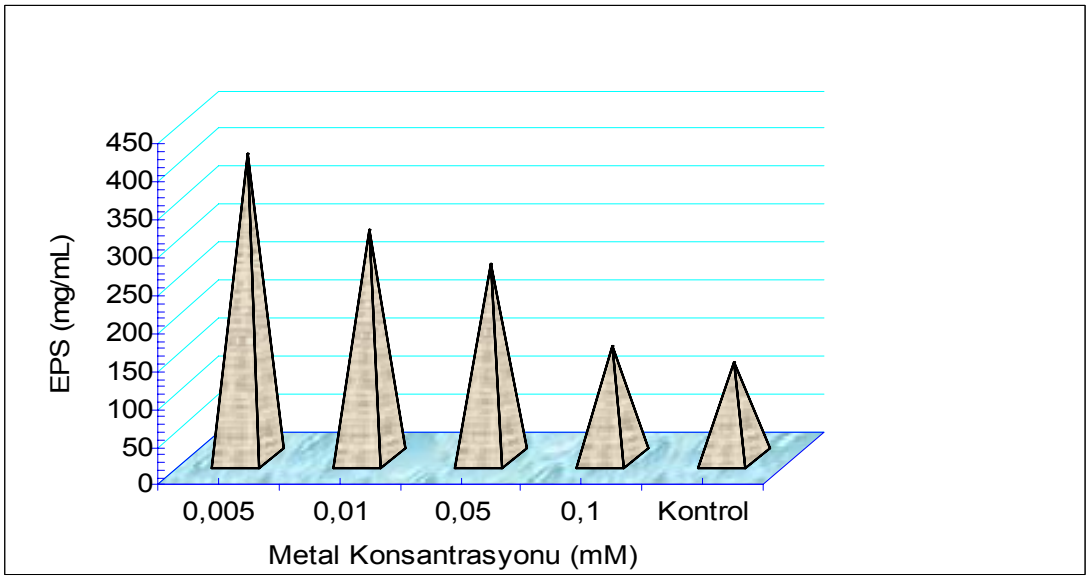
Metal Konsantrasyonu (mM)	log_{10} cfu/mL	EPS üretim miktarı (mg/L)
0,005	8,2	402
0,01	7,7	303
0,05	7,7	256
0,1	7,2	147
KONTROL	8,5	127

Çizelge 4.34. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $AgNO_3$ içeren besiortamında hücre içi toplam protein miktarı.

Metal Konsantrasyonu (mM)	Protein Miktarı (mg/mL)
0,005	0,040 ± 0,00
0,01	0,039 ± 0,00
0,05	0,036 ± 0,00
0,1	0,030 ± 0,00
KONTROL	0,052 ± 0,00



Şekil 4.33. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $AgNO_3$ içeren besiortamında hücre gelişimi hücre gelişimi .



Şekil 4.34. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $AgNO_3$ içeren besiortamında hücre EPS üretimi.

4.2.9. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $CdCl_2$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi

Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun tüm $CdCl_2$ metal konsantrasyonlarında üremediği tespit edilmiştir. Suşun bu ağır metaldeki MİK düzeyi (0,005 mM) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.35).

Çizelge 4.35. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun farklı konsantrasyonlarda $CdCl_2$ içeren besiortamında hücre gelişimi ve EPS üretimi.

Metal Konsantrasyonu (mM)	log_{10} cfu/mL	EPS üretim miktarı (mg/L)	Protein Miktarı (mg/mL)
0,005	-	-	-
0,01	-	-	-
0,05	-	-	-
0,1	-	-	-
0,5	-	-	-
1	-	-	-
2,5	-	-	-
5	-	-	-
10	-	-	-
20	-	-	-
40	-	-	-
80	-	-	-
KONTROL	8,5	127	0,052 ± 0,00

(-) Üreme yoktur.

Lactobacillus delbrueckii ssp *bulgaricus* ATCC 11842 suşun metallera karşı LC_{50} değerleri Çizelge 4.36' de verilmiştir.

Çizelge 4.36. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun metallere karşı LC_{50} değerleri.

Metal	**LC_{50} Değeri (mM)**
$Co(NO_3)_2.6H_2O$	0,578
$ZnSO_4.7H_2O$	0,909
$Cr(NO_3)_3.9H_2O$	0,415
$Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$	0,216
$NiCl_2$	0,003
$K_2Cr_2O_7$	0,001
$CuSO_4.5H_2O$	0,556
$AgNO_3$	0,572
$CdCl_2$	-

(-) Üreme yoktur.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Beslenme fizyolojisi ve sağlık açısından çok önemli bir gıda olan süt, tüm yararlı özelliklerine ve önemine rağmen, konvensiyonel üretimin sonucu olarak içerdiği çeşitli kalıntı maddeler sağlık açısından önemli problemler oluşturmaktadır. Süte bulaşan kalıntı ve kontaminantların her birinin tüketilen süte veya yediğimiz yoğurtta var olduğunu düşündüğümüzde konu daha önemli hale gelmektedir [Uysal, 2006].

Fermente süt ve süt ürünlerinin sağlık üzerine yararları birçok fermente üründe bulunan canlı organizmalara bağlıdır. Özellikle laktik asit bakteri (LAB) sütte gelişme yeteneğine sahip olup bifidobacteria içeren çeşitli mandıra ürünlerinin (ör peynir, yoğurt ve sütün) fermentasyonu için geniş çapta ticari olarak kullanılmaktadırlar. Bu bakteriler fermentasyon boyunca gelişimlerini güvence altına almak ve süt proteinlerinden nitrojen kaynağı olarak faydalanmak için çeşitli proteolitik enzimlere sahiptirler [Matar ve ark., 1996].

Fermente süt ürünlerinin yapımında kullanılan birçok laktik asit bakterisi fermentasyon sırasında ekzoselüler polisakkaritleri (EPS) salgılamaktadırlar. Bu yapılar son ürünün yapısının oluşumunu sağlarken pıhtılaşmayı önleyici özellik göstermektedir [Cerning ve ark, 1994]. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen EPS, organizmanın gelişim şartlarına (sıcaklık ve inkübasyon süresi) ve besiyerinin içeriğine bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir [Cerning ve ark., 1994].

Streptococcus thermophilus' un fiziksel ve kimyasal kültüvasyon şartlarının EPS üretimi üzerine etkisinin incelendiği çalışmalarda en fazla öneme sahip faktörlerin inkübasyon sıcaklığı, pH, oksijen gerilimi, çalkalanma hızı ve inkübasyon süresinin olduğu bildirilirken, EPS verimini belirleyen kimyasal faktörlerin de karbon ve nitrojen kaynağı, karbon/nitrojen oranı, tuz ve vitamin

gibi besiyeri bileşenlerinin varlığı gösterilmiştir [Gancel ve Novel, 1994, De Vuyst ve ark, 1998, Degeest ve ark, 2003, Yeniel, 2006].

Çalışmada süt ve süt ürünlerinde yaygın kontaminant olarak bulunan bazı ağır metallerin cadmiyum (Cd), kurşun (Pb), krom (Cr), kobalt (Co), çinko (Zn), bakır (Cu), gümüş (Ag), nikel (Ni) suşların hücre gelişimi, EPS üretimi ve toplam hücre proteini üzerindeki etkisi incelenmiştir. *Streptococcus thermophilus* suşunun ağır metal içeren besiortamında ve ağır metal içermeyen kontrol besiortamındaki hücre gelişimi Çizelge 4.1-4.17 de gösterilmiştir. 0,005-80 mM [$Co(NO_3)_2.6H_2O$] içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterdiği minimal inhibisyon konsantrasyonu (0,5 mM) olarak tespit edilmiştir. 0,005 mM [$Co(NO_3)_2.6H_2O$] konsantrasyonunda hücre gelişimi (8,0 cfu/mL) olarak belirlenirken bu değer (0,5 mM) konsantrasyonunda (7,5 cfu/mL)' ye düşmüştür (Çizelge 4.1; Şekil 4.2). Ağır metalin suşun gelişimini azalttığı belirlenmiştir. EPS üretimi 0,005 mM metal konsantrasyonunda (167 mg/L) olarak tespit edilirken, bu değer (0,5 mM) metal konsantrasyonunda (61 mg/L) olarak bulunmuştur. Kontrolle kıyaslandığında suşun EPS üretimi (157 mg/L) daha yüksek olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.1; Şekil 4.3). Suşun [$Co(NO_3)_2.6H_2O$] içeren ortamdaki protein miktarı inclendiğinde en düşük konsantrasyon olan (0,005 mM) konsantrasyonda kontrolle benzer olduğu (0,058 mg/mL), metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak (0,5 mM) protein miktarı (0,039 mg/mL)' ye azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.2).

0,005-80 mM [$ZnSO_4.7H_2O$] içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterdiği minimal inhibisyon konsantrasyonu (0,05 mM) olarak bulunmuştur. 0,005 mM [$ZnSO_4.7H_2O$] konsantrasyonunda hücre gelişimi (7,4 cfu/ml) olarak belirlenirken bu değer (0,05 mM) konsantrasyonunda (7,0 cfu/mL)' ye azalmıştır (Çizelge 4.3; Şekil 4.4). Metalin suşun gelişimini azalttığı belirlenmiştir. EPS üretimi 0,005 mM metal konsantrasyonunda (92 mg/L) olarak tespit edilirken, bu değer (0,05 mM) metal konsantrasyonunda (41mg/L) olarak bulunmuştur. Kontrolle kıyaslandığında suşun EPS üretimi

(156,7 mg/L) daha yüksek olduğu gözlenmiştir. (Çizelge 4.3; Şekil 4.5). Suşun [$ZnSO_4.7H_2O$] içeren ortamdaki protein miktarı inclendiğinde en düşük konsantrasyon olan (0,005 mM) konsantrasyonda (0,049 mg/mL) olarak tespit edilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak (0,05 mM)' da protein miktarı (0,039 mg/mL)' ye azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.4).

0,005-80 mM [$Cr(NO_3)_3.9H_2O$] içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterdiği minimal inhibisyon konsantrasyonu (5 mM) olarak tespit edilmiştir. 0,005 mM [$Cr(NO_3)_3.9H_2O$] konsantrasyonunda hücre gelişimi (8,4 cfu/mL) olarak belirlenirken, bu değer (5 mM) konsantrasyonunda (7,1cfu/mL)' ye azalmıştır (Çizelge 4.5; Şekil 4.6). Ağır metalin suşun gelişimini azalttığı belirlenmiştir. EPS üretimi 0,005 mM metal konsantrasyonunda (164 mg/L) olarak tespit edilirken, bu değer (5 mM) metal konsantrasyonunda (37 mg/L) olarak bulunmuştur. Kontrolle kıyaslandığında suşun EPS üretimi (157 mg/L) daha yüksek olarak bulunmuştur (Çizelge 4.5; Şekil 4.7). Suşun [$Cr(NO_3)_3.9H_2O$] içeren ortamdaki protein miktarı inclendiğinde en düşük konsantrasyon olan (0,005 mM) konsantrasyonda kontrolle benzer olduğu (0,058 mg/mL) metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak (5 mM)' da protein miktarı (0,035 mg/mL)' ye azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.6).

0,005-80 mM [$Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$] içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterdiği minimal inhibisyon konsantrasyonu (0,5 mM) olarak tespit edilmiştir. 0,005 mM [$Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$] konsantrasyonunda hücre gelişimi (7,1 cfu/mL) olarak belirlenirken, bu değer (0,5 mM) konsantrasyonunda (6,8 cfu/mL)' ye azalmıştır (Çizelge 4.7; Şekil 4.8). Ağır metalin suşun gelişimini azalttığı belirlenmiştir. EPS üretimi 0,005 mM metal konsantrasyonunda (173 mg/L) olarak tespit edilirken, bu değer (0,5 mM) metal konsantrasyonunda (101mg/L) olarak tespit edilmiştir. Kontrolle kıyaslandığında (157 mg/L) [$Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$]' nin suşun EPS üretimini azaltıcı etki gösterdiği bulunmuştur (Çizelge 4.7; Şekil 4.9). Suşun [$Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$] içeren ortamdaki protein miktarı inclendiğinde en

düşük konsantrasyon olan (0,005 mM) konsantrasyonda (0,051 mg/mL) olarak tespit edilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak (0,5 mM)' da protein miktarı (0,043 mg/mL)' ye azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.8).

0,005-80 mM [$NiCl_2$] içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterdiği minimal inhibisyon konsantrasyonu (0,5 mM) olarak tespit edilmiştir. 0,005 mM [$NiCl_2$] konsantrasyonunda hücre gelişimi (7,5 cfu/mL) olarak belirlenirken bu değer (0,5 mM) konsantrasyonunda (7,2 cfu/mL)' ye azalmıştır. (Çizelge 4.9; Şekil 4.10). Ağır metalin suşun gelişimini azalttığı belirlenmiştir. EPS üretimi (0,005 mM) metal konsantrasyonunda (255, mg/L) olarak tespit edilirken bu değer (0,5 mM) metal konsantrasyonunda (119 mg/L) olarak bulunmuştur. Kontrolle kıyaslandığında suşun EPS üretimi (157 mg/L) daha yüksek olarak bulunmuştur (Çizelge 4.5; Şekil 4.10). Suşun [$NiCl_2$] içeren ortamdaki protein miktarı inclendiğinde en düşük konsantrasyon olan (0,005 mM) konsantrasyonda (0,051 mg/ml) tespit edilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak (0,5 mM) protein miktarı (0,035 mg/m)' ye azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.10).

0,005-80 mM [K_2Cr2O_7] içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterdiği minimal inhibisyon konsantrasyonu (0,5 mM) olarak tespit edilmiştir. 0,005 mM [K_2Cr2O_7] konsantrasyonunda hücre gelişimi (7,9 cfu/mL) olarak belirlenirken, bu değer (0,5 mM) konsantrasyonunda (6,9 cfu/mL)' ye azalmıştır (Çizelge 4.11; Şekil 4.6). Ağır metalin suşun gelişimi azalttığı belirlenmiştir. EPS üretimi 0,005 mM metal konsantrasyonunda (185 mg/L) olarak tespit edilirken, bu değer (0,5 mM) metal konsantrasyonunda (42 mg/L) olarak bulunmuştur. Kontrolle kıyaslandığında suşun EPS üretimi (157 mg/L) daha yüksek olarak bulunmuştur (Çizelge 4.11; Şekil 4.7). Suşun [K_2Cr2O_7] içeren ortamdaki protein miktarı inclendiğinde en düşük konsantrasyon olan (0,005 mM) konsantrasyonda (0,046 mg/ml) tespit edilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak (0,5 mM)' da protein miktarı (0,030 mg/mL)' ye azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.12).

0,005-80 mM [$CuSO_4.5H_2O$] içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterdiği minimal inhibisyon konsantrasyonu (1mM) olarak tespit edilmiştir. 0,005 mM [$CuSO_4.5H_2O$] konsantrasyonunda hücre gelişimi (8,4 cfu/mL) olarak belirlenirken, bu değer (1mM) konsantrasyonunda (6,5 cfu/mL)' ye azalmıştır (Çizelge 4.13; Şekil 4.14). Ağır metalin suşun gelişimini azalttığı belirlenmiştir. EPS üretimi 0,005 mM metal konsantrasyonunda (251 mg/L) olarak tespit edilirken, bu değer (1mM) metal konsantrasyonunda (64 mg/L) olarak bulunmuştur. Kontrolle kıyaslandığında suşun EPS üretimi (157 mg/L) daha yüksek olarak bulunmuştur (Çizelge 4.13; Şekil 4.15). Suşun [$CuSO_4.5H_2O$] içeren ortamdaki protein miktarı inclendiğinde en düşük konsantrasyon olan (0,005 mM) konsantrasyonda (0,054 mg/mL) tespit edilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak (1mM)' da protein miktarı (0,037 mg/mL)' ye azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.14).

0,005-80 mM [$AgNO_3$] içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterdiği minimal inhibisyon konsantrasyonu (0,1mM) olarak tespit edilmiştir. 0,005 mM [$AgNO_3$] konsantrasyonunda hücre gelişimi (7,7 cfu/mL) olarak belirlenirken, bu değer (0,1mM) konsantrasyonunda (6,9 cfu/mL)' ye azalmıştır (Çizelge 4.15; Şekil 4.16). Ağır metalin suşun gelişimini azalttığı belirlenmiştir. EPS üretimi 0,005 mM metal konsantrasyonunda (234 mg/L) olarak tespit edilirken, bu değer (0,1mM) metal konsantrasyonunda (123 mg/L) olarak bulunmuştur. Kontrolle kıyaslandığında suşun EPS üretimi (157 mg/L) daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.15; Şekil 4.17). Suşun [$AgNO_3$] içeren ortamdaki protein miktarı inclendiğinde en düşük konsantrasyon olan (0,005 mM) konsantrasyonda (0,048 mg/mL) tespit edilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak (0,1mM)' da protein miktarı (0,035 mg/mL)' ye azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.16).

0,005-80 mM [$CdCl_2$] içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı direncli olmadığı tespit edilmiştir. Minimal inhibisyon konsantrasyonu (0,005 mM) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.17).

Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun ağır metal içeren besiortamında ve ağır metal içermeyen kontrol besiortamındaki hücre gelişimi Çizelge 4.19-4.35' de gösterilmiştir.

0,005-80 mM [$Co(NO_3)_2.6H_2O$] içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterdiği minimal inhibisyon konsantrasyonu (5mM) olarak tespit edilmiştir. 0,005 mM [$Co(NO_3)_2.6H_2O$] konsantrasyonunda hücre gelişimi (8,2 cfu/mL) olarak belirlenirken, bu değer (5 mM) konsantrasyonunda (6,2 cfu/mL)' ye azalmıştır (Çizelge 4.19; Şekil 4.19). Ağır metalin suşun gelişimini azalttığı belirlenmiştir. EPS üretimi 0,005 mM metal konsantrasyonunda (251 mg/L) olarak tespit edilirken, bu değer (5 mM) metal konsantrasyonunda (31 mg/L) olarak bulunmuştur. Kontrolle kıyaslandığında suşun EPS üretimi (127 mg/L) daha yüksek olarak bulunmuştur (Çizelge 4.19; Şekil 4.20). Suşun [$Co(NO_3)_2.6H_2O$] içeren ortamdaki protein miktarı inclendiğinde en düşük konsantrasyon olan (0,005 mM) konsantrasyonda (0,051 mg/mL) tespit edilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak (5 mM) protein miktarı (0.034 mg/mL)' ye azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.20).

0,005-80 mM [$ZnSO_4.7H_2O$] içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterdiği minimal inhibisyon konsantrasyonu (2,5 mM) olarak tespit edilmiştir. 0,005 mM [$ZnSO_4.7H_2O$] konsantrasyonunda hücre gelişimi (8,4 cfu/mL) olarak belirlenirken, bu değer (2,5 mM) konsantrasyonunda (6,2 cfu/mL)' ye azalmıştır (Çizelge 4.21; Şekil 4.21). Ağır metalin suşlun gelişimini azalttığı belirlenmiştir. EPS üretimi 0,005 mM metal konsantrasyonunda (129 mg/L) olarak tespit edilirken, bu değer (2,5 mM) metal konsantrasyonunda (21,68 mg/L) olarak bulunmuştur. Kontrolle kıyaslandığında suşun EPS üretimi (127 mg/L) daha yüksel olarak bulunmuştur (Çizelge 4.21; Şekil 4.22). Suşun [$ZnSO_4.7H_2O$] içeren ortamdaki protein miktarı inclendiğinde en düşük konsantrasyon olan (0,005 mM) konsantrasyonda (0,043 mg/mL) tespit edilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak (2,5 mM)' da protein miktarı (0.034 mg/mL)' ye azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.22).

0,005-80 mM [$Cr(NO_3)_3.9H_2O$] içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterdiği minimal inhibisyon konsantrasyonu (5 mM) olarak tespit edilmiştir. 0,005 mM [$Cr(NO_3)_3.9H_2O$] konsantrasyonunda hücre gelişimi (8,25 cfu/mL) olarak belirlenirken, bu değer (5 mM) konsantrasyonunda (6,9 cfu/mL)' ye azalmıştır (Çizelge 4.13; Şekil 4.23). Ağır metalin suşun gelişimini azalttığı belirlenmiştir. EPS üretimi 0,005 mM metal konsantrasyonunda (185 mg/L) olarak tespit edilirken, bu değer (5 mM) metal konsantrasyonunda (18 mg/L) olarak bulunmuştur. Kontrolle kıyaslandığında suşun EPS üretimi (127 mg/L) daha yüksek olarak bulunmuştur (Çizelge 4.23; Şekil 4.24). Suşun [$Cr(NO_3)_3.9H_2O$] içeren ortamdaki protein miktarı inclendiğinde en düşük konsantrasyon olan (0,005 mM) konsantrasyonda kontrolle benzer olduğu (0,052 mg/ml) metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak (5 mM) metal konsantrasyonunda ise (0,031 mg/mL)' ye azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.24).

0,005-80 mM [$Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$] içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterdiği minimal inhibisyon konsantrasyonu (0,1 mM) olarak tespit edilmiştir. 0,005 mM [$Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$] konsantrasyonunda hücre gelişimi (8,29 cfu/mL) olarak belirlenirken, bu değer (0,1 mM) konsantrasyonunda (7,4 cfu/mL)' ye azalmıştır. (Çizelge 4.25; Şekil 4.25). Ağır metalin suşun gelişimi azalttığı belirlenmiştir. EPS üretimi (0,005 mM) metal konsantrasyonunda (128 mg/L) olarak tespit edilirken, bu değer (0,1 mM) metal konsantrasyonunda (17 mg/L) olarak bulunmuştur. Kontrolle kıyaslandığında suşun EPS üretimi (127 mg/L) daha yüksek olarak bulunmuştur (Çizelge 4.25; Şekil 4.26). Suşun [$Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$] içeren ortamdaki protein miktarı inclendiğinde en düşük konsantrasyon olan (0,005 mM) konsantrasyonda (0,044 mg/mL) tespit edilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak (0,1 mM)' da protein miktarı (0,041 mg/mL)' ye azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.26).

0,005-80 mM [$NiCL_2$] içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterdiği minimal inhibisyon konsantrasyonu (5mM) olarak tespit edilmiştir.

0,005 mM [$NiCL_2$] konsantrasyonunda hücre gelişimi (8,4 cfu/mL) olarak belirlenirken, bu değer (5 mM) konsantrasyonunda (7,5 cfu/mL)' ye azalmıştır (Çizelge 4.27; Şekil 4.27). Ağır metalin suşun gelişimini azalttığı belirlenmiştir. EPS üretimi (0,005 mM) metal konsantrasyonunda (147 mg/L) olarak tespit edilirken, bu değer (5 mM) metal konsantrasyonunda (45 mg/L) olarak bulunmuştur. Kontrolle kıyaslandığında suşun EPS üretimi (127 mg/L) daha yüksek olarak bulunmuştur (Çizelge 4.27; Şekil 4.28). Suşun [$NiCL_2$] içeren ortamdaki protein miktarı inclendiğinde en düşük konsantrasyon olan (0,005 mM) konsantrasyonda (0,045 mg/mL) tespit edilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak (5 mM) protein miktarı (0,027 mg/mL)' ye azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.28).

0,005-80 mM [$K_2Cr_2O_7$] içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterdiği minimal inhibisyon konsantrasyonu (0,1 mM) olarak tespit edilmiştir. 0,005 mM [$K_2Cr_2O_7$] konsantrasyonunda hücre gelişimi (7,1 cfu/mL) olarak belirlenirken, bu değer (0,1 mM) konsantrasyonunda (6,0 cfu/mL)' ye azalmıştır (Çizelge 4.29; Şekil 4.29). Ağır metalin suşun gelişimini azalttığı belirlenmiştir. EPS üretimi 0,005 mM metal konsantrasyonunda (135 mg/L) olarak tespit edilirken, bu değer (0,1 mM) metal konsantrasyonunda (49 mg/L) olarak bulunmuştur. Kontrolle kıyaslandığında suşun EPS üretimi (127 mg/L) daha yüksek olarak bulunmuştur (Çizelge 4.29; Şekil 4.30). Suşun [$K_2Cr_2O_7$] içeren ortamdaki protein miktarı inclendiğinde en düşük konsantrasyon olan (0,005 mM) konsantrasyonda (0,046 mg/mL) tespit edilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak (0,1 mM)' da protein miktarı (0,036 mg/mL)' ye azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.30).

0,005-80 mM [$CuSO_4.5H_2O$] içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterdiği minimal inhibisyon konsantrasyonu (2,5 mM) olarak tespit edilmiştir. 0,005 mM [$CuSO_4.5H_2O$] konsantrasyonunda hücre gelişimi (7,7 cfu/mL) olarak belirlenirken, bu değer (2,5 mM) konsantrasyonunda (6,1 cfu/mL)' ye azalmıştır (Çizelge 4.31; Şekil 4.31). Ağır metalin suşun gelişimini azalttığı belirlenmiştir. EPS üretimi (0,005 mM) metal konsantrasyonunda

(505 mg/L mg/L) olarak tespit edilirken, bu değer (2,5 mM) metal konsantrasyonunda (81 mg/L) olarak bulunmuştur. Kontrolle kıyaslandığında suşun EPS üretimi (127 mg/L) daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.31; Şekil 4.32). Suşun [$CuSO_4.5H_2O$] içeren ortamdaki protein miktarı inclendiğinde en düşük konsantrasyon olan (0,005 mM) konsantrasyonda (0,040 mg/mL) tespit edilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak (2,5 mM)' da protein miktarı (0,031 mg/mL)' ye azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.32).

0,005-80 mM [$AgNO_3$] içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterdiği minimal inhibisyon konsantrasyonu (0,1 mM) olarak tespit edilmiştir. 0,005 mM [$AgNO_3$] konsantrasyonunda hücre gelişimi (8,2 cfu/mL) olarak belirlenirken, bu değer (0,1 mM) konsantrasyonunda (7,2 cfu/mL)' ye azalmıştır. (Çizelge 4.33; Şekil 4.32). Ağır metalin suşun gelişimini azalttığı belirlenmiştir. EPS üretimi (0,005 mM) metal konsantrasyonunda (402 mg/L) olarak tespit edilirken, bu değer (0,1 mM) metal konsantrasyonunda (147 mg/L) olarak bulunmuştur. Kontrolle kıyaslandığında suşun EPS üretimi (127 mg/L) daha yüksek olarak bulunmuştur (Çizelge 4.33; Şekil 4.33). Suşun [$AgNO_3$] içeren ortamdaki protein miktarı inclendiğinde en düşük konsantrasyon olan (0,005 mM) konsantrasyonda (0,040 mg/mL) tespit edilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak (0,1 mM)' da protein miktarı (0,030 mg/mL)' ye azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.34).

0,005-80 mM [$CdCl_2$] içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı direncli olmadığı tespit edilmiştir. Minimal inhibisyon konsantrasyonu (0,005 mM) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.35).

Son yıllarda ağır metal biyosorpsiyonunda bakterilerin kullanımı üzerine yoğunlaşılmıştır. Çeşitli araştırıcılar canlı veya ölü biyomasın solüsyondan ağır metalleri adsorblama potansiyeline sahip olduğunu bildirmişlerdir. Toksik ağır metal iyonlarının birçoğu bakteri, fungus, maya, alg ve yüksek bitkilerin ölü biyomasları tarafından uzaklaştırılabilmektedir [Shaker ve Hussein, 2005].

Canlı ve ölü hücreler yanı sıra salgılanan ürünlere veya mikrobiyal hücrelerden edilmiş (örneğin hücre duvarı) bileşenleri, EPS, metal bağlayan proteinler (MTs) ve solüsyonda bulunan metal radionüklid yanı sıra ilgili elementleri veya metabolitleri, organometal veya organometaloidleri kapsayan bileşikleri ve metal içeren partikülleri uzaklaştırma yeteneğine sahiptir [Fry ve ark., 1992]. Ağır metal kirliliğinde bakteriyel ekzopolimerler metal bağlayıcı ajanlar olarak alternatif öneme sahiptir. Gram pozitif bakteriler non-toksijenik ve non-patojenik olmalarından dolayı biyosorpsiyonda güvenli temsilcilerdir. kzopolimerler veya ekzopolisakkaritler (EPS) metal biyosorpsiyonunda önemli bir rol oynar [Acosta ve ark., 2005].

De Philippis ve ark. (2007) ekzopolisakkarit üreten *Cyanobacter'* lerin hücrelerinin etrafında aniyonik ekzopolisakkaritlerle çevrili olmasından dolayı metal biyosorpsiyonunda kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Acosta ve ark. (2005) *Paenibacillus polymyxa'* nın EPS üreten suşlarının çok güçlü iyon adsorpsiyon yeteneğine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Araştırıcılar EPS' nin farklı metal alım kapasiteleri metal-EPS etkileşiminin yüksek olan bölgelerde metal adsorpsiyonu polimerin konformasyonuna bağlı olduğunu belirtmişlerdir.

Emtiazi ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada 2 *Azotobacter* suşu tarafından üretilen EPS' nin Cu, Zn ve Fe ağır metallerini sırasıyla 15.5, 20 ve 25 mg adsorbe ettiğini bildirmişlerdir.

EPS yoğurt, ayran, peynir, krema, süt ürünlerinin üretiminde önemli bir role sahiptir. Son ürünün tat ve stabilitesi yapı ve damak tadına katkıda bulunur. Aynı zamanda bazı EPS' ler insan sağlığı üzerinde prebiyotik olarak kullanılmaktadır (Bergmaier ve ark., 2003). Bu alanda bugüne kadar yapılmış diğer çalışmalardan farklı olarak bu çalışmada, probiyotik olarak kullanılabilecek yoğurt kökenli *Lactobacillus* ve *Streptococcus* cinsi bakteriler tarafından ağır metal direnci ile EPS üretimi arasındaki ilişkinin aydınlatılması

amaçlanmıştır. Araştırmada süt endüstrisinde startır kültür seçiminde önemli bir kriter olan ekzopolisakkarit üretiminin metal kontaminasyonunda üretimindeki değişiklikler araştırılmıştır. Çalışma sonuçlarımıza göre genel olarak test bakterilerinin düşük konsantrasyonlarda ağır metale maruz kaldıkları durumda EPS üretiminde kontrole göre bir artış gözlenmiştir. Ancak metal konsantrasyonundaki artışın EPS üretimini azalttığı belirlenmiştir.

Ağır metaller protein ve RNA sentezini inhibe ederek mutajenik etki meydana getirmektedir [Seidametova ve ark., 2004]. Çalışmamızda da her iki bakteri türlerinin protein sentezi denen tüm metallerde azaldığı gözlenmiştit. Yüksek konsantrasyonlarda metallerin protein sentezinde inhibisiyon daha fazla olduğu gözlenmiştir..

Elde ettiğimiz sonuçlar çalışmamızda kullandığımız tüm suşların farklı oranlarda metal toleransına sahip olduğunu ortaya koymuştur. Tüm bu sonuçlar ışığında metallere toleransın suşa özgü bir özellik olduğu öne sürülebilir. Bunun yanı sıra bazı araştırmacılar tarafından suşlar tarafından üretilen EPS' nin bakteri hücrelerini faj atakları, osmotik stres, antibiyotik ve toksik maddelere karşı koruduğu ileri sürülmüştür [Ruas Madiedo ve ark., 2002].

çalışmada kullandığımız suşların farklı oranlarda EPS üretikleri gözlenmiştir. Ancak yapmış olduğumuz çalışmanın sonucunda EPS üretimi ile metal direnci arasında bir ilişki olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmada suşların metal direnci arasında farklılıklar olduğu gözlenmiştir, genel olarak *Lactobacillus* suşunun metal direncin *Streptococcus* suşuna göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu bakteri' nin de EPS üretimi yüksek olarak bulunmuştur.

Laktik asit bakterileri tarafından üretilen ekzopolisakkaritler fermente ürünün daha kıvamlı ve yumuşak olmasını sağlar. Probiyotik özellik olarak EPS'nin;

bakteriyi sıvı kaybına, makrofajlara, fagositoza, bakteriyofajlara, antibiyotik ve toksik bileşiklere karşı koruduğu, ayrıca metal iyonlarının hücreye alımında görevli olduğu bilinmektedir. EPS'nin diğer bir önemli özelliği ise bakterinin yüzey tutunmasında yapıştırıcı (slime) işleve sahip olması ile bulunduğu ortama tutunma ve biyofilm oluşturmasında etkili olmasıdır. Bütün bu özellikler, EPS üreten bakteriye bulunduğu ortamda stabil olarak kalabilme ve dominant olarak kolonize olma özelliği sağlamaktadır. Ayrıca EPS' lerin immün sistemi teşvik ettiği antitümoral ve kolesterol düşürücü etkiye sahip olduğu da saptanmıştır [Looijesteijin ve ark., 2001].

Çalışmada elde edilen sonuçlar ağır metal içeren besiortamında geliştirilen suşlar ile ağır metal içermeyen kontrol besiortamında geliştirilen suşlar tarafından üretilen EPS miktarları arasında belirgin bir fark tespit edilmiştir. Ancak metalli besiortamında inkübe edilen suşların metal içermeyen besiortamında geliştirilen suşlardan genellikle daha fazla miktarda EPS ürettiği belirlenmiştir. Bu şekilde ağır metallerin EPS üretimini stimüle ettiği gözlenmiştir.

Literatürde ağır metallerin Laktik asit bakterilerinin hücre gelişimi ve EPS üretimi üzerine etkisinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Sonuç olarak, yapmış olduğumuz bu çalışmada ağır metal direnci ve EPS üretimi özellikleri bakımından test edilen ve probiyotik olarak kullanılan yoğurt kökenli *Lactobacillus. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 ve *Streptococcus thermophilus* ATCC 14425 suşlarının tümünü belirli oranlarda ağır metal direnci ve EPS üretimine sahip olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte bu suşların metalle uygulanma sonrasında EPS üretiminin genellikle yükseldiği gözlenmiştir. Probiyotik veya starter olarak kullanılacak kültürlerin ağır metal dirençliliğinin yüksek olması tercih edilmelidir. Tüm bu özelliklerden dolayı *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşun uygun bir probiyotik suş olduğu gözlenmiştir .

Sonuç olarak, çalışmada ağır metal direnci ve EPS üretimi özellikleri bakımından test edilen ve probiyotik olarak kullanılabilen yoğurt kökenli *Streptoccus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşlarının belirli oranlarda ağır metal direnci yeteneğine sahip oldukları belirlenmiştir. Bununla birlikte bu iki suş arasından *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşunun yüksek oranda hücre gelişimi ve EPS üretimi bakımından diğer suştan daha üstün özellikler sergilediği tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra bu suşun test edilen tüm metallere karşı minimum inhibisyon konsantrasyonunun (MİK) düzeyinin *Streptococcus thermophilus* suşuna göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar göre probiyotik veya starter olarak kullanılacak kültürlerin teknolojik işlemler sırasında meydana gelebilecek metal kontaminasyonuna karşı dirençli olması gerekmektedir. Tüm bu özelliklerinden *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşunun tek başına ya da yüksek oranlarda EPS üretebilen probiyotik suşlarla kombine edilerek üretilecek probiyotik ürünlerin üretiminde kullanımı tercih edilmelidir. Bu çalışma ile elde edilen sonuçların daha sonraki yapılacak olan probiyotik çalışmalara katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

Ağaoğlu, S., Mengel, Z., Tutşi, F., ''Beyaz ve Otlu Peynirde Bazı Metal (Cu, Zn, Mn) Kalıntı DüzeyleriÜzerinde Araştırmalar'', ***Yüzüncü Yıl Üniv. Veteriner Fak. Dergisi***,10 (1-2): 17-18 (1999).

Bayraktaroğlu, G., ''Tarakya Bölgesinde Üretilen Peynirlerde Bazı Ağır Metal İçeriklerinin Araştırılması'', Yüksek Lisans Tezi*,* ***Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,*** Edirne, 18-22 (1993).

Cerning**,** J., Bouillanne, C., London, M. And Desmazeaud, M.,''Isolation and characterization of exopolysaccharides from slime-forming mesophilic lactic acid bacteria'', ***J. Dairy Sci****.* 75:692-699, (1992).

Cerning, J., ''Prodoction of exopolysaccharides by lactic acid bacteria and dairy probionobacteria'', ***Lait***, 75: 463-472, (1995).

Cerning, J., Bouillanne, C., Desmazeaud, M.J., Landon, M., "Isolation and Characterization of Exocellular Polysaccharide Produced by Lactobacillus bulgaricus", ***Biotech .Lett***,8: 625-628 (1986).

Cerning, J., Bouillanne, C., Desmazeaud, M.J., Landon.M., "Comparision of Exocellular Polysaccharide Production by Thermophilic Lactic Acid Bacteria", ***Sci.Aliments*** 10:443-451 (1990).

Cerning, J., Renard, C.M.G.C., Thibault, J.F., Bouillanne, C., Landon, M., Desmazeaud, M. and Topisirovic, L., "Carbon Source Requirement for Exopolysaccharide Production by Lactobacillus casei CG11 and Partial Structore Analysis of the Polymer", ***Appl. Environ Microbiol.*** 60 (11): 3914-3919 (1994).

Cabrera, C., Lorenzo, M. L. And Lopez, M. C., ''Contamination in dairy Products and Its Repercussion on Total Dietary Intake''***, J.Agric,*** 43: 1605-1609 (1995)

Çakır,İ., ''*Lactobacillus* ve *Bifidobacter*lerde bazı probiyotik özelliklerin incelenmesi'', Doktora Tezi,***Ankara Üniversitesi***, Ankara, (2003).

Çelik, F., ''Ağır Metal ve antibiyotiklerin Escherichia coli' nin üremesi ve β-Galaktozidaz Enzim Biyosentezi Üzerindeki İnhibisyon Etkileri'', Yüksek Lisans Tezi, ***Diyarbakır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,*** Diyarbakır, 54-55 (2003).

Doco, T., Wieruszelski, J.M., Furnet, B.et al., "Structure of an Exocellular Polysaccaride Produced by *Streptococcus thermophilus*", ***Carbonhyd .Res*** 12 :198-313 (1990).

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., Smith, F., ''Colorimetric method for determination of sugars and related substances'', ***Anal. Chem***., 28 (3): 350-352 (1956).

Dwivedi, S.K., Dey, S., Swarup, D., ''Lead in Blood And Milk From Urban Indian Cattle And Buffalo'', ***Veterinary Human Toxicology*** 37(5):2-471, (1995).

Eralp, M.,''Peynir Teknolojisi'',No:533, ***Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları***, s.Ankara, 533-331 (1974).

Ergenç, S., Günebakan, S., Soytürk, B., Engizek, T., ''İstanbul Süt Endüstrisi Kurumunun Pazarladığı Pastörize Şişe Sütlerindeki Ağır Metal Miktarları''***, II. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi*** 11-13 Eylül, Ankara. 1-9, (1995).

Galland, T. And Barrie, S. '' Intestinal dybiosis and the causes of disease'',***J. Advancement Med***, 6:67-82, (1993).

İnternet: Utah State University "Microscopy"
http://bioweb.usu.edu/microscopy/lactobacillus%20bulgaricus.jpg (2005).

Garcia, E.M., Lorenzo, M.L., Cabrera, C, Lopez, M.C., Sanchez, J., ''Trace Elements Determination in Different Milk Slurries'', ***Journal Of Dairy Research***, 66(4):569-578, (1999).

İsolauri, E., Sutas, Y., Kankaapaa, P., ''Probiotics: effects on immunity'', ***Am. J. Clin. Nutr***.,73, 444-50, (2001).

Kaplan, D., Christiaen, D., Arad, S.,''Chelating Properties of Extracellular Polysaccharides from *Chlorella* ssp.'', ***Applied and Environmental Microbiology,*** 53(12), 2953-2956 (1978).

Kong, J.Y., Lee, H.W., Hong, J.W., Kang, Y.S., Kim, J.D., Chang, M. W., Bae, S.K., ''Utilization of a cell-Bound polysaccaride Produce By The Marine Bacterium Zoogloea sp'', New Biometerial For Metal adsorption and Enzyme İmmobilization.,***Journal of Marine Biotechnology*** 6, 99-103 (1998).

Kottferova, J., Korenekova, B., ''Investigation Into The Susceptibility Of Lactobacillus, helveticus And Lactobacillus casei Dairy Cultures To Heavy Metals'', ***Bulletin Of The Veterinary Inst.*** in Pulawy, 42(2): 191-194, (1998).

Klaenhammer, T. R., ''Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria", ***FEMS Microbiol. Rev***., 12: 39-86, (1993).

Kılıç, S., “Süt Endüstrisinde Laktik asit Bakterileri”, ***Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü***, Bornova-İZMİR. 1-2, 37-48, 181-193 (2001).

Li, Y., McCrory, D. F., Powell, J. M., Saam, H., and Jackson-Smith D., ‘’A Survey of Selected Heavy Metal Concentration in Wisconsin Dairy Feeds’’, ***American Dairy Scieence Association***, 88: 2911-2922 (2005)

Marteau, P.R., Vrese, M., Cellier, J.C., Schrezenmeir, J., ‘’Protection from gastrointestinal diseases with use of probiotics’’, ***Am. J. Clin. Nutr***, 73, 430-436, (2001).

Marshall, M., “Fermented milk and their Future Trands .I”. Microbiological aspects, ***J. Dairy Res***. 54:559-574 (1987).

Marshall, V.M., Rawson, H.L.,. “Effects of Exopolysaccharide Producing strainsof thermophilic lactic acid bacteria an texture of sirred yoghurt”, ***Int. J. Food Sci Technol.*** 34:137-143 (1999).

Mozzi, F., Oliver, G., De Giorgi, G.S., De Valdez, G.F., “İnfluence of temperature on the Production of Exopolysaccharides by thermophilic Lactic Bacteria”, ***Milwissensch*** . 50(2): 80-82 (1995).

Marshall, V.M., Laws, A.P., Gu, Y., Levarder, F., Rådström, P., De Vuyst, L., Degeest, B., Vaningelgem, F., Dunn, H., Evlin, M., ‘’Exopolysaccharide-producing strains of thermophilic lactic acid bacteria cluster into groups according to their EPS structure’’***, Letters in Appl. Microbiol***., 32; 433-437, (2001).

Mendil, D.,’’ Mineral and trace metal levels in some cheese collected from Turkey’’, ***Food Chemistry***, 96: 532-537 (2006)

Oysun, G., “Fermente süt ürünlerinde L(+) ve D(-) laktik asit düzeyleri ve önemi. ”, ***III Milli Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu***, İstanbul. 278-285 (1995).

Özdemir, C, Çelik, Ş., Özdemir, S., Bakırcı, İ., Dönmez, B., ‘’Erzurum ve Yöresinde Üretilen İnek Sütlerinin Mineral Madde Düzeyi Ve Ağır Metal Varlığı Üzerinde Bir Araştırma’’, ***VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu*** "Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri" , Tekirdağ. 347-353, (2000).

Özrenk E., 2002, ‘’Van İli ve İlçelerinde Üretilen İnek Sütlerinin Ağır Metal Kirlilik Düzeyi ve Bazı Mineral Madde İçerikleri’’, Doktora Tezi, ***Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü***, Van, 16-18, (2002)

Rolfe, R.D., ''The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health'', ***Journal of Nutrition***, 130, 3965-4025, (2000).

Salehizadeh, H., Shojaosadati. S.A.,''Removal of Heavy Metal İons From aqueous solution of hexavalent Chromium by Two Seaweed Associated aspergilli''. ***Marine POllution Bulletin*** 48(9-10), 983-985 (2003).

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

Salminen, S., Ouwehand, A., Benno, Y., Lee, K.Y.,. "Probiotics: How should they be defined?", ***Trends in Food Sci. & Technol***. 10: 107-110 (1999).

Shah, N.,. ''Functional foods from probiotics and prebiotics'', ***Food Technology*** 55:46-53, (2001).

Sneath, P. H. A., Mair, N. S. and Holt, J. G., "Bergey' s Manual of Systemic Bact., Volume 2", ***Willims & Wilkıns***., London, 1208-1304 (1986).

Sutherland, I. W.,. "Bacterial Exopolysaccharides", ***Adv. Micro. Physiol*** .8: 143-213 (1972).

Şimşek, O., Gültekin, R., Öksüz, Ö., Kurultay, Ş., , ''The Effect of Environmetal Pollution On the Heavy Metal Content Of Raw Milk'', ***Nahrung/Food***, 6:44-46 (2000).

Tamime, A.Y. Microbiology of starter oultures In: "Dairy Microbiology" ***Robinson P.K. (Ed). Elsevier Science Publishers***: London, 2: 120-128 (1981).

Valerie, M. M., Rawson, H. L., ''Effects of exopolysaccharide-producing strains of thermophilic lactic acid bacteria on the texture of stirred yoghurt'', ***Int. J. Food Sci. Tec.,*** 34: 137-143 (1999).

Yücesan, S., , ''Probiyotikler ve sağlık üzerine etkileri'', ***Türk Diyetisyenler Derneği Bülteni***, Sayı 2., 1-13, (2002)

Yeniel, N., "*Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* Suşlarının Melas, Peynir Altı Suyu Ve Pancar Suyunda Ekzopolisakkarit (Eps) Ve Laktik Asit Üretimlerinin Belirlenmesi", (Yüksek Lisans)***, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,*** Ankara, 1-15 (2006).

Yüzbaşı, N., Sezgin, E., Yıldırım, M., and Yıldırım, Z.,''Survey of Lead. cadimium, İron. Copper, and zinc in Kaşar cheese''***, Food Additives Contaminants,*** 20: 464-469 (2003).

Zubillago, M., Weill, R., Postaine, E., Goldman, C., Caro, R., Boccio, J., ‘’Effect of probioticsand functional foods and their use in different diseases’’, ***Nutrition Research***, 21: 569-579, (2001).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı	: ALİ, Mohamad
Uyruğu	: IRAK
Doğum tarihi ve yeri	: 13.02.1980 Kerkük
Medeni hali	: Bekar
Telefon	: 0543 449 50 08
Faks	: -
e-mail	: memetbio@yahoo.com.,

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi /Biyoloji Bölümü	2006
Lisans	Bağdat Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2003
Lise	Kerkük Lisesi	1997

Yabancı Dil

İngilizce, Arabca

Yayınlar

Hobiler

Voleybol, Resim, Müzik, Seyahat