



T.C.

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**



**MANDA SÜT ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN TANIMLANMASI VE PROBİYOTİK
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Gizem TAYLAN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

ÇANAKKALE

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

MANDA SÜT ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN TANIMLANMASI VE PROBİYOTİK
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Gizem TAYLAN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 14.07.2017

Tez Danışmanı:

Yrd. Doç. Dr. Nükhet N. ZORBA

ÇANAKKALE

Gizem TAYLAN tarafından Yrd. Doç. Dr. Nükhet N. ZORBA yönetiminde hazırlanan ve 14/07/2017 tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Manda Süt Ürünlerinden İzole Edilen Bakterilerin Tanımlanması ve Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Yrd. Doç. Dr. Nükhet N. ZORBA

Başkan

Prof. Dr. Yonca KARAGÜL YÜCEER

Üye

Yrd. Doç. Dr. Nural KARAGÖZLÜ

Üye

Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:.....

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI



Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Gizem TAYLAN

TEŞEKKÜR

Tez sürecim boyunca değerli bilgi ve tecrübeleri ile bana her zaman yol gösteren saygı değer danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Nükhet N. ZORBA'ya en içten dileklerle teşekkür ediyorum.

Hayatımın her alanında bana inarak desteklerini her daim hissettiren babam Talip TAYLAN, annem Hanife TAYLAN ve canım kardeşim Didem Lale TAYLAN'a sonsuz teşekkür ederim.

Tez materyalimi oluşturan örneklerin temininde yardımlarından ötürü Musa Yalman'a tez dönemim boyunca yanımda olan, çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen değerli arkadaşlarım Melike Nur TOSUN, Melike ÖZER, ve Duygu NALBANT'a ve laboratuvardaki tüm çalışma arkadaşlarıma en içten dileklerle teşekkürü bir borç bilmekteyim.

Gizem TAYLAN
Çanakkale, Temmuz 2017

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde değeri
FAO	Food and Agriculture Organization
g	Gram
GRASS	Genellikle güvenli kabul edilen
kob	Koloni oluşturan birim
LAB	Laktik asit bakterisi
M-17 Agar	M-17 Agar acc. to Terzaghi
M-17 Broth	M-17 Broth acc. to Terzaghi
mL	Mililitre
mm	Milimetre
MRS Agar	Lactobacillus Agar acc. to DE MAN, ROGOSA and SHARPE
MRS Broth	Lactobacillus Broth acc. to DE MAN, ROGOSA and SHARPE
nm	Nanometre
RAPD-PCR	Rasgele Çoğaltılan Polimorfik DNA Polimeraz Zincir Reaksiyonu
WHO	World Health Organization
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre

ÖZET

MANDA SÜT ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN TANIMLANMASI VE PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Gizem TAYLAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Nükhet N. ZORBA

14/07/2017, 105

Bu çalışma sırasında Türkiye'nin farklı illerinden temin edilen 13 adet manda beyaz peyniri, 7 adet mozeralla peyniri ve 3 adet manda yoğurdu örneklerinden laktik asit bakterileri sayımları yapılmış ve 1126 adet laktik asit bakterisi izolatı alınmıştır. İzolatlardan saf olarak elde edilen 502 adedine Gram boyama, katalaz testi ve oksidasyon-fermantasyon testi uygulanmıştır. Laktik asit bakterisi olduğu belirlenen 248 izolatın fenotipik olarak tür bazında tanımlanması gerçekleştirilmiştir. Tanımlanan bakterilerden çubuk şekilli laktik asit bakterilerinden baskın olan türler *L. acidophilus* (%15,12), *L. casei* (%10,08), *L. delbrueckii* (%9,24); kok veya kokoid şeklindeki izolatlardan ise baskın olan türler *Enterococcus faecium* (%15,53), *Leuconostoc lactis* (%15,53), *Lactococcus lactis* (%8,73) olarak bulunmuştur.

Tanımlaması tamamlanan *Lactobacillus* türlerinden muhtemel probiyotik olabilecek izolatlardan 53 tanesi seçilmiş izolatların öncelikle düşük pH, safra suyu ve fenol varlığı gibi farklı koşullarda canlılıklarının korunumu incelenmiştir. Düşük pH, safra suyu ve fenol varlığında canlılığını koruyabilen ya da gelişim göstermeye devam edebilen 26 izolata antibiyotik hassasiyeti, safra tuzu hidrolaz aktivitesi ve kolesterol asimilasyonu testleri uygulanmıştır.

Probiyotik özellikleri araştırılan 26 izolatın tamamı probiyotik özellik göstermiştir. Bu izolatlar *L. delbrueckii subs. bulgaricus*(3 adet); *L. equi* (2 adet), *L. sanfrancisco* (2 adet), *L. acidophilus* (2 adet), *L. jensenii* (2 adet), *L. intestinalis*(2 adet), *L. casei spp. rhamnosus* (2 adet), *L. coryniformis* (1 adet), *L. fermentum* (1 adet), *L. salivarius* (1 adet), *L. kalixensis* (1 adet), *L. johnsoni* (1 adet), *L. rhamnosus* (1 adet), *L. amylophilus* (1 adet), *L.*

delburueckii subs. lactis (1 adet), *L. plantarum* (1 adet), ve *L. casei spp. tolerans/ L. yamanashlensis* (1 adet), türlerinden oluşmaktadır. Çalışmada iki adet suş (*L. casei spp. rhamnosus* ve *L. rhamnosus*) kullanılan hiç bir antibiyotiğe dirençli bulunmadığından probiyotik suş olarak daha ileride yapılacak çalışmalarda kullanılabilmesine karar verilmiştir.

Sonuç olarak manda süt ürünlerinin probiyotik mikroorganizmalar için iyi bir kaynak olabileceği bulunmuştur.

Anahtar sözcükler: Manda Peyniri, Manda Mozzarella, Manda Yoğurdu, Laktik Asit Bakterisi, Probiyotik.



ABSTRACT

IDENTIFICATION AND PROBIOTIC CHARACTERIZATION OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM WATER BUFFALO'S DAIRY PRODUCTS

Gizem TAYLAN

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master of Science Thesis in Food Engineering

Advisor: Assist. Prof. Dr. Nükhet N. ZORBA

14/07/2017, 105

In this study, 1126 lactic acid bacteria isolates were obtained from 13 different buffalo white cheeses, 7 mozeralla cheeses, and 3 buffalo yogurt samples obtained from different cities of Turkey. Gram staining, catalase test and oxidation-fermentation tests were applied to 502 pure isolates. Species-based identification of 248 isolates were made by phenotypically. The predominant *Lactobacillus* species were *Lactobacillus acidophilus* (15,12%), *L. casei* (10,08%), *L. delbrueckii* (%9,24); while the dominant cocci shaped species were found as *Enterococcus faecium* (15,53%), *Leuconostoc lactis* (15,53%) and *Lactococcus lactis* (8,73%).

Of the probable probiotic isolates of the *Lactobacillus* species that have been identified, 53 selected isolates have examined for viability in different conditions, primarily at low pH, in the presence of bile and phenol which are found in the gastrointestinal environment. antibiotic susceptibility, bile salt hydrolase activity and cholesterol assimilation tests were applied to 26 isolates which could maintain or improve the viability of low pH, bile and phenol.

Of the all 26 isolates were proven that having probiotic properties. These isolates consist of *L. delburueckii subs. bulgaricus* (3 species); *L. equi* (2 species), *L. sanfrancisco* (2 species), *L. acidophilus* (2 species), *L. jensenii* (2 species), *L. intestinalis* (2 species), *L. casei spp. rhamnosus* (2 species), *L. coryniformis* (1 species), *L. fermentum* (1 species), *L. salivarius* (1 species), *L. kalixensis* (1 species), *L. johnsoni* (1 species), *L. rhamsonus* (1 species), *L. amylophilus* (1 species), *L. delburueckii subs. lactis* (1 species), *L. plantarum* (1 species), and *L. casei spp. tolerans/ L. yamanashlensis* (1 species). Two strains (*L. casei spp.*

rhamnosus and *L. rhamnosus*) were not resistant to any antibiotics used in the study, it was decided that they could be used as probiotic strains in further studies.

As a result, buffalo dairy products have been found to be a good source of probiotic microorganisms

Keywords: Buffalo Cheese, Water Buffalo Mozzarella, Buffalo Yogurt, Lactic Acid Bacteria, Probiotic.



İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ SINAVI SONUÇ FORMU	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2	
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
2.1. Manda Sütü ve Ürünleri	3
2.1.1. Manda Sütü.....	3
2.1.2. Manda Peyniri	4
2.1.3. Manda Yoğurdu.....	5
2.2. Laktik Asit Bakterileri.....	6
2.3. Bağırsak Mikroflorası ve Probiyotikler	8
2.4. Probiyotik Özellikleri Belirlenen Bakteriler	12
2.5. Probiyotik Mikroorganizmaların Özellikleri.....	13
2.5.1. Asitlik ve Safra Tuzlarına Direnç.....	13
2.5.2. Bağırsak Hücrelerine Tutunma ve Kolonizasyon.....	13
2.5.3. Antimikrobiyal Aktivite	14
2.5.4. Safra Tuzu Toleransı	15
2.6. Probiyotiklerin Etki Mekanizmaları.....	16
2.7. Probiyotiklerin Sağlık Üzerine Etkileri.....	16
2.7.1. Laktoz İntoleransında Kullanımları.....	17
2.7.2. Diyare'de Kullanımları.....	18
2.7.3. Sindirim Zorluklarının Giderilmesinde Kullanımları.....	19
2.7.4. Ülseratif Kolitler'de Kullanımları	19
2.7.5. Chorn Hastalığı.....	19
2.7.6. <i>Helicobacter pylori</i> Enfeksiyonunda Kullanımı	20

2.7.7. Rahatsız bağırsak Sendromunda Kullanımı	20
2.7.8. Kanser Tedavisinde Kullanımı	20
2.7.9. Kolesterol Düşürme Kalp ve Damar Hastalıklarının Engellenmesinde Kullanımı	21
2.7.10. Alerjilerin Önlenmesinde Kullanımı	22
2.7.11. Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkileri	23
BÖLÜM 3	
MATERYAL VE METOT	24
3.1. Materyal	24
3.2.1. Örneklerdeki Toplam Laktik Asit Bakterilerinin Sayımı ve İzolasyon.....	24
3.2.2. Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması	24
3.2.2.1. Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması Amaçlı Yapılan Mikrobiyolojik Analizler	24
3.2.2.1.1. Gram Boyama.....	24
3.2.2.1.2. Katalaz Testi	25
3.2.2.1.3. Oksidasyon-Fermentasyon Testi	25
3.2.2.2. Laktik Asit Bakterilerine Uygulanacak Olan Fizyolojik ve Biyokimyasal Testler	26
3.2.2.2.1. Farklı Sıcaklıklarda Gelişme Testi	26
3.2.2.2.2. Farklı Tuz Konsantrasyonunda Gelişme Testi	26
3.2.2.2.3. Glikozdan Gaz Oluşturma	27
3.2.2.2.4. pH 9,6'da Gelişme	27
3.2.2.2.5. Argininden Amonyak Oluşturma	27
3.2.2.2.6. Esculin Parçalanması	28
3.2.2.2.7. Karbonhidrat Fermantasyon Testi	28
3.2.3. Laktik Asit Bakterisi İzolatlarının Stok Olarak Saklanması	29
3.2.4. Tanımlaması Gerçekleştirilen Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Özelliklerinin Araştırılması	29
3.2.4.1. Düşük Ph Değerine Karşı Gelişimin Belirlenmesi	29
3.2.4.2. Safra Suyuna Karşı Toleransın Belirlenmesi	30
3.2.4.3. Fenol Varlığında Canlılık Testi	30
3.2.4.4. Safra Tuzu Hidrolaz (BSH) Aktivitesi	30
3.2.4.5. Antibiyotik Hassasiyeti	31
3.2.4.6. Kolesterol Asimilasyon Testi	32
BÖLÜM 4	

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Örneklerdeki Toplam Laktik Asit Bakterilerinin Sayımı.....	34
4.2. Manda Sütü Ürünleri Örneklerinden Elde Edilen Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu	35
4.3. Manda Sütü Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Fenotipik Olarak Tanımlanması.....	37
4.4. Tanımlanması Gerçekleştirilen Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Özelliklerinin Araştırılması.....	60
4.4.1. Düşük pH Değerine Karşı Gelişimin Belirlenmesi	61
4.4.2. Safra Suyuna Karşı Toleransın Belirlenmesi	67
4.4.3. Fenol Varlığında Canlılık Testi	75
4.4.4. Safra Tuzu Hidrolaz (BSH) Aktivitesi	83
4.4.5. Antibiyotik Hassasiyeti	84
4.4.6. Kolesterol Asimilasyon Testi	86
BÖLÜM 5	
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	89
KAYNAKLAR	91
ÖZGEÇMİŞ	I

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 4.1. Manda sütü ürünlerden izole edilen laktik asit bakterilerinin izolasyonu	36
Şekil 4.2. <i>L. acidophilus</i> izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları	62
Şekil 4.3. <i>L. sanfrancisco</i> izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları	62
Şekil 4.4. <i>L. casei spp. rhamnosus</i> izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları	62
Şekil 4.5. <i>L. casei spp. tolerans / L. yamanashlensis</i> izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları	63
Şekil 4.6. <i>L. coryniformis</i> izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları	63
Şekil 4.7. <i>L. plantarum</i> izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları	63
Şekil 4.8. <i>L. intestinalis</i> izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları	64
Şekil 4.9. <i>L. delbrueckii subs. lactis</i> ve <i>L. delbrueckii subs. bulgaricus</i> izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları	64
Şekil 4.10. <i>L. jensenii</i> ve <i>L. johnsoni</i> izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları	64
Şekil 4.11. <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. reutrei</i> , <i>L. amylophilus</i> , <i>L. kalixensis</i> , <i>L. oris</i> ve <i>L. kefirgranum</i> izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları	65
Şekil 4.12. <i>L. oris</i> ve <i>L. kefirgranum</i> izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları	65
Şekil 4.13. <i>L. fermentum</i> izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları	66
Şekil 4.14. <i>L. salivarius</i> ve <i>L. equi</i> izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları	66
Şekil 4.15. <i>L. acidophilus</i> izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları	68
Şekil 4.16. <i>L. sanfrancisco</i> izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları	68
Şekil 4.17. <i>L. casei spp. rhamnosus</i> izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları	69
Şekil 4.18. <i>L. casei spp. tolerans / L. yamanashlensis</i> izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları	69
Şekil 4.19. <i>L. coryniformis</i> izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları	70
Şekil 4.20. <i>L. plantarum</i> izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları	70
Şekil 4.21. <i>L. intestinalis</i> izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları	71
Şekil 4.22. <i>L. delbrueckii subs. lactis</i> ve <i>L. delbrueckii subs. bulgaricus</i> izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları	71
Şekil 4.23. <i>L. jensenii</i> ve <i>L. johnsoni</i> izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları	72
Şekil 4.24. <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. reutrei</i> , <i>L. amylophilus</i> izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları	72
Şekil 4.25. <i>L. kalixensis</i> , <i>L. oris</i> ve <i>L. kefirgranum</i> izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları	73
Şekil 4.26. <i>L. fermentum</i> izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları	73
Şekil 4.27. <i>L. salivarius</i> ve <i>L. equi</i> izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları	74

Şekil 4.28. <i>L. acidophilus</i> izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları	76
Şekil 4.29. <i>L. sanfrancisco</i> izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları	76
Şekil 4.30. <i>L. casei</i> spp. <i>rhamnosus</i> izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları	77
Şekil 4.31. <i>L. casei</i> spp. <i>tolerans</i> / <i>L. yamanashlensis</i> izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları.....	77
Şekil 4.32. <i>L. coryniformis</i> izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları	78
Şekil 4.33. <i>L. plantarum</i> izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları ..	78
Şekil 4.34. <i>L. intestinalis</i> izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları ..	79
Şekil 4.35. <i>L. delbrueckii</i> subs. <i>lactis</i> ve <i>L. delbrueckii</i> subs. <i>bulgaricus</i> izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları	79
Şekil 4.36. <i>L. jensenii</i> ve <i>L. johnsoni</i> izolatlarına ait süreye bağlı fenol optik yoğunlukları	80
Şekil 4.37. <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. reutrei</i> , <i>L. amylophilus</i> izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları.....	80
Şekil 4.38. <i>L. kalixensis</i> , <i>L. oris</i> ve <i>L. kefirgranum</i> izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları.....	81
Şekil 4.39. <i>L. fermentum</i> izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları ..	81
Şekil 4.40. <i>L. salivarius</i> ve <i>L. equi</i> izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları	82

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.1. Manda sütü ve Diğer sütlerin bileşimleri	3
Çizelge 2.2. Taksonomik Olarak Laktik Asit Bakterilerinin Sınıflandırılması	7
Çizelge 3.1. Bromthymol Blue Çözeltilisinin Hazırlanması.....	27
Çizelge 3.2. Fermantasyonunda kullanılan karbonhidratlar	29
Çizelge 3.3. Antibiyotik hassasiyetinin belirlenmesi için kullanılan antibiyotik diskleri ..	31
Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılan antibiyotik disklerde görülen zonların antibiyotik direnç karşılıkları	32
Çizelge 4.1. Örneklerdeki toplam laktik asit bakterilerinin sayıları	34
Çizelge 4.2. M-17 Agar'dan izole edilen zorunlu heterofermentatif <i>Lactobacillus</i> izolatlarına uygulanan testler	38
Çizelge 4.3. MRS Agar'dan izole edilen zorunlu heterofermentatif <i>Lactobacillus</i> izolatlarına uygulanan testler	39
Çizelge 4.4. M-17 Agar'dan izole edilen <i>Streptobacterium</i> grubu izolatların farklı sıcaklıklarda gelişim, arginin hidrolizi ve esculin parçalanması testi sonuçları	41
Çizelge 4.5. MRS Agar'dan izole edilen <i>Streptobacterium</i> grubu izolatların farklı sıcaklıklarda gelişim, arginin hidrolizi ve esculin parçalanması testi sonuçları	42
Çizelge 4.6. M-17 Agar'dan izole edilen <i>Streptobacterium</i> grubu homofermentatif bakterilere uygulanan karbonhidrat testleri	43
Çizelge 4.7. MRS Agar'dan izole edilen <i>Streptobacterium</i> grubu homofermentatif bakterilere uygulanan karbonhidrat testleri	44
Çizelge 4.8. M-17 Agar'dan izole edilen <i>Thermobacterium</i> grubu homofermentatif bakterilere uygulanan karbonhidrat testleri	46
Çizelge 4.9. MRS Agar'dan izole edilen <i>Thermobacterium</i> grubu homofermentatif bakterilere uygulanan karbonhidrat testleri	47
Çizelge 4.9. MRS Agar'dan izole edilen <i>Thermobacterium</i> grubu homofermentatif bakterilere uygulanan karbonhidrat testleri (devamı).....	48
Çizelge 4.10. M-17 Agar'dan izole edilen <i>Enterococcus</i> izolatlarına uygulanan karbonhidrat fermentasyon testi sonuçları	50
Çizelge 4.11. MRS Agar'dan izole edilen <i>Enterococcus</i> izolatlarına uygulanan karbonhidrat fermentasyon testi sonuçları	51
Çizelge 4.12. M-17 Agar'dan izole edilen <i>Lactococcus</i> izolatlarına uygulanan karbonhidrat fermentasyon testi sonuçları	53
Çizelge 4.13. MRS Agar'dan izole edilen <i>Lactococcus</i> izolatlarına uygulanan karbonhidrat fermentasyon testi sonuçları	54
Çizelge 4.14. M-17 Agar'dan izole edilen <i>Streptococcus</i> izolatlarına uygulanan 45°C'de gelişim ve karbonhidrat fermentasyon testi sonuçları	56
Çizelge 4.15. MRS Agar'dan izole edilen <i>Streptococcus</i> izolatlarına uygulanan 45°C'de gelişim ve karbonhidrat fermentasyon testi sonuçları	56
Çizelge 4.16. M-17 Agar'dan izole edilen <i>Leuconostoc</i> izolatlarına uygulanan karbonhidrat fermentasyon testi sonuçları	58
Çizelge 4.17. MRS Agar'dan izole edilen <i>Leuconostoc</i> izolatlarına uygulanan karbonhidrat fermentasyon testi sonuçları	59
Çizelge 4.18. Safra tuzu hidrolaz testi ölçülen zon çapları.....	83
Çizelge 4.19. İzolatlara ait antibiyotik hassasiyetleri sonuçları	85
Çizelge 4.19. İzolatlara ait kolesterol giderimleri sonuçları	87

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Probiyotikler, tüketimleri ile belirli sayıya ulaştıklarında konakçı sağlığı ve bağırsak florası üzerine destekleyici-geliştirici etkilere sahip olan canlılardır (Lee ve ark., 2016). Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar genel olarak asitlik ve safra tuzlarına direnç, bağırsak yüzeyine tutunma ve kolonizasyon, antimikrobiyal aktivite ve safra tuzu toleransı gibi özelliklere sahiptirler (Sağdıç ve ark., 2004; Mainville ve ark., 2005; Chowdhury ve ark., 2013; Hernandez ve ark., 2016)

Günümüzde fonksiyonel gıdalara ve sağlıklı beslenmeye olan ilgi arttıkça probiyotik mikroorganizma içeren gıdalara olan ilgi de artış göstermektedir. Bu amaçla tüketicilerin tercihlerinin doğal olan ürünlerden yana kullanması da göz önüne alındığında, probiyotik özellik gösterebilen süt ürünlerinin tüketimi de artış göstermektedir. Ticari olarak düşünüldüğünde ise dünya genelinde probiyotik olarak kullanılan süt ürünleri; farklı tipteki yoğurtlar, fermente süt ürünleri, çeşitli laktik asit bakterileri içecekleri, meyve suları ve probiyotik süt karışımlarıdır. Laktik asit bakterilerinin (LAB) doğal vektörleri olarak sıkça tüketilen ürünler ise yoğurt ve fermente süt ürünleridir. Fermente süt ürünleri pek çok ülkede tüketicilerin günlük beslenmelerinde önemli yer tutan bir ürün grubunu oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalar göstermektedir ki bu ürünlerin doğal florasında bulunan laktik asit bakterileri probiyotik özellik gösteren türleri de içlerinde barındırmaktadır (Melgar-Lalanne ve ark., 2014; Abushelaibi ve ark., 2017; Cuffia ve ark., 2017).

Manda sütü ise geçmişe kıyasla zengin besin içeriği sebebiyle pek çok ülkede araştırma konusu olarak gün geçtikçe önem kazanmaktadır. İnek sütü ile karşılaştırıldığında aroma ve tat zenginliğinin yanı sıra yağ, ham protein, laktoz, toplam kurumadde, vitaminler ve mineraller bakımından da zenginlik göstermektedir. Manda sütü genel olarak mozzarella peyniri, manda yoğurdu, manda tereyağı, manda kaymağı gibi ürünlere işlenmektedir (Pamuk ve Gürler, 2010).

Ayrıca zengin besin içeriği sayesinde probiyotik özellik gösteren laktik asit bakterilerinin gelişimi için uygun bir hammaddedir. İşlenmesi ile oluşturulan ürünlerin ise manda sütünün kendisinin barındırdığı mikroflorayı ve besin içeriğini koruduğu ve probiotik özellik gösteren türleri içinde barındırdığı tespit edilmiştir (Forhad ve ark., 2015; Casarotti ve ark., 2017).

Bu çalışmada ise, besleyici değeri ve aromatik özellikleri açısından zengin bir ürün olan manda sütünden üretilen manda peyniri, mozzarella peyniri ve manda yoğurdunun laktik asit

bakterisi mikrobiyotası belirlenerek laktik asit bakterileri fenotik olarak tanımlanmış ve probiyotik özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.



BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Manda Sütü ve Ürünleri

2.1.1. Manda Sütü

Manda sütü yılda 100 milyon tondan fazla üretimi ile dünyadaki yıllık süt üretiminin %13,2'sini oluşturarak, inek sütünden sonra üretimde ikinci sıradadır. Manda sütü üretiminin önemli bir bölümü içerisinde Hindistan ve Pakistan'ın da bulunduğu Asya ülkelerinde gerçekleştirilmektedir. Özellikle İtalya'da, manda mevcudu, 2004'te 185.000 iken 2014 yılında 369.352'ye yükselmiştir. İtalya'da hemen hemen tüm sütün, piyasa değeri yüksek tipik bir taze peynir olan mozzarella peynirine işlendiği ifade edilmektedir. Günümüzde ise tüketiciler tarafından pizza tüketiminin ve İtalyan mutfağına olan ilginin artması ile mozzarella peyniri üretimi de özellikle son 15 yıl içerisinde artış göstermektedir (Correddu ve ark., 2017). Ülkemizde ise üretilen 10760915 ton sütün yaklaşık olarak sadece %1'ini manda sütü oluşturmaktadır (Çelik ve ark., 2001).

Manda sütü kurumadde, yağ, protein (kazein) ve mineral madde oranları diğer çiftlik hayvanlarına göre daha yüksektir (Çizelge 2.1). Tüketiciler tarafından da besleyici özelliklerinin yanı sıra aromatik özellikleri sebebi ile de tercih edilmektedir. Manda sütünden yoğurt, kaymak, kaymak lokumu, tereyağı, dondurma ve peynir gibi ticari değeri yüksek ürünler üretilmektedir. Manda sütünün diğer sütlere göre değerinin daha yüksek olması yüksek yağ ve kalori içeriğinin yanı sıra düşük kolesterol içeriği, yüksek laktoz içeriği ve A vitamini ve fosfor gibi minerallerini içeriğinde barındırmasıdır (Çizelge 2.1). Manda sütü ve ürünleri bu besleyici özellikleri sebebiyle mikroorganizmaların gelişimi için de gerekli besin elementlerini içeriğinde bulundurmaktadır. Özellikle fermente süt ürünlerinde bu mikroorganizmaların önemli bir bölümünü laktik asit bakterileri oluşturmaktadır (Barua ve ark., 2014; Şahin, 2015).

Çizelge 2.1. Manda sütü ve Diğer sütlere bileşimleri (Pamuk ve Gürler; 2010)

Maddeler	Manda Sütü (%)	Sığır Sütü (%)	Koyun Sütü (%)	Keçi Sütü (%)
Su	82,2	87,5	82,7	86,6
Yağ	7,9	3,76	6,26	4,17
Protein	4,2	3,13	5,27	3,61
Laktoz	4,5	4,84	4,91	4,83
Kurumadde	17,8	12,5	17,3	13,4
Mineral	0,74	0,8	0,86	0,79

Han ve ark. (2007) tarafından Çin'in dört farklı bölgesinden toplanan 120 manda sütün örneklerinin mikroflorasının ve kimyasal kompozisyonun belirlenmesi için yapılan çalışmada; laktik asit bakterisi sayısı 4,62 log kob/g, küf-maya sayısı 1,79 log kob/g, koliform bakteri sayısı 2,42 log kob/g, *E.coli* 2,42 log kob/g bulunmuş ve örneklerde *Listeria* ve *Salmonella* tespit edilememiştir.

Maniruzzaman ve ark. (2010) tarafından yapılan çalışmada manda ve inek sütlerinin bakteriyel florasının izolasyonu ve tanımlanmasının yapıldığı belirtilmektedir. Çalışmada kullanılan örneklerin 2009 yılının haziran ve aralık aylarında alınan 20 adet manda ve inek sütlerinden oluştuğu ve örneklerden elde edilen toplam 40 bakteri izolatının 10 (%25) adet *Lactobacillus spp.*, 10 (%25) adet *Bacillus spp.*, 13 (%32,5), adet *Staphylococcus spp.*, 5 (%12.5) adet *E. coli* olarak tanımlandığı 2 (%5)'inin ise tanımlanamadığı bildirilmiştir.

Gürler ve ark. (2013)'nin yaptıkları çalışmada Afyonkarahisar bölgesinden topladıkları 120 adet çiğ manda sütü örneğinin mikrobiyolojik kalitelerini incelemişlerdir. Örneklerde ortalama olarak toplam canlı sayısını 6,36 log kob/g, koliform grubu bakteri sayısını 2,95 log kob/g, laktik asit bakterisi sayısını 5,74 log kob/g, *E. coli* sayısını 1,10 log kob/g, *S. aureus* sayısını 2,46 log kob/g ve küf-maya sayısını 2,63 log kob/g olarak bulmuşlardır.

2.1.2. Manda Peyniri

Manda sütü ile en çok klasik beyaz peynir tipi manda peyniri ve mozzarella peyniri üretilmektedir (Gürler ve ark., 2013; Pisano ve ark., 2016).

Mozarella peyniri 'pasta filata' grubuna ait peynirler grubundadır. Günümüzde hala organoleptik özelliklerinin korunabilmesi için geleneksel yöntemlerle üretilmeye devam etmektedir (Coppola, 1988; Pisano ve ark., 2016). Bu peynirde geleneksel olarak bütün çiğ süt ve doğal peynir altı suyu kültürleri starter olarak kullanmakta ve üretim alanı, çevresel koşullar, geleneksel aletler ve üretim süreçleri, kendine özgü tat özelliklerinin oluşumunda etkili olmaktadır. Manda sütünden üretilen mozzarella peynirinin kurumadde içeriği %55-60, kurumaddede yağ oranı %45-55 olarak bildirilmiştir (Pamuk ve Gürler, 2010). Esas olarak eriyebilirlik, gerilebilirlik, serbest yağ oluşumu ve esmerleşme gibi benzersiz işlevsel özellikleri sebebiyle de yaygın olarak kullanılmaktadır. Tüketim miktarının büyük miktarı pizza peyniri olarak değerlendirilse de taze şekilde tek başına tüketimi de mümkündür.

Tüketim miktarı ise son 15 yılda önemli ölçüde artış göstermiştir. Zira dünyanın her yerinde yaygın olarak tüketilen 'pizza' ve diğer İtalyan spesiyallerinin içeriklerinden önemli bir tanesini oluşturmaktadır.

Morea ve ark. (1998)'nin yaptıkları çalışmada manda peynirinde üretimini takip eden 24 saat sonunda Laktik asit bakterisi sayımlarının yapıldığı ve $8,7 \times 10^2$ lob/g düzeyinde mezofilik laktik asit bakterisi tespit edildiği, ancak termofilik laktik asit bakterisinin tespit edilmediği ifade edilmektedir.

Peynirlerin, yoğurt ve mayalanmış sütlere göre daha yüksek pH ve tamponlama kapasitesi, katı ve tutarlı bir matris ve nispeten daha yüksek yağ içeriğine sahip olmaları nedeniyle, yaşayan probiyotik mikroorganizmalar için bir vektör olarak kullanılması üzerinde bir takım avantajları vardır.

Cuffia ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada 10^7 kob/g'den yüksek seviyelerde probiyotik bakteri taşıyan İtalyan tipi 'pasta filata' peyniri yapmak için; peynirin asitlendirilmesi (pH 5.25) ve zamana (2,5,10 ve 20 dakika) ve germe sıcaklığına (58, 62,5 ve 68 ° C) ait teknolojik parametrelerin ayarlanmasının hedeflendiği ifade edilmektedir. Probiyotik peynir üretimi için *Lactobacillus rhamnosus* GG'un kullanıldığı ve kontrol grubu ile kıyaslandığında probiyotik bakteri içeren peynirlerin kontrol grubuna göre duyuşal açıdan da daha başarılı bulunduğu ifade edilmektedir.

Coppola ve ark. (1988) yaptıkları çalışmada İtalya'da bulunan 3 farklı mozzarella peyniri işletmesinden temin ettikleri peynir altı suyu içerisindeki kültürlerin çeşitliliklerini araştırmışlardır. Çalışmada baskın olarak laktik asit bakterileri, mayalar ve koliform grubu bakterileri tespit etmişlerdir. *Lactobacillus lactis* en yaygın *Lactobacillus Streptococcus lactis* ve *Streptococcus thermophilus* ise en yaygın *Streptococcus*'un türleri olarak belirlemişlerdir. Ayrıca örneklerden *Candida*, *Kluyveromyces*, *Debaryomyces* ve *Brettanomyces* cinslerine ait mayaların farklı türleri de izole etmişlerdir. Bunun yanı sıra tüm örneklerde Enteropatojenik *Escherichia coli* tespit edilmiştir.

2.1.3. Manda Yoğurdu

Yoğurt Türk Gıda Kodeksinin Fermente Süt Ürünleri Tebliğine göre "Fermentasyonda spesifik olarak *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii s ubsp. bulgaricus*' un simbiyotik kültürlerinin kullanıldığı fermente süt ürünü" olarak tanımlanmıştır (TGK, 2009). Uzun yıllardır sütün uzun süreli muhafazası için kullanılan bir yöntemdir. İçeriğindeki besleyici maddelerin yanı sıra kolay sindirilebilir bir üründür.

Manda sütü genel olarak mozzarella peynirine işlense de günümüzde manda yoğurdu olarak da değerlendirilmeye başlanmaktadır (Akgün ve ark.,2016). Manda yoğurdu ise üretiminde kullanılan manda sütünün sahip olduğu yüksek yağ, mineral madde ve protein sebebi ile diğer sütlerden yapılan yoğurtlara kıyasla daha besleyicidir. Besleyici değerinin

yanısına sahip olduğu aromatik özellikler ve kıvamı sebebiyle tüketiciler tarafından da tercih edilmektedir (Ertaş ve ark., 2013; Akgün ve ark., 2016). Manda yoğurdu ile ilgili literatürde henüz sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Duru ve Özgüneş (1981) inek sütünden yapılmış yoğurtların mikrobiyolojik kalitesini incelemişlerdir. Ankara piyasından temin ettikleri 20 yoğurt örneğinin %35'inde koliform grubu bakteri %35'inde 10^5 'den fazla küf ve maya belirlemişlerdir.

Ertaş ve ark. (2013) tarafından Kayseri'de satışa sunulan manda yoğurtlarının mikroflorası araştırılmıştır. 100 adet manda yoğurdunu materyal olarak kullanmışlardır. 18 yoğurt örneğinde 14,8 EMS/g koliform grubu bakteri, 9 örnekte 1,85 EMS/g *E. coli*, 7 örnekte 4,9 log₁₀ kob/g *S. aureus* tespit ettiklerini ifade etmişlerdir. Ayrıca örneklerin tamamında ortalama 5,21 log₁₀ kob/g maya, 5,16 log₁₀ kob/g küf ve 6,58 log₁₀ kob/g oranında laktik asit bakterisi tespit etmişlerdir.

2.2. Laktik Asit Bakterileri

Laktik asit bakterileri mikrobiyoloji biliminin ilk yıllarından itibaren önemli bir araştırma konusu olmuştur. İlk olarak sütte pıhtılaşmaya ve fermentasyona sebep olan bakteriler laktik asit bakterileri olarak adlandırılmışlardır.

Laktik asit bakterileri (LAB) grubu 14 cins Gram-pozitif bakteriden oluşur; *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Sporolactobacillus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Paralactobacillus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weissella*. Laktik asit bakterileri Gram (+), hiç bir türü spor oluşturmeyen, katalaz enzimi içermeyen, zorunlu fermentatif, immobil (hareketsiz), sitokromsuz, asidi tolere edebilen, karbonhidrat fermentasyonu sırasında son ürün olarak laktik asit oluşturan ve oksijene toleransa sahip anaerobik bakterilerdir. Genel olarak glikoz metabolizmasının son üründen yola çıkılarak iki ana gruba ayrılmaktadırlar. Glikoz fermentasyonunun temel son ürün olarak laktik asit üreten homofermantatifler olarak adlandırılırken, heksozlardan eşit molar miktarlarda laktat, karbon dioksit ve etanol üreten maddeler heterofermantatif olarak adlandırılmaktadır (Yıldız Dikbaş, 2013; Kılıç, 2014; Patrick, 2012). Laktik asit bakterilerinin taksonomik olarak sınıflandırılması Çizelge 2.2'de yer almaktadır.

Çizelge 2.2. Taksonomik Olarak Laktik Asit Bakterilerinin Sınıflandırılması (Stiles and Holzapfel, 1997; Yıldız, 2011;)

Cins	Şekil	Katalaz	Fermentasyon	Sınıf
<i>Lactobacillus</i>	Çubuk	Negatif	Homofermentatif	Thermobacterium
<i>Lactobacillus</i> <i>Weissella</i>	Çubuk	Negatif	Heterofermentatif	Betabacterium
<i>Lactobacillus</i> <i>Carnobacterium</i>	Çubuk	Negatif	Homofermentatif	Streptobacterium
<i>Streptococcus</i> <i>Enterococcus</i> <i>Lactococcus</i> <i>Vagococcus</i>	Kok	Negatif	Homofermantatif	Streptococcus
<i>Leuconostoc</i> <i>Oenococcus</i> <i>Weissella</i>	Kok	Negatif	Heterofermantatif	Betacoccus
<i>Pediococcus</i> <i>Tetragenococcus</i>	Kok	Negatif	Homofermantatif	Tetracoccus

Laktik asit bakterileri (LAB) genel olarak mezofilik gelişme gösteren bakterilerdir. Ancak 5°C'den 45°C'ye kadar oldukça geniş bir sıcaklık aralığında da gelişebilmektedirler. Hem asidik hemde bazik ortamlara direnç gösterebilen türleri içinde barındırmaktadırlar.

Toprak, su, hayvan ve insan gastrointestinal sisteminin yanı sıra gıda ve fermentasyon ürünleri gibi farklı habitatlarda bulunmaktadır (Hernandez ve ark., 2016). Özellikle insanların uzun yıllardır tükettikleri süt ürünleri gibi fermente ürünler de yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Yoğurt gibi fermente ürünlerin özellikle tekstür ve aroma özelliklerinin oluşmasında büyük rol oynamaktadırlar. Peynir ve yoğurt gibi fermente süt ürünleri üretiminde su tutma kapasitesinin artırılması için laktik asit bakterilerinin hücre dışına salgıladıkları pek çok polisakkaritten faydalanılmaktadır (Yang ve ark., 2014).

LAB, endüstriyel ve geleneksel fermente gıdaların raf ömrünü, lezzeti ve aroma oluşumunu, dokusunu, besleyici değerini, sağlık özelliklerini ve ticari değerini etkilemektedir. Endüstriyel proseslerde en çok kullanılan LAB cinsleri, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Oenococcus* ve *Streptococcus*'dur. (Patrick, 2012).

Geçmişte yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu bu mikroorganizmaların tanımlanmaları üzerine gerçekleştirilmiştir. Bugün ise varlığı bilinen bu mikroorganizma türünün fermente gıdalardaki rolü, probiyotik özelliklerinin varlığı, insan sağlığı üzerine oluşturdukları etkiler ve sağladıkları antimikrobiyal bileşenler üzerine çalışmalar yoğunlaşmaktadır (Khedid ve ark. 2009).

Sharma ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada çiğ haldeki inek, keçi, koyun, deve ve manda sütleri Hindistan'ın Madhya Pradesh bölgesinden temin edildiği ve analiz sonucunda 13 türün potansiyel laktik asit üreticisi olduğu; Gram boyama, katalaz aktivitesi, şeker fermentasyon, farklı sıcaklıklarda ve farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim testleri sonunda keçi sütünde *Streptococcus thermophilus*, manda sütünde *Lactococcus lactis*, deve sütünde *Streptococcus gallolyticus*, koyun sütünde *Lactobacillus delbrueckii*, inek sütünde *Streptococcus thermophilus* türlerinin baskın tür olduğu tespit edilmiştir.

Shafakatullah ve ark. (2014) Hindistan'ın Karnataka bölgesinden temin ettikleri manda sütlerinden izole edilen LAB suşlarını incelemiştir. Yaptıkları çalışmada tanımlama için Bergey's Manual of Systematic Bacteriology tanımlama sisteminin esas alındığı ve *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* ve *Bifidobacterium longum* varlığını bildirmişlerdir.

Morea ve ark. (1998) tarafından yapılan çalışmada İtalya'nın Puglia bölgesinden temin edilen geleneksel mozzarella peynirlerinin moleküler karakterizasyonlarının yapıldığını ve baskın olarak *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. helveticus* ve *L. casei subsp. casei*. ve ek olarak, laktobasiller için seçici ortamda iki *Weissella hellenica* suşunun izole edildiği ifade edilmektedir.

Silva ve ark. (2015) tarafından Brezilya'da manda sütünden yapılan mozzarella peynirinden izole edilen laktik asit bakterilerinin çeşitliliği üzerine yapılan çalışmada, özellikle depolama süresince LAB'nin çeşitliliğinin incelenmesi amaçlanmıştır. Örnekler Brezilya'nın güneydoğu bölgesinde bulunan 3 bağımsız süt işletmesinden 4 °C'de depolamanın 28. gününde alınmıştır. Temel tanımlama için Gram boyama, katalaz testi, sitrat asimile etme kapasitesi ve glikozdan CO₂ üretimi testi ve tür bazında tanımlama için ise RAPD-PCR (rasgele çoğaltılan polimorfik DNA polimeraz zincir reaksiyonu), 16S rRNA gen dizilemesi ve Vitek 2 sistemi ile değerlendirildiği ifade edilmektedir. Yapılan analizler sonucunda *S. thermophilus*, *E. faecium*, *E. durans*, *L. mesenteroides subsp. mesenteroides*, *L. fermentum*, *L. casei*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* ve *L. helveticus*. suşları baskın suşlar olarak tespit edilmiştir.

2.3. Bağırsak Mikroflorası ve Probiyotikler

İnsanda gastrointestinal sistem gıdaların emilimini ve onlardan enerji sağlanmasına yardım eden birbirine bağlı pek çok organı içinde barındıran bir sistemdir ve yetişkin bir bireyde 7 m'lik bir uzunluk ve yaklaşık olarak 300 m²'lik bir alanı oluşturur (Costa ve Miglioranza, 2012). Ağızdan bağırsağa bu sistem içerisinde pek çok farklı mikroorganizma

tipine rastlamak mümkündür. Bu sistemin bir parçası olan bağırsak sistemi ise karmaşık bir ekosistemden oluşmaktadır. Bunun bir örneği olarak tek bir dışkıda 400'ün üzerinde farklı bakteri türü tespit edilebilmektedir. Kalın bağırsakta bakteri popülasyonu çok yüksektir ve maksimum sayıları 10^{12} kob/g'a ulaşmaktadır. İnce bağırsakta bakteriyel içerik yaklaşık olarak 10^4 - 10^8 cfu/g sayısında ve kalın bağırsağa kıyasla daha düşüktür. Söz konusu bu mikrofloranın çoğunluğunu ise anaerob bakteriler oluşturmaktadır (Lourens-Hattingh ve Viljoen, 2001).

İntestinal mikrofloranın görevi temel olarak bağırsak sisteminin üst kısımlarında sindirilemeyen karbonhidratların fermentasyon yoluyla enerji kaynağına dönüşümlerinin sağlanmasıdır (Gürsoy ve Kınık, 2005).

İnsanlar doğumdan önce steril olarak kabul edilir ve bebek anne rahminden çıkana dek bağırsaklarının da steril olduğu kabul edilmektedir. İnsan bağırsak mikroflorasındaki farklılıklar ise bebeğin doğum anından başlamaktadır ve yaşadığı sürenin tamamı boyunca değişiklikler göstermektedir. Doğum anından itibaren oluşan bu farklılıklar gebelik yaşı, doğum şekli, annenin beslenme alışkanlıkları, bebeğin beslenme şekli gibi pek çok faktöre bağlı olarak değişim göstermektedir. Örneğin anne sütü ile beslenen bebeklerde mama ile beslenen bebeklere göre mikroflorada farklılıklar gözlenmektedir. Başlangıçta sadece anne sütü ile beslenen bebeklerde baskın olarak *Bifidobacterium* türleri gözlenirken, bebeklerin diğer gıdalar ile tanışması ile *E.coli*, *Enterococcus*, *Bacteroides*, *Clostridium* ve diğer bazı türlerin miktarları artar. Ancak hala *Bifidobacterium* türleri baskın haldedir. Doğumdan sonra bebekler anne sütü yerine mama ile beslendiklerinde ise *Bacteroides*, *Clostridium* ve *E.coli* baskın halde bulunurken *Bifidobacterium* türleri yok denecek kadar az sayıda varlık göstermektedir. Bebeklerin anne sütünü tamamen bırakıp diğer gıdalara geçtikleri dönemde ise *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ve *Bacteroides*'in aynı sıra *E.coli*, *Enterococcus* ve *Clostridium* türleri baskın hale gelerek bebeğin ikinci yaşının sonlarında yetişkin bir bireye benzer bir mide-bağırsak florası oluşmaktadır (Olivares ve ark. 2006; Ray ve Bhunia, 2016).

Yetişkin ve sağlıklı bireylerin bağırsak florasındaki probiyotik bakterilerin sayısı zaman içerisinde sabitlenmektedir. Ancak yaş, cinsiyet, beslenme şekli, stres, tıbbi tedavi, antimikrobiyal bileşenler gibi pek çok faktöre bağlı olarak azalma ve mikroflorada bozulmalar göstermektedir (Ceyhan ve Alıç, 2012; Hemaishwarya ve ark., 2013).

Bozulan bu bağırsak mikroflorasının onarılmasında ve diğer sağlık sorunlarının giderilmesinde ve önlenmesinde günümüzde sıklıkla fonksiyonel gıdalardan yararlanılmaktadır (Güven ve Gülmez, 2006). Fonksiyonel gıda terimi ilk olarak 1980'lerin sonunda Japonya'da ortaya çıkmıştır. Bu kavram, sağlık, beslenme arasındaki bağlantıyı

artırdığı için tüketiciler arasında da gün geçtikçe popüler hale gelmişlerdir (Stanton ve ark. 2001). Temel besin öğelerinin yanı sıra, metabolik ve fizyolojik sağlık yararlarını arttıran herhangi bir gıda bileşeni ya da gıda olarak tanımlanmaktadır. Bu gıdalar doğal olarak ya da işlevselleştirecek şekilde modifiye edilmiş biyoaktif bileşenler içeren gıdalardır. Fonksiyonel gıda gruplarının ise büyük bir bölümünü probiyotik gıdalar oluşturmaktadır. Dolayısıyla, bir konakta biyoaktif bileşiklerin üretilmesi veya bağırsak yolunun dengesi için faydalı etkileri teşvik edebilen probiyotik mikroorganizmalar genellikle fonksiyonel gıdalar ile ilişkilidir (Gürsoy ve Kınık. 2005; Costa ve Miglioranza, 2012; Patrik, 2012).

FAO / WHO tanımında probiyotikler, tüketimleri ile belirli sayıya ulaştıklarında konakçı sağlığı üzerinde ve bağırsak florası üzerinde destekleyici ve geliştirici etkilere sahip olan canlılar olarak tanımlanmıştır (Lee ve ark. 2016; Uymaz 2010). Probiyotik gıda ise, uygun bir matriste ve yeterli konsantrasyonda yaşayan probiyotik mikroorganizmaları içeren işlenmiş bir ürün olarak tanımlanabilmektedir (Cuffia ve ark. 2017).

Erken çağlarda Hipokrat gibi bazı bilim adamlarının fermente sütü yalnızca bir gıda maddesi olarak değil ayrıca bir ilaç olarak mide ve bağırsak rahatsızlıklarının tedavisinde kullandıkları belirtilmektedir (Lourens-Hattingh ve Viljoen 2001). Probiyotiklerden bilimsel anlamda ilk olarak 1900'lü yılların başında ünlü Rus bilim adamı E. Metchnikoff (1845-1919) tarafından süt ürünleri tüketimi ile bağırsak mikroflorasında ki olumsuzlukların engellenerek tüketicilerin yaşam sürelerinin artırılacağı belirtilerek bahsedilmektedir (Masood ve ark. 2011). Metchnikoff'un prensibinin temelinde; bağırsak içerisinde toksin üreten bakterilerin bağırsak yüzeyinden laktik asit bakterileri tarafından uzaklaştırılmasına dayanmaktadır (Lourens-Hattingh ve Viljoen, 2001).

Günümüzde probiyotikler özellikle gıda endüstrisinde fonksiyonel gıdaların oluşturulmasında, tıp alanında gastrointestinal sistem rahatsızlıklarının giderilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (Kıran ve Osmanağaoğlu, 2012). Özellikle tüketicilerin giderek artan kalp ve kolesterol gibi hastalıklara karşı alternatif tedavi ve önlemlere artan ilgisi ürün çeşitliliğini de giderek arttırmaktadır. Örneğin Amerika'da tüketicilerin % 70'i, tükettikleri probiyotik gıdaların hastalık riskini azaltarak uzun vadeli sağlık sorunlarını önleme ve hastalığın iyileştirilmesinde yardımcı olabileceğine inanmaktadır (Stanton ve ark., 2001).

Laktik asit bakterilerinin probiyotik olarak kullanılabilirliği geçmişten günümüze probiyotik konusunun en önemli dalını oluşturmaktadır. Gastrik yolla taşınabilirlikleri, asitlik toleranslarının bulunması, sağlık açısından güvenli oluşları gibi etkileri sebebiyle probiyotik olarak kullanılmalarında ki önemli kriterlerdir. Günümüzde çalışmalar daha çok uygun

suşların seçimi, bu organizmalardan elde edilecek faydalar ve bu bakterilerin gastro-intestinal sistemde ve taşıyıcı yiyeceklerde hayatta kalmasının sağlanması üzerinedir. Geçmişte ise çalışma konuları daha çok bağırsak enfeksiyonlarının tedavisinde süt ürünlerinin kullanımı ile kısıtlı kalmıştır (Lourens-Hattingh ve Viljoen 2001; Kıran ve Osmanağaoğlu 2012).

Probiyotik mikroorganizmaların çoğu insan sindirim sisteminde doğal olarak da bulunan Laktobasiller, Enterekoklar ve Bifidobacterium gibi patojenite oluşturmeyen mikroorganizmalardır (Gürsoy ve Kınık 2005). Probiyotik olarak kullanılan laktik asit bakterilerinin fermente ürünlerde kullanılması ve sağlık ile olumlu ilişkilendirilmeleri çok uzun zaman öncelerine dayanmaktadır. Yapılan pek çok çalışma da laktik asit bakterilerinin alerji, kanser ve inflamatuvar bağırsak hastalıkları gibi bağışıklık-kaynaklı sağlık komplikasyonlarını iyileştirdiği bildirilmektedir (Güven ve Gülmez, 2006).

Probiyotik olarak LAB'ın saf veya karışık kültür üyeleri sıklıkla kullanılmaktadır. Bununla birlikte, probiyotiklerin etki biçimi hala tam olarak anlaşılabilmemiştir; Bu nedenle, laktik asit bakterilerinin probiyotik olarak kullanımları için doğru şekilde tanımlanarak karakterize edilmeleri gereklidir (Hernandez ve ark., 2016). Mikroorganizmaların probiyotik özelliklerinin belirlenmesinde ise günümüzde ayrıntılı pek çok test bulunmasına karşın bu testlerin ilk basamaklarını asit ve safra suyuna direnç antimikrobiyal etkinlik gibi in vitro testler oluşturmaktadır (Galleo ve ark., 2013). İn vitro testleri çoğu durumda in vivo testler takip etmektedir ve LAB'den kaynaklanan bakteriyemi vakaları bildirildiği için güvenlik çalışmalarının da yapılması zorunluluğu oluşmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda *Lactobacillus casei*'nin ateş, eklem iltihabı gibi etkilerinin gözlemlendiği bildirilmektedir (Dicks ve Botes, 2010).

Probiyotik olarak tespit edilen mikroorganizmaların tek başlarına ve/ veya kombine suşlar halinde kullanımının ileriki yaşlarda ortaya çıkabilecek hastalıkların önlenmesinde ve gastrointestinal sistem üzerinde değişiklik yaparak sağlık üzerine olumlu etkiler gösterdikleri belirtilmektedir (Du Toit ve ark., 2017). Özellikle sahip oldukları tedavi edici ve diyetetik özellikleri sebebiyle, pek çok yoğurt, ayran, ekşi krema ve bebek ürünleri gibi pek çok fermente üründe kullanımı giderek yaygın hale gelmektedir. Fermente bu ürünler probiyotik suşların taşınmasında iyi birer vektördürler ancak her geçen gün bu ürün yelpazesi tüketici beklentileri de düşünülerek genişletilmektedir (Güven ve Gülmez, 2006). 2011 yılında yapılan bir çalışma da probiyotik takviyelerinin satışlarında yaklaşık olarak % 48 oranında artış olduğu ifade edilmektedir (Kıran ve Osmanoğlu, 2012).

2.4. Probiyotik Özellikleri Belirlenen Bakteriler

Probiyotik olarak günümüzde başka bakteriler (*Bacillus* vb.) ve mayalar (*Saccharomyces boulardii*) kullanılmakla birlikte bifidobakteriler ve laktik asit bakterileri en yaygın kullanılan türlerdir. Özellikle laktik asit bakterileri içerisinde ki pek çok laktobasil ticari olarak da probiyotik olarak tercih edilmektedir (Yıldız Dikbaş, 2013). Bir bakterinin probiyotik olarak kullanılması için doğru şekilde tanımlanması ve karakterize edilmesi gerekmektedir.

Probiyotiklerin etkinlikleri öncelikle suşlara bağlıdır. Bu nedenle her aday probiyotik suş güvenlik (uygun habitatlardan izole etme, doğru tanımlama ve antimikrobiyal duyarlılık), fonksiyonel (bağırsak mukozası yapışması ve gastrointestinal çevreye karşı direnç) ve faydalı (laktik asit üretimi ve patojenlere karşı antagonizma) özelliklerini de içeren bir dizi gereksinimi karşılamalıdır (Hernandez ve ark. 2016).

Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmaların taşınması gereken belirli özellikler vardır. Bunlar;

- Taksonomik tanımlanması doğru olmalıdır.
- Patojen özellik göstermemelidirler ve patojenlere karşı antimikrobiyal maddeler üretebilmelidirler.
- Mide asidine ve safra tuzuna karşı direnç göstermelidir.
- Bağırsak hücrelerine tutunabilmeli ve sindirim sisteminde kolonize olabilmelidir.
- Konakçı sağlığın genel durumunu iyileştirmeli
- İlave edildiği ürünün üretim sürecinde ve depolama sürecince canlılığını koruyabilmelidir.
- Toksik veya patojen olmamalıdır.
- Genetik olarak kararlı olmalıdır (Parvez ve ark. 2006; Fontana ve ark., 2013).

Yeni bir türün veya suşun probiyotik olarak kullanılabilmesi için faydalı özellikleri ispatlansa dahi, beslenmeye kitlesel olarak girebilmesi için ilgili varsayılan riskler de öngörülmelidir. Probiyotik olarak sıklıkla kullanılan mikroorganizmalar Çizelge 2.3'de yer almaktadır.

Çizelge 2.3. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar (Tok, 2007; Demirok, 2014)

Laktik Asit Bakterileri				Diğerleri
<i>Lactobacillus</i> <i>spp.</i>	<i>Bifidobacterium</i> <i>spp.</i>	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i>	<i>Streptococcus</i> <i>spp.</i>	<i>Bacillus spp.</i>
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Ent.faecalis</i>	<i>S. cremoris</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Ent.faecium</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L.delbrueckii</i> <i>subsp.</i> <i>(bulgaricus)</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Ent. faecium</i>	<i>S.</i> <i>diacetylactis</i>	<i>Propionibacterium freudenreich</i>
<i>L. cellobiosus</i>	<i>B. infantis</i>		<i>S.</i> <i>intermedius</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>
<i>L. curvatus</i>	<i>B. thermophilum</i>		<i>S.</i> <i>thermophilus</i>	<i>Bacteriodes capillus</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>B. longum</i>			<i>Bacteriodes juis</i>
<i>L. lactis</i>	<i>B. breve</i>			<i>Bacteriodes ruminicola</i>
<i>L. plantarum</i>				<i>Bacteriodes amylophilus</i>
<i>L. reuteri</i>				
<i>L. brevis</i>				
<i>L. gasseri</i>				
<i>L. cellobiosus</i>				
<i>L. salivarius</i>				
<i>L. helveticus</i>				

2.5. Probiyotik Mikroorganizmaların Özellikleri

2.5.1. Asitlik ve Safra Tuzlarına Direnç

Probiyotik bakterilerin sindirim sistemi içinde midede canlılıklarını devam ettirebilmeleri gerekmektedir ve düşük asitliğe direnç probiyotik mikroorganizma seçiminde önemlidir. Bu sebeple probiyotik özelliği araştırılan mikroorganizmaların seçiminde pH'ın 1,5'a kadar düştüğü bilinen asidik mide ortamında canlı kalarak bağırsak sistemine ulaşabilmeleri gerekmektedir. (Sağdıç ve ark. 2004) Bunun sağlanabilmesi için asit ortama dayanıklılığı kanıtlanmış suşların kullanımı, mide asitliğinin alınan gıdalar ile azaltılması ya da koruyucu kapsüllenmiş halde bulunan bakterilerin kullanılması gerekmektedir (Ray ve Bhunia, 2016).

2.5.2. Bağırsak Hücrelerine Tutunma ve Kolonizasyon

İnsanlar dünyaya geldikleri ilk anda bağırsakları özgün bir floraya sahiptir ve içeriğinde herhangi bir yabancı mikroorganizma içermez. Alınan ilk besin maddesi ile birlikte hızla değişiklik göstererek yeniden şekillenmeye başlar. Bağırsak kolonizasyonundaki bu ilk aşama insanın bağışıklık sisteminin oluşmasında önemli bir etkiye sahiptir. Bireyin sağlıklı bir yaşam sürdürebilmesi için dengeli ve sağlıklı bir gastrointestinal sisteme sahip olması gerekmektedir (Canbulut ve Özcan, 2007; Walker, 2008; Berti ve ark., 2017).

Gastrointestinal sistemde oluşan bu kolonizasyonda farklı mikroorganizma grupları bu sistemin farklı noktalarında ağırlıklı olarak kolonize olmaktadır. Örneğin midede ağırlıklı yüksek aside direnç gösteren *Lactobacillus* ve *Enterococcus*'ların bazı türleri gibi anaerobik fakültatif mikroorganizmalar baskındırlar (Kılıç, 2014).

Probiyotik özellik gösteren mikroorganizmaların canlılarda beklenen etkileri gösterebilmesi için bağırsağa ulaştığında peristaltik hareketler ile atılmaması için bağırsak epiteline tutunabilme ve kolonize olabilme özelliklerini gösterebilmeleri gerekmektedir. Laktik asit bakterileri ekzopolisakkaritler üreterek epitel hücrelerine güçlü bir tutunma gerçekleştirir. Bağırsak mukozasına yapışan probiyotikler; hasarlı bağırsak mukozasının iyileştirilmesinde, patojenlerin kolonizasyonlarının engellenmesinde, immün sistemin güçlendirilmesi ve probiyotik etkinin daha uzun süreli korunması açısından büyük önem taşımaktadır (Mainville ve ark. 2005; Sağdıç ve ark. 2004; Uymaz, 2010).

2.5.3. Antimikrobiyal Aktivite

LAB'ler antimikrobiyal etkiyi pH derecesinin düşürülmesi ve antimikrobiyal maddelerinin üretilmesi ile sağlamaktadır. Bu antimikrobiyal etkinin sağlanmasında LAB'nin ürettikleri bakteriyosinler önemli rol oynamaktadırlar. Bakteriyosinler; ribozomal olarak mikroorganizmalar tarafından sentezlenen, dar spekturumlu bakterisidal aktivite gösteren, birincil ya da modifiye ekstraselüler aktif protein tabanlı antagonistik maddelerdir (Widyastuti ve ark., 2014; Dinçer ve ark., 2009). Probiyotik mikroorganizmaların yaygın olarak bilinen gıda kaynaklı patojenlere karşı önleyici olduğu gösterilmiştir (Hernandez ve ark., 2016; Shokryazdan ve ark., 2014). Bu özelliklerini genel olarak bakteriyosin ve diğer antimikrobiyal maddelerin üretimi ile patojenleri inhibe ederek sağlayabilmektedirler.

Günümüzde ise, kimyasal gıda koruyucularına alternatif olarak doğal bir koruyucu olarak bakteriyosinler sıklıkla tercih edilmektedir. Özellikle artan bazı patojen bakterilerde gelişen antibiyotiğe karşı direnç, patojenlerin inhibe edilmesinde alternatif yolları zorunlu kılmaktadır (Sağdıç ve ark., 2004).

Yıldırım ve Sarımehtemoğu (2006) beyaz peynir yapımında *L. plantarum* ve *L. acidophilus* suşlarının kullanılmasının *Listeria monocytogenes* üzerine etkisini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışma sırasında çiğ sütlere artan oranlarda *Listeria monocytogenes* ilave ederek hem starter hem de probiyotik mikroorganizma ile üretimleri gerçekleştirmişlerdir. Peynirlerin 90 günlük olgunlaşma sürelerinin sonunda starter kültür içeren peynirlerde *L. monocytogenes*'in olgunlaşmanın son aşamalarında inhibe olduğu, starter kültüre ilaveten probiyotik içeren peynirlerde ise daha erken inhibe olduğunu ifade etmektedirler. Araştırmacılar sonuç olarak probiyotiklerin *L. monocytogenes* açısından ekstra bir güvenlik sağlayabileceğini ifade etmişlerdir.

Osuntoki ve ark. (2008) tarafından yapılan fermente süt ürünlerinden izole edilen *Lactobacillus spp.* suşlarının, enterotoksigenik *E.coli* üzerine 4.2 mm, *Salmonella Typhimurium* üzerinde 4.3 mm ve *Listeria monocytogenes* üzerinde 5.0 mm zon oluşturarak, zayıf da olsa bazı klinik olarak önemli patojenlere karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği ifade edilmektedir.

Chowdhury ve ark. (2013) tarafından Bangladeş'de evde üretimi yapılan 8 farklı manda yoğurdundan izole edilen laktik asit bakterilerinin probiyotik ve antibakteriyel özellikleri araştırılmıştır. Çalışmada; kullanılan tüm patojenler üzerinde izolatların inhibisyon zonu oluşturduğu ve bu zonlardan en büyüğünün 53.20 mm ile *Bacillus cereus*' a karşı, en küçüğünün ise *Staphylococcus aureus*'a karşı 19 mm ile olduğu ifade edilmiştir.

Sudağdan ve Aydın (2013) yaptıkları çalışmada biyokoruyucu olarak kullanılan ve laktik asit bakterilerinden elde edilen lizozim ve nisin, farklı 14 gıdadan izole edilen ve gıdalarda gelişerek gıda zehirlenmelerine neden olabilen *Staphylococcus aureus*'un gelişiminin engellenmesi üzerine etkilerini araştırdıklarını ifade etmektedirler.

Barua ve ark. (2014) tarafından Bangladesh'in Chittagong bölgesinden toplanan on (10) adet manda çiğ süt örneğinden elde edilen laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal aktivite özelliklerini incelenmiştir. Çalışma sonunda *Lactobacillus brevis*'in *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı, *Lactobacillus fermentum* suşunun ise *Shigella dysenteriae* ve *Bacillus subtilis*'e karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir.

2.5.4. Safra Tuzu Toleransı

Safra, karaciğer tarafından salgılanan içerisinde kolesterol, safra tuzları, renk pigmenti ve yağ asitleri içeren bir sıvıdan oluşmaktadır. Safra tuzları yağları parçalayarak lipaz enziminin etkinlik alanını artırarak sindirilmelerine kolaylık sağlamaktadır (Göçer ve ark., 2016)

Safra, ince bağırsak içerisinde bakterinin hayatta kalmasında önemli bir rol oynar. Bir gıdanın absorbe edilebilmesi için ince bağırsakta 4 ila 11 saatlik bir süre gerekmektedir. Her bir suş farklı safra konsantrasyonlarına karşı dayanıklılık gösterebilmektedir. Sağlıklı bir bireyde bulunan maksimum konsantrasyon yaklaşık olarak % 0,3'dur. Bu nedenle, probiyotik bakterilerin insan tüketimi için seçilmesinden önce %0,3 safra konsantrasyonuna dayanıklı olması gerekir (Chowdhury ve ark. 2013).

Mainville ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada insan gastrointestinal sistemi içerisinde probiyotik mikroorganizmaların canlılıkları üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonunda izole edilen suşlar % 0,3 safra tuzuna karşı dayanımları açısından karşılaştırıldığında iki suşun (*L. kefirgranum* ve *Bifidobacterium infantis*) safra tuzuna karşı duyarlı olduğu, diğer beş suşun (*L. acidophilus*, *L. johnsonii*, *L. rhamnosus*, *L. kefir* ve *L. mesenteroides*) ise %0,3 safra tuzu varlığında canlılıklarını devam ettirebildikleri tespit edilmiştir.

2.6. Probiyotiklerin Etki Mekanizmaları

Probiyotiklerin etki mekanizmaları ile ilgili temel 4 açıklama mevcuttur. Bunlar;

- Antimikrobiyal madde üretimi ile sağlanan antagonistik etki (Lü ve ark., 2014),
- Patojenler ile besin kaynakları ve bağırsak yüzeyine tutunma açısından yarış (Kıran ve Osmanağaoğlu, 2012; Hemaiswarya ve ark., 2013),
- Konağın immün sisteminin uyarılması; (gastrointestinal mukozayla yerleşen kolonize haldeki bakterilerin altta bulunan epitel ve mukozal lenfoid elemanları ile etkileşim kurabildiği ve bu etkileşimin bağırsaktaki konağa ait savunmaları uyardığı bilinmektedir) (Walker, 2008).
- Bakteriyel toksinlerin üretimi ile inhibisyonun sağlanmasıdır (Walker, 2008; Kıran ve Osmanağaoğlu, 2012).

2.7. Probiyotiklerin Sağlık Üzerine Etkileri

İnsan sağlığı, kalıtım, çevre koşulları ve beslenme gibi temel etkilerin yanı sıra yanlış beslenme sebebi ile vücut direncinin düşmesine de bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Vücut direncinin artırılmasında ve korunmasında, yeterli ve dengeli beslenme özellikle büyük önem taşımaktadır (Canbulat ve Özcan, 2007).

İnsan sağlığının önemli bir parçasını bağırsak sistemi oluşturmaktadır. Bağırsaklar pek çok fiziksel ve endokrinolojik aktivitenin gerçekleştirildiği bir bölgedir. Bu sebeple bağırsak sisteminin dengesinin korunması gerekmektedir. Bu amaçla sıklıkla probiyotiklerden

faýdalanılmaktadır. Probiyotiklerin normal bağırsak florasının korunmasında bu denli etkili olması; bağırsak patojenlerinin ortadan kaldırılması, yabancı patojenlere karşı intestinal bariyerin oluşturulması, patojenlere karşı spesifik olmayan immün sistemin uyarılmasına dayanmaktadır (Masood ve ark., 2011). Bağırsak bariyer bütünlüğünün bozulması ile patojenlerin oluşturdukları hastalıkların görülmesi, obezite ve diyabet, nekrotizan enterokolit, rahatsız bağırsak sendromu ve inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi çeşitli gastrointestinal hastalıklar çıkmaktadır (Bron ve ark., 2017).

Özellikle günümüzde antibiyotik direncinin halk sağlığı açısından bir kaygı haline geldiğini göz önüne alarak, antibiyotik kullanımını sınırlayacak bir strateji olarak probiyotiklerin kullanılması da önemli bir araştırma konusudur (Patel ve ark., 2012; Hernandez ve ark., 2016).

2.7.1. Laktoz İntoleransında Kullanımları

Laktoz, yalnızca sütte bulunan ve galaktoz ve glukoz moleküllerinin $\beta(1\rightarrow4)$ glikozidik bağı ile bağlanması sonucu oluşan indirgen bir disakkarittir ve kolayca metabolize edilememektedir. Laktozun sindirilebilmesi için aktif olarak absorbe edilebilen galaktoz ve glukozu hidrolize olması gerekmektedir. Laktoz β - D-galaktosidaz tarafından monosakkaritlere parçalandığı için, bu enzimin eksikliğinde laktoz parçalanamaz (Marteau ve ark., 2002; Gürsoy ve Kınık, 2006).

Laktoz intoleransı ise, laktozun bağırsakta laktaz (β - galaktosidaz) enziminin yetersiz oluşu sebebiyle bileşenlerine parçalanamaması ile ortaya çıkan ve gaz, şişkinlik, karın ağrıları ile bazı durumlarda kusma kendisini gösteren bir gıda intoleransıdır. Belirtileri laktoz tüketimini takiben 30 dakika ile 2 saat arasında kendisini göstermektedir (Lomer ve ark., 2008; Masood ve ark., 2011).

Laktoz intoleransının üç farklı klinik formu bulunmaktadır. İlki bebeklerin süttten kesimi sonrasında ortaya çıkan primer laktoz intoleransı, ikincisi ishale bağıli sekonder laktoz intoleransı, üçüncüsü İnflamatuvar barsak hastalığı ve HIV enfeksiyonuna bağıli ve genetik kökenli konjenital laktoz intoleransıdır (Masood ve ark., 2011).

Dünya nüfusunun yaklaşık %70'lik oranı laktoz intoleransından etkilenmektedir. Özellikle yetişkinlerde, akut veya kronik enterit veya bağırsak rezeksiyonu olan kişilerde sık görülen bir durumdur. Asya ve Afrika ülkelerinde genelinde görülme sıklığı yüksek iken Avrupa içerisindeki dağılımı ülkelere göre büyük farklılıklar göstermektedir (Marteau ve ark. 2002; Gürsoy ve Kınık, 2005).

Lactobacillus türleri uygun koşullarda ince bağırsakta kolonize olarak gerekli olan laktoz enziminin sağlanmasını sağlarlar. Ancak *Lactobacillus* türlerinin konağa uygun seçilmesi, bağırsakta kolonize olabilen türlerin tercih edilmesi ve uygun sayıda canlı mikroorganizma içeren preparatların kullanılması bu etkinin gözlenebilmesi için belirleyicidir (Ray ve Bhunia, 2016).

Klinik çalışmalarda, süt yerine fermente süt ürünlerinin tüketilmesi kısa bağırsak sendromu olan kişilerde, diyaresi olan çocuklarda sindirimin kolaylaşmasına ve bağırsak rahatsızlıklarının giderilmesinde etkili olduğunun tespit edildiği bildirilmektedir. Laktoz intoleransının önlenmesi probiyotiklerin gösterdiği tespit edilen ilk olumlu sağlık etkisidir (Marteau ve ark. 2002; Zhao ve ark., 2007; Lomer ve ark., 2008).

2.7.2. Diyare'de Kullanımları

Bağırsakta emilimin azalması veya bağırsak salgılamasının artması ve peristaltik hareketin artması ile ishal ortaya çıkmaktadır. Günde 3 kere üzerinde gerçekleşen sıvı dışkılamalar ishal olarak değerlendirilir. Hastalığın başlıca sebepleri arasında *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium difficile* ve bazı rotavirüsler sayılmaktadır (Uymaz 2010; Lee ve ark., 2016).

İshal, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde sık görülen bir sorundur. Fakat gelişmekte olan ülkelerde yaşam tarzının yeterince iyi olamaması ve hijyen koşullarının kötü olması nedeniyle ishal daha yaygın görülmektedir. İshal riski küçük çocuklar, yaşlılar, bağırsak enfeksiyonu olan kişiler ve HIV taşıyıcılarında yüksektir (Masood ve ark., 2011). Dünya genelinde %80'ini süt çocuklarının oluşturduğu yaklaşık 5 milyon insan diyare sebebiyle hayatını kaybetmektedir. Ülkemiz ise ishal sebebiyle oluşan ölümler sıralamasında ikinci sırada yer almaktadır (Canbulat ve Özcan, 2007). Amerika Birleşik Devletleri'nde ise her yıl tahminlere göre 21 ila 37 milyon çocukta diyare hastalığı atakları meydana geldiği bildirilmektedir (Reid ve ark., 2003).

Özellikle geçmiş yıllarda pek çok insanın ölümüne neden olan diyare tedavisine ilgi arttığı ve alternatif çözüm olarak probiyotiklerin kullanılmasına olan ilginin de aynı şekilde arttığı belirtilmektedir. (Gürsoy ve Kınık, 2005; Bari ve Islam, 2017).

Akut diyare ise özellikle ışın tedavisi gören kanser hastalarında ve enteral tüple beslenen hastalarda görülen başlıca sorundur. Bu tip hastaların tedavisinde *Lactococcus plantarum*, *L.acidophilus* suşlarını içeren probiyotik bir preparat olan VSL3'ün kanser sebebiyle ameliyat olan ve sonrasında ışın tedavisi görmüş 190 hastadaki araştırmada, probiyotik ürünün

plasebo grubuna göre akut diyarenin şiddetini önemli ölçüde azalttığı saptanmıştır (Delia ve ark., 2002).

Grenov ve ark. (2017) tarafından akut diyare rahatsızlığı olan 400 çocuğun ayakta tedavisi sırasında probiyotiklerin diyare üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. 8-12 hafta boyunca hastalara günde 1 doz şeklinde probiyotik karışım vermişlerdir. Tedavi süresinin sonunda hastaların %26'sında iyileşme meydana geldiğini ifade etmektedirler.

2.7.3. Sindirim Zorluklarının Giderilmesinde Kullanımları

Yapılan çalışmalar bağırsak içerisindeki kolonize olmuş probiyotik mikroorganizmalar salgıladıkları enzimler ile bazı besin öğelerinin parçalanmasını ve vitamin (B-12), mineral gibi maddelerin absorpsiyonunun engellenmesi ya da kolaylaştırılmasını sağlayarak sindirime yardımcı olduklarını göstermektedir (Hemaiswarya ve ark., 2013; Kılıç, 2014; De Angelis ve ark., 2014; Thakur ve ark., 2016; Li ve ark., 2017).

2.7.4. Ülseratif Kolitler'de Kullanımları

Ülseratif kolit, açık yaralar halinde seyreden akut bir inflamatuvar bağırsak hastalığı olarak tanımlanmaktadır. Ülseratif kolitlerin oluşumundaki ana sebeplerden birinin ise genetik olarak yatkın bireylerde endojen bakterilere aşırı miktarda bağışıklık tepkisi olduğu düşünülmektedir (Plaza-Diaz ve ark.,2017).

Hod ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada 172 inflamatuvar bağırsak hastalığı bulunan hasta üzerinde 8 haftalık bir tedavi sürecinde hastaları günde iki kez probiyotik içeren kapsüller ile beslemişlerdir. Hastaların tedavi sürelerinin sonunda hastalık semptomlarında önemli ölçüde iyileşme gözlemlenmiştir. Benzer şekilde O'Mahony ve ark. (2005)'nin 77 inflamatuvar bağırsak hastası üzerinde yaptıkları çalışmada 8 hafta boyunca hastaları probiyotik içeren besin ile beslemişlerdir. Tedavi sürecinin sonunda hastalardaki belirtilerin önemli ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir.

2.7.5. Chorn Hastalığı

Crohn hastalığı, gastrointestinal kanalın herhangi bir yerinde oluşan kronik bir iltihaptır. Hastalık kendisini özellikle karnın alt bölümünde bir ağrı, acil ve sık dışkılama ihtiyacı, kilo kaybı ve anüste yaralar şeklinde gösterir. Temel olarak tedavi konağın bağırsak mukozasındaki iltihabı baskı altına alan ilaçlar ile sağlanır. Yapılan tedavi yöntemleri tam olarak hastalığın tedavisini sağlamaz. Günümüzde ise intestinal mikrofloranın düzenlenmesi alternatif bir tedavi olarak görülmektedir (Uymaz. 2010).

Saccharomyces boulardii'nin Crohn hastalığının remisyon süresini uzattığı ve nüks oranlarını azalttığı bulunmuştur.

Prantera ve ark. (2002) 45 Chorn hastası üzerinde yaptıkları çalışmada, hastaların tedavisinde kullandıkları *Lactobacillus GG* suşunun tekrarlanan lezyonların şiddetinin azaltılmasında etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

2.7.6. *Helicobacter pylori* Enfeksiyonunda Kullanımı

Helicobacter pylori, tip B gastrit ve peptik ülserlerden sorumlu bir gram negatif bakteri patojendir ve gastrik kanser için bir risk faktörü olabileceği düşünülmektedir (Aiba ve ark. 1998; Reid ve ark. 2003).

Helicobacter pylori özellikle son yıllarda kronik gastrit ve mide ülserinin önemli etkilerinden biri olarak kabul edilmektedir. Aiba ve ark. (1998), Sakamoto ve ark. (2001) ve Myllyluoma ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmalarda LAB'nin gastirik ülser tedavisinde faydalı etkilerinin bulunduğunu bildirilmiştir. Araştırmacılar, bu etkinin LAB'nin *H.pylori* üzerine inhibe edici etkilerinden kaynaklı olduğunu bildirmişlerdir.

Canducci ve ark. (2000) tarafından yapılan çalışmalarda *Helicobacter pylori* pozitif olan 55 hasta üzerinde standart tedavi ile birlikte verilen, *L. acidophilus* içeren yoğurdun etkileri araştırılmıştır. Üre nefes testi sonuçlarına göre probiyotik alan hastaların %88'inde hastalıkta önemli bir gerileme tespit edilmiştir.

2.7.7. Rahatsız Bağırsak Sendromunda Kullanımı

Rahatsız bağırsak sendromu, tekrar eden karın ağrısı / rahatsızlığı ve dışkı tutarlılığı veya sıklığında değişiklik ile karakterize edilen bir rahatsızlıktır. Kendi içerisinde kabızlık ağırlıklı, ishal ağırlıklı ve karışık tipte olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır. Dünya üzerinde %20 gibi yüksek bir görülme sıklığına sahiptir (Bron ve ark., 2017).

Sendromun tedavisinde farmakolojik tanıların eksikliği ve semptomların çeşitliliği sebebiyle uygun tedavinin bulunması çok zordur. Bu amaçla Drisko ve ark. (2006) rahatsız bağırsak sendromu taşıyan 24-81 yaş aralığında 20 hastada gerçekleştirdikleri çalışmada, rahatsızlığın giderilmesinde probiyotik içerikli bir diyeti hastalara 1 yıllık süre ile uygulamışlardır. Tedavi süresince yapılan değerlendirmelerde hastaların dışkılama sıklığı ve ağrılarında önemli derecede iyileşme gözlemişlerdir.

2.7.8. Kanser Tedavisinde Kullanımı

Genel olarak kanser, hücre büyümesini ve bölünmesini kontrol eden anormal genlerin mutasyonu veya aktivasyonu sonucu ortaya çıkar. Bu anormal olarak bölünen hücrelerin tamamının sonu kanser ile sonuçlanmaz. Bağışıklık sistemi bu anormal hücreleri tanımakta ve yok etmektedir. Vücutta bu anormal hücreler pek çok farklı sebep ile oluşabilmektedirler ve bu hücrelerin oluşumuna sebep olacak etkilere maruz kalmanın azaltılması kanser riskinin de azaltılmasında etkili olmaktadır.

Kansere sebep olan etmenlerden biri olan kimyasallar bağırsak ortamındaki mikroorganizmalar tarafından da üretilebilmektedir. Probiyotiklerin ise bu kimyasallara maruz kalmayı azaltabileceği düşünülmektedir. Probiyotiklerin bu etkileri; yutulan kanserojenlerin detoksifikasyonu, bağırsak ortamındaki mikrobiyotayı değiştirmek ve orada bulunan zararlı mikroorganizmaların metabolik faaliyetlerini azaltarak kanserojen bileşik üretiminin azaltılması, programlanmış hücre ölümü sırasında ölüm yeteneğini arttıran metabolik ürünler üretmek, tümör hücrelerinin büyümesini engelleyen bileşiklerin üretilmesi ve kanser hücreleri ile savaşması için immün sistemin uyarılmasıdır (Parvez ve ark., 2006).

Olivares ve ark. (2006) tarafından yapılan çalışmada *Lactobacillus gasseri* ve *Lactobacillus coryniformis* suşlarının oral yoldan sağlıklı bireylere verilmesi ile bireylerdeki kanserojenler, mutajenler ve tümör oluşumunu hızlandırıcı maddeleri seyrelttiği ve kolon kanseri riskini düşürdüğü gözlemlenmiştir.

2.7.9. Kolesterol Düşürme Kalp ve Damar Hastalıklarının Engellenmesinde Kullanımı

Kolesterol, insan vücudunda birçok işlev için gereklidir. Belirli hormonlara ve vitaminlere öncülük eder aynı zamanda hücre zarlarının ve sinir hücrelerinin bir bileşeni olarak görev yapar. Bununla birlikte, toplam kolesterol veya diğer kan lipidlerinin yükselmesi, gelişmekte olan koroner kalp hastalıkları ve diğer pek çok hastalığın ve ölümlerin başlıca etmeni olarak düşünülmektedir (Parvez ve ark., 2006). Özellikle kalp ve damar hastalıklarının önlenmesi bakımından serum kolesterol seviyelerinin düşürülmesi, büyük önem taşımaktadır.

Günümüzde özellikle beslenme ile alınan önlemler ve farmasötik maddeler kolesterol seviyesinin düzenlenmesinde yetersiz kalmaktadır. Bu sebeple probiyotiklerin sağlık etkileri üzerine yapılan çalışmalardan biri de kolesterolün probiyotik ürünler ile düşürülmesidir. İnsan gastrointestinal sistemindeki probiyotiklerin, bağırsak yolundan kolesterol emilimini ve safra tuzu dekonjügasyonunu azaltarak serum kolesterol düzeyini düşürme kabiliyetine sahip olduğu düşünülmüştür. İnsan gastrointestinal sistemindeki probiyotiklerin, bağırsak yolundan kolesterol emilimini ve safra tuzu dekonjügasyonunu azaltarak serum kolesterol düzeyini

düşürme kabiliyetine sahip olduğu düşünülmektedir. (Alp ve Ertürkmen, 2017). Yapılan bazı çalışmalarda *Streptococcus thermophilus* ve *L. acidophilus*'un kolesterol düşürücü etki gösterdikleri gözlenmektedir (Marteau ve ark., 2002).

Kolesterolün düşürülmesinde LAB'nin rolü üzerine farklı teoriler mevcuttur. Bunlardan ilki LAB'nin ürettikleri laktik asit ile oluşan pH düşüşü sebebi ile kolesterol safra tuzları ile birlikte çöker. Bir diğer teori ise LAB'nin safra asidini, konjuge safra asitlerine kıyasla bağırsak yolundan daha hızlı atılan serbest asitlere ayrıştırmasıdır. Serbest safra tuzları vücuttan atıldıkça, yeni safra asitlerinin kolesterolden sentezi vücudun toplam kolesterol konsantrasyonunu düşürebilir (Lourens-Hattingh ve Viljoen, 2001). Bu safra dekonjugasyonundan sorumlu enzim ise safra tuzu hidrolaz enzimidir (BSH). Enzim aktivitesi ile oluşan dekonjuge safra tuzlarının yeniden absorbe olması daha düşük seviyelerde gerçekleşmektedir. Bununla birlikte çözünürlüğü daha düşük olan dekonjuge safra tuzları sindirim sistemine alınan yağların emilimini ve çözündürülmesinde azalmaya neden olmaktadır. Bu sayede vücuttan atılan safra asitlerinin tekrar sentezlenebilmesi için gereken kolesterol ve vücuda alınan kolesterolün çözünürlüğünün düşürülerek emiliminin azalması ile kandaki seviyesi düşürülmüş olmaktadır (Akman, 2009).

2.7.10. Alerjilerin Önlenmesinde Kullanımı

Günümüzde alerjik rahatsızlıklar (atopik dermatit, astım, alerjik rinit, alerjik eozinofilik gastroenterit ve saman nezlesi) geçmişe oranla özellikle sanayileşmenin çok olduğu toplumlarda artmaktadır. Bu durumun sebepleri olarak günümüzde yalnızca genetik etmenler sayılmamaktadır. Küçük yaşlardan itibaren bireyin mikroorganizmalarla daha az karşılaşması, geçmişe oranla daha steril besinlerin tüketilmesi, etkin hijyenik uygulamalar gibi sebeplerle alerjik rahatsızlıkların arttığı düşünülmektedir (Canbulat ve Özcan, 2007).

Her ne kadar probiyotiklerin alerji mekanizmasının önlenmesi konusunda nasıl bir etki gösterdiği açıklığa kavuşturulmasa da mukozal bariyer fonksiyonunu ve mikrobik stimülasyon bağışıklık sistemini iyileştirerek yararlı bir etki gösterdikleri düşünülmektedir (Parvez ve ark. 2006).

Probiyotik bakterilerin, atopik egzama ve gıda alerjisine sahip hastalarda aşırı duyarlılık reaksiyonlarıyla ilişkili inflamasyonun/yanğının azaltılması ve düzenlenmesinde önemli rol oynadığı belirtilmektedir. Hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda, probiyotiklerin makromoleküllerin parçalanmasını arttırarak antijenlerin mukozal bozunmasını güçlendirdiği belirtilmektedir (Parvez ve ark., 2006; Van Overtvelt ve ark., 2010).

2.7.11. Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkileri

İnsan vücudunda bulunan mikroorganizmalar ile bağışıklık sistemi arasında oldukça sıkı bir ilişki olduğu bilinmektedir. Bu mikroorganizmaların bir bölümü konakçı için faydalı etkiler oluştururken bir bölümü hastalık yapıcı etkilere sebep olmaktadır. Yerleşik mikrobiyal flora yardımı ile memeli bağışıklık sistemi ve homeostazın korumasında önemli rol oynamaktadır (Hooper ve ark., 2012).

İn vitro sistemlerde, hayvan modellerinde ve insanlarda yapılan çalışmalar, probiyotiklerin hem spesifik hem de spesifik olmayan immun yanıtları geliştirebileceğini göstermektedir. Bu etkilerin genellikle, sitokin seviyelerinin artırılması, makrofajların aktive edilmesi, doğal öldürücü hücre aktivitesinin artırılması veya immünoglobülin seviyelerinin artırılması yoluyla sağlandığı ifade edilmektedir (Parvez ve ark., 2006).

Lin ve arkadaşları (2009)'nın yaptıkları bir çalışmada 5 yaş altı 1062 çocuğa pediatrik bulaşıcı hastalıklarının önlenmesinde probiyotik suşların rolünün araştırıldığı bildirilmektedir. Çalışma sonucunda *L. casei rhamnosus*'un bakteriyel, viral ve solunum yolu enfeksiyonlarını kontrol edebildiği ve çoklu türde bir probiyotik içeren kültürlerin gastrointestinal hastalıkları önemli ölçüde azalttığı ifade edilmektedir. Ayrıca *L. ramosus*'un uzun süreli tüketimi ile T-cell-1 (bağışıklık hücreleri) sayısının arttığı ve bakteriyel enfeksiyon oranının da azaldığı ifade edilmektedir.

Payne ve ark. (2003) tarafından yapılan çalışmada *Lb. plantarum 299* suşu içeren ürünlerin tüketimi ve bu bakterilerin bağırsak bölgesine kolonize olması üzerine yapılan çalışmada, kronik diyare, ağız ülseri ve kilo almada zorluk gibi olumsuz sağlık özellikleri gösteren çocuklarda, 1 ay süreyle düzenli olarak *Lb. plantarum 299* ile beslenmeyi takip eden günlerde önemli iyileşmeler gözlemlendiği bildirilmektedir.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Manda yoğurt ve peynir örnekleri Kocaeli, Bursa, Balıkesir, Çorum, Manisa, Samsun, Çanakkale, İstanbul, Antalya, Afyon ve Kırklareli illerinden temin edilmiştir. 13 manda beyaz peyniri, 7 mozzarella peyniri ve 3 yoğurt örneği olmak üzere toplamda 23 örnek materyal olarak kullanılmıştır ve analize kadar 4°C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.1. Örneklerdeki Toplam Laktik Asit Bakterilerinin Sayımı ve İzolasyon

Laktik Asit Bakterilerinin sayımı ve izolasyonu için her örnekten 10 g tartılarak 90 ml %2’lik Sodyum sitrat (Merck, Almanya) çözeltisine aktarılmış ve homojen karışımın elde edilebilmesi için stomacher cihazında 90 saniye süre karıştırılması sağlanmıştır (Morea ve ark., 1998). Bu şekilde elde edilen 10⁻¹’lik dilüsyondan Maximum Recovery Diluent (Merck, Almanya) çözeltisi kullanılarak desimal dilüsyonlar hazırlanmıştır. Elde edilen uygun dilüsyonlardan MRS Agar (Merck, Almanya)’a çift kat dökme plak yöntemi ile ve M-17 Agar’a dökme plak yöntemi ile ekim yapılmıştır. MRS petripleri 30°C’de 72 saat, M-17 petripleri ise 37°C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Morea ve ark. 1998).

İnkübasyonlarının sonunda petriplerde 30-300 arasında anlamlı sayım alınabilen her petri plağından koloni sayısının karekökü kadar sayıda rastgele koloniler stoklanmak üzere seçilmiştir (Karabıyıklı ve Karapınar, 2008).

3.2.2. Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması

3.2.2.1. Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması Amaçlı Yapılan Mikrobiyolojik Analizler

MRS Agar petriplerinden elde edilen izolatlar MRS Broth (Merck, Almanya) sıvı besiyerinde 30 °C’de 24 saat, M-17 Agar petriplerinden elde edilen izolatlar M-17 Broth (Merck, Almanya) sıvı besiyerinde 37 °C’de 24 saat geliştirilmiştir. 24 saatlik bu kültürlerle Gram boyama, katalaz ve oksidasyon-fermentasyon testi uygulanmıştır. Gram pozitif ve katalaz negatif sonuç veren izolatlara oksidasyon-fermentasyon testi uygulanmıştır.

3.2.2.1.1. Gram Boyama

MRS Broth ve M-17 Broth’larda 24 saatlik hazırlanan kültürlerden bir öze dolusu alınarak temiz bir lam üzerine aktarılmıştır. Fiksasyon işlemi ile lama tutundurulmuş bakteriler,

öncelikle 1-2 dakika kristal viyole ile boyanmıştır. Boya su ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır, daha sonra Gram iyot çözeltisi ile 1 dakika boyanmıştır. Boyanın fazla olan kısmı tekrar su ile yıkanarak uzaklaştırılmasından sonra %95'lik etanol ile 15 saniye muamele edilmiştir. Lam tekrar yıkanarak üzerine 30 saniye boyunca safranin ile boyama yapılmıştır. Boyama aşamasından sonra lam tekrar saf su ile yıkanıp kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan lamlar mikroskop altında immersiyon yağı varlığında x100'lik objektif ile incelenmiştir. Gram pozitif bakteriler mavi-mor renkli, Gram negatif bakteriler pembe renkli olarak görülmüştür (Harrigan, 1998; Hızarcı, 2011).

3.2.2.1.2. Katalaz Testi

Bakterilerde katalaz enzimi varlığının araştırılması için 24 saatlik hazırlanan taze kültürlerden bir öze dolusu alınarak temiz bir lam üzerine aktarılmıştır. Lamın üzerinde aktarılan kültüre bir damla %10'luk H₂O₂ çözeltisi aktarılmıştır. Gaz oluşumunun gözlenmesi durumunda reaksiyon pozitif olarak değerlendirilmiştir (Harrigan, 1998)

3.2.2.1.3. Oksidasyon-Fermentasyon Testi

Gram boyama ve katalaz testi sonunda; Gram pozitif ve katalaz negatif sonuç veren izolatlara glukoz oksidasyon-fermentasyon testi uygulanmıştır. Oksidasyon-fermentasyon testi için laboratuvarında içerikten hazırlanan Hugh-Leifson Besiyeri (g/l: Trypton (Oxoid,), 10; Yeast Extract (Merck, Almanya), 1; D-glukoz, (Merck Almanya), 10; bromkresol moru (Merck, Almanya) 4 mL %1'lik; Agar (Marka), 2; pH=7,0) içerikten hazırlanmıştır. MRS Broth ve M-17 Broth besiyerlerin de 24 saatlik geliştirilmiş aktif kültürlerin her birinden, iki adet Hugh-Leifson besiyeri tüpüne daldırma yöntemi ile ekimler yapılmıştır ve tüplerden birinin üzerine %2'lik steril agar ilave edilerek anaerobik ortam oluşumu sağlanmıştır. Hugh-Leifson besiyerine ekimleri gerçekleştirilen tüplerden MRS Broth'dan elde edilen kültürler 30°C'de 14 gün, M-17 Broth'dan elde edilen kültürler 37°C'de 14 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır (Harrigan, 1998; Karabıyıklı ve Karapınar, 2008).

İnkübasyon süresi sonunda besiyerinin orijinal rengi olan mavi mor renkten; oksidatif olan mikroorganizmalar üzeri agar ile kapatılmamış tüplerde asit reaksiyonu vererek besiyerinin rengini sarıya çevirirken; fermantatif mikroorganizmalar ekim yapılan her iki tüpte de besiyerinin renginin sarıya dönmesine neden olmuşlardır.

3.2.2.2. Laktik Asit Bakterilerine Uygulanan Fizyolojik ve Biyokimyasal Testler

Laktik asit bakterilerinin tür bazında tanımlanmaları için farklı fizyolojik ve biyokimyasal testler uygulanmıştır. Bu amaçla Gram pozitif, katalaz negatif, kokların identifikasyonu için; glikozdan gaz oluşturma, farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim gösterebilme (%2, %4 ve %6,5), farklı sıcaklıklarda gelişme (10, 40 ve 45°C’de), argininden amonyak oluşturabilme, eskülini parçalama, pH 9,6’da gelişme ve farklı karbonhidratları fermente etme testleri uygulanmıştır. Karbonhidrat fermantasyon testi için Laktoz, Maltoz, Mellebiyoz, Salisin, Sakkaroz, Raffinoz, D(-) Fruktoz, D(-) Sorbitol, D-Riboz, D(+) Galaktoz, L-Arabinoz karbonhidratları kullanılmıştır.

3.2.2.2.1. Farklı Sıcaklıklarda Gelişme Testi

Bu test uygulanırken 18-24 saatlik tazelenmiş kültürlerin her birinden besiyeri içerisinde %1 oranında olacak şekilde alınarak basil şekilli bakteriler için MRS Broth’a kok şeklinde ki bakteriler için laboratuvarında içerikten hazırlanan (16,5 g/L Peptone (Merck, Almanya); 2,8 g/L Yeast Extract; 5,6 g/L NaCl; 10 g/L Glikoz; pH: 7,5±0,1) 121°C’de 15 dakika steril edilmiş ve 48 kuyucuklu mikropaklara 1’er mL olacak şekilde paylaştırılmış besiyerlerine ilave edilmiştir. Kültürler izole edildikleri sıcaklıklarda 3 gün boyunca inkübasyona bırakılmışlardır. İnkübasyonun sonunda bulanıklık olan kuyucuklar pozitif, bulanıklık görülmeyen kuyucuklar negatif olarak değerlendirilmiştir. Analizin kontrolü için negatif kontrol olarak içerisinde kültür içermeyen besiyeri kullanılmıştır (Kışla, 2001; Drosinos ve ark., 2007; Sharma ve ark., 2013).

3.2.2.2.2. Farklı Tuz Konsantrasyonunda Gelişme Testi

18-24 saatlik tazelenmiş kültürlerden farklı tuz konsantrasyonu testi için içerikten hazırlanan (10 g/L Peptone; 10 g/L Meat Extract (Merck, Almanya); 10 g/L Glukoz (Merck, Almanya); 5 g/L NaCl (Marka); 10 mL Bromthymol blue çözeltisi; pH: 7,5±0,1) besiyerine %2, %4, %6,5 tuz içerecek şekilde NaCl ilave edilmiştir. Hazırlanan besiyerleri 121°C’de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir, Sterilizasyon sonrasında 48 kuyucuklu plaklara 1’er mL paylaştırılan besiyerlerine %1 oranında kültür olacak şekilde inokulasyon yapılmıştır. Mikro plaklar 37°C’de 48 saat boyunca inübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda besiyeri renginin sarıya dönüşmesi bulanıklık varlığı pozitif, renk değişiminin ve bulanıklığın olmaması negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir. Analiz sırasında kullanılan Bromthymol Blue çözeltisinin hazırlanması Çizelge 3.1’de yer almaktadır. Analizde negatif kontrol olarak

içerisinde kültür bulundurmeyen içerikten hazırlanan besiyeri kullanılmıştır (Badis ve ark., 2004; İşleroğlu ve ark. 2008; De Almeida Junior ve ark., 2015).

Çizelge 3.1. Bromthymol Blue Çözeltisinin Hazırlanması

Bromthymol Blue (Merck)	1 g
NaOH (1 Normal) (Merck)	25 mL
Destile Su	475 mL

3.2.2.2.3. Glikozdan Gaz Oluşturma

İzolatların homofermantatif ya da heterofermantatif olduklarının belirlenebilmesi için glikozdan gaz oluşumu testi uygulanmıştır. Glikozdan gaz oluşum testi için laboratuvarında içerikten hazırlanan Glikozdan gaz oluşturma besiyeri (10 g/L Pepton (Oxoid); 10 g/L Meat Extract (Merck); 10 g/L Glikoz; 5 g/L Yeast Extract; 1 mL Tween 80 (Merck); 2 g/L K₂HPO₄ (Merck); 5 g/L C₂H₃NaO₂.3H₂O (Merck) hazırlanmıştır. Besiyerinin pH'ı 6,6±0,1'e ayarlanmıştır. 10'ar mL'lik tüplere paylaştırılmış ve içerisine Durham tüpleri yerleştirilmiştir. 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Sterilizasyon sonrası 18-24 saatlik aktif kültürlerden inokülasyon gerçekleştirilmiş ve 30°C'de ve 37°C'de inübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda Durham tüpü içerisinde gaz oluşumu ve bulanık sarı renk oluşumu gözlenen tüpler pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Holzapfel ve Schillinger, 1992).

3.2.2.2.4. pH 9,6'da Gelişme

Laboratuvarında içerikten %2 sakkaroz içerecek şekilde hazırlanan MRS Broth (g/L: 10 g/L Peptone; 10 g/L Meat Extract; 5 g/L Yeast Extract; 20 g/L Sakkaroz; 1mL Twen 80; 2 g/L K₂HPO₄; 5 g/L C₂H₃NaO₂; 5 g/L Triamonyum sitrat; 0,2 mL MgSO₄.7H₂O (%1'lik çözelti); 0,05 mL MgSO₄.4H₂O (%1'lik çözelti); pH 5,8±0,2) 118°C'de 15 sterilize edilmiştir. Hazırlanan besiyerinin sterilizasyon sonunda steril NaOH ile pH'sı 9,6'a ayarlanmış ve 48 kuyucuklu mikro plaklara 1'er mL olacak şekilde paylaştırılmıştır. İçerisine 24 saatlik aktif kültürlerden %1 oranında olacak şekilde ilave edilerek 30°'de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda kuyucuklarda bulanıklık varlığı pozitif, bulanıklık olmayan kuyucuklar ise negatif olarak kabul edilmiştir (Hammes ve ark., 1995).

3.2.2.2.5. Argininden Amonyak Oluşturma

Laktokoklar için argininden amonyak oluşturma besiyeri (5 g/L Tryptone (Oxoid); 2,5 g/L Yeast Extract; 0,5 g/L D-Glukoz; 2 g/L K₂HPO₄; 3 g/L L-Arginine monohydrochloride;

pH 7,5±0,1) ve laktobasiller için (MRS Broth + %(0,3) L-Arginine monohydrochloride) içerikten hazırlanmış ve 121°C'de 15 dk sterilize edilmiştir. Sterilizasyon sonrası 48 kuyucuklu mikropalak kuyucuklarına 1'er mL olacak şekilde paylaştırılan besiyerine, 24 saatlik aktif kültürlerden; %1 oranında inoküle edilmiştir. Mikroplakların içerisindeki kültürler 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası 1 damla Nessler ayırıcı ilave edilmiştir. Kahverengi veya portakal sarısı renk oluşumu pozitif, renk değişiminin olmaması negatif olarak değerlendirilmiştir. Her iki besiyerinin de analiz sırasında negatif kontrolü için kültür içermeyen besiyerleri kullanılmıştır (Harrigton ve Mc Canse, 1976; Kışla, 2001).

3.2.2.2.6. Esculin Parçalanması

Esculin Parçalanması testi için katkı içermeyen Edward Medium Agar besiyeri hazırlanmış ve petrilere dökülmüştür. 24 saatlik aktif kültürlerden, hazırlanan bu petrilere öze yardımı ile çizim yapılmış ve 37°'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda petrilere siyah koloni oluşumu pozitif, şeffaf koloniler negatif olarak değerlendirilmiştir (Devriese ve ark., 1999; Sylejmani ve ark., 2016).

3.2.2.2.7. Karbonhidrat Fermantasyon Testi

İzolatların çeşitli karbonhidratları fermente edebilme kabiliyetlerinin belirlenmesi için laktobasiller için (g/l Peptone, 10; Yeast Extract, 4; K₂HPO₄, 2; di-Ammonium hydrogen citrate, 2; C₂H₃NaO₂, 5; MgSO₄, (Merck, Almanya), 0,2; MnSO₄, (Merck, Almanya), 0,04; Tween 80, 1 ml; Chrophenol red, 20ml; pH: 6,5±0,1) ve laktokoklar için (g/l: Meat Extract, 10; Peptone, 10; NaCl, .5; Na₂HPO₄ (Merck, Almanya), 2; Bromthymol blue, 20 mL: pH 7,5±0,1) belirtildiği gibi içerikten hazırlanan ve steril edilen besiyerlerine % 1 oranında Çizelge 3.2'de ki test edilecek karbonhidratlar ilave edilmiştir. Hazırlanan ve 48 kuyucuklu mikropalalara 1'er mL olacak şekilde paylaştırılan besiyerlerine, 18-24 saatlik aktif kültürlerden inokülasyon gerçekleştirilmiştir. Laktobasiller 30°C'de; laktokoklar 37°C'de 5-7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sürelerinin sonunda indikatör renginin sarıya dönmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir (Holzapfel ve Schillinger, 1992).

Çizelge 3.2. Fermantasyonunda kullanılan karbonhidratlar

Lactose-Monohydrate	Merck (Almanya)
Raffinose-Pentahydrate	Merck
Saccharose	Merck
Salisin	Merck
L(+)-Rhamnose-Monohydrate	Merck
Arabinose	Merck
D(+)-Xylose	Merck
D(-)-Mannitol	Merck
Melibiose monohydrate	Merck
D(-)-Fructose puriss	Sigma (USA)
D(+)-Mantose monohydrate	Sigma
D(-)-Sorbitol	Sigma
D(-)-Robose 98%	Sigma
D(+)-Trehalose dihydrate	Sigma
D(+)-Galatose 98%	Alfa Aesar (USA)
D(+)-Cellobiose 98%	Alfa Aesar

3.2.3. Laktik Asit Bakterisi İzolatlarının Stok Olarak Saklanması

Laktik asit bakterisi izolatlarının buzdolabı koşullarında stok olarak saklanması için; 24 saatlik aktif kültürlerden besiyeri içerisinde %1 oranında olacak şekilde içerikten hazırlanan %10'luk Yağsız Süt Tozu besiyerine (100 g/L yağsız süt tozu (Pınar süt tozu); 10 g/L CaCO₃ (Merck, Almanya); 10 g/L Glukoz (Merck, Almanya); 3 g/L Yeast Extract (Merck, Almanya)'na ilave edilerek 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda daha sonraki çalışmalar için kullanılmak üzere buzdolabı koşullarında muhafaza edilmiştir (Kışla, 2001).

3.2.4. Tanımlaması Gerçekleştirilen Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Özelliklerinin Araştırılması

Tanımlaması gerçekleştirilen laktik asit bakterilerinden probiyotik özellik taşıma ihtimali önceki çalışmalar ile belirlenen MRS Agar izolatlarından 26 tane, M-17 Agar izolatlarından 25 tane *Lactobacillus* izolatı seçilerek probiyotik özelliklerinin araştırılması gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.1. Düşük pH Değerine Karşı Gelişimin Belirlenmesi

Seçilen izolatların düşük pH değerinde gelişiminin belirlenmesi için; Klinberg ve ark. 2005 ve Liong ve Shah 2005'in yöntemleri modifiye edilmiştir. İzolasyon kaynak besiyerine göre M-17 Broth ve MRS Broth'da iki kez aktive edilmiş 18 saatlik kültürlerden, pH değeri

2,5'a ayarlanmış 10 mL'lik MRS Broth ve M-17 Broth'lara %1 oranında kültür olacak şekilde inoküle edilmiştir. Kültürlerden inokulasyon sonrasında 96 kuyucuklu mikropklara 200 µL olacak şekilde paylaştırılmış ve inkübasyonun 0. dakikasından itibaren 2 saat aryla 8. saate kadar ve 24. saatte 620 nm'de Mikropklak okuyucu (Thermo Scientific, Multisan FC, ABD) ile okumaları yapılmıştır.

3.2.4.2. Safra Suyuna Karşı Toleransın Belirlenmesi

İzolatların safra suyu toleranslarının belirlenebilmesi için; Maragkoudakis ve ark. (2006) ve Liong ve Shah (2005)'in yöntemleri modifiye edilmiştir. Test edilecek izolatlar elde edildikleri besiyerine göre MRS Broth ve M-17 Broth'larda iki kez aktifleştirilmişlerdir. Aktif kültürlerden 10 mL'lik %0.3 Ovgall içeren MRS Broth ve M-17 Broth'lara %1 oranında olacak şekilde inoküle edilmiştir. Kültürlerden inokulasyon sonrasında 96 kuyucuklu mikropklara 200 µL olacak şekilde paylaştırılmış ve inkübasyonun 0. dakikasından itibaren 2 saat ara ile 8. saate kadar ve 24. saatte 620 nm'de mikropklak okuyucu (Thermo Scientific, Multisan FC, ABD) ile okumalar gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.3. Fenol Varlığında Canlılık Testi

İzolatların fenol varlığında canlılıklarının test edilmesi için Xanthopoulos ve ark. (2000)'nın belirttikleri yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. İzolatlar elde edildikleri besiyerlerine göre MRS Broth ve M-17 Broth'larda iki kez aktive edilmiştir. Aktif kültürlerden 10 mL hazırlanmış ve %0.4 fenol içeren tüplerinine %1 oranında olacak şekilde ilave edilmiştir. Kültürlerden inokulasyon sonrasında 96 kuyucuklu mikropklara 200 µL olacak şekilde paylaştırılmış ve inkübasyonun 0. dakikasından itibaren 2 saat ara ile 8. saate kadar ve 24. saatte 620 nm'de mikropklak okuyucu (Thermo Scientific, Multisan FC, ABD) ile okumalar gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.4. Safra Tuzu Hidrolaz (BSH) Aktivitesi

İzolatların safra tuzu hidrolaz aktivitelerinin belirlenmesi için testler Bautista-Gallego ve ark. (2013) ile Akman (2009)'ın yöntemleri modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Test edilecek kültürler MRS Broth ve M-17 Broth'lar da iki kez aktifleştirilmiştir. MRS Agar'a M-17 Agar'a ilave olarak % 0.5 (w/v) sodyum taurodeoxykolat (Na_ TCDA) (Merck) ve 0.37 g/L CaCl₂ olacak şekilde hazırlanmış ve önceden hazırlanarak petrilere paylaştırılmış besiyerlerinin üzerine steril boş diskler yerleştirilmiştir. Yerleştirilen diskler üzerine 15 µl aktifleştirilen kültürlerden ilave edilmiştir. M-17 Agar petrilere 37 °C'de 72 saat, MRS Agar

petrileri 30 °C’de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda petrilere oluşan çökeltme zonlarının çapları ölçülerek kaydedilmiştir.

3.2.4.5. Antibiyotik Hassasiyeti

Antibiyotik hassasiyetlerinin belirlenebilmesi için test edilecek mikroorganizmalar kaynak besiyerlerine göre M-17 veya MRS Broth’larda 24 saatlik olacak şekilde aktifleştirilmiştir. Önceden hazırlanan yaklaşık 20 mL MRS Agar ve M-17 Agar içeren petrilere üzerine aktif kültürlerden yoğunlukları 0,5 McFarland bulanıklığına eşdeğer olacak şekilde ayarlanarak paralel petrilere 100 µL ilave edilerek homojen karışımı sağlanmıştır. Paralel petrilere üzerine beşerli şekilde Çizelge 3.3’de belirtilen antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. MRS Agar petrilere 30°C’de, M-17 Agar petrilere 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sürelerinin sonunda petrilere antibiyotiklerin çevrelerinde oluşan direnç zonlarının büyüklükleri ölçülmüştür. Ölçümler milimetrik ve paralelli şekilde gerçekleştirilmiştir (Yıldız Dikbaş, 2013; Uymaz, 2009).

Çizelge 3.3. Antibiyotik hassasiyetinin belirlenmesi için kullanılan antibiyotik diskleri

Antibiyotik ismi	Disk Kodu	µg/disk
Ampicilin ¹	Amp	10
Cephalothin	KF	30
Chloramphenicol	C	30
Erytromycin	E	15
Novobiyosin	NV	30
Gentamicin	CN	10
Penicin G	P	10
Rifampicin	RD	5
Tetracycline	TE	30
Vancomycin	VA	30

¹Oxoid, İngiltere

Antibiyotik dirençlilikleri test edilen izolatlarla ait sonuçlar Çizelge 3.4’de belirtildiği şekilde dirençli (R), orta dereceli hassas (MS) ve hassas (S) olmak üzere kategorize edilerek verilmiştir.

Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılan antibiyotik disklerde görülen zonların antibiyotik direnç karşılıkları (Charteris ve ark., 1998)

Antibiyotik Grubu	Antibiyotik Adı	Zon çaplarının mm direnç karşılıkları		
		R	MS	S
1. Grup Hücre Duvarı Sentezi İnhibitörleri				
Penicilin	Ampicilin	≤12	13-15	16≥
	Penicilin G	≤19	20-27	28≥
Sefalosporinler	Cephalothin	≤14	15-17	18≥
Glikopeptitler	Vancomycin	≤14	15-16	17≥
2. Grup Protein Sentezin İnhibitörleri				
Aminoglikositler	Gentamicin	≤12	(-)	13≥
Tetrasiklinler	Tetracycline	≤14	15-18	19≥
Tek antibiyotik	Chloramphenicol	≤13	14-17	18≥
Makrolidler	Erytromycin	≤13	14-17	18≥
3. Grup nükleik Asit Sentezi İnhibitörleri				
Rifampisinler	Rifampicin	≤14	15-17	18≥
	Novobiocin	≤13	14-17	18≥

R: dirençli, MS: orta dirençli, S: hassas

3.2.4.6. Kolesterol Asimilasyon Testi

İzolatların kolesterol asimilasyonlarının belirlenebilmesi için Rudel ve Morris (1973) ve Liong ve Shah (2005)'in yöntemleri birleştirilerek kullanılmıştır. Analize alınacak kültürler izole edildikleri besiyerine göre MRS Broth ve M-17 Broth'lar da iki kez aktifleştirilmiştir. Aktif kültürlerden içeriğinde 0.1 g/L kolesterol (Oxoid) ve %0.3 Oxgall (Oxoid) içeren 10 mL'lik MRS ve M-17 Broth tüplerine %1 oranında olacak şekilde inokülasyonlar gerçekleştirilmiştir. Aynı şekilde aktif kültürlerden %0.3 Na-TCDA ve 0.1g/l kolesterol içeren 10 ml'lik MRS ve M-17 Broth tüplerine %1 içerek şekilde inokülasyonlar gerçekleştirilmiştir. MRS Broth tüpleri 30°C'de, M-17 Broth tüpleri 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon süresinin sonunda 3500 rpm'de 20 dak. santrifüj işlemi gerçekleştirilmiş ve süperetant elde edilmiştir. Elde edilen süpernetantlardan 1'er mL örnek alınarak tüplere aktarılmıştır. Üzerine 3 mL %95 etanol (Merck, Almanya) ve 2 mL %50'lik KOH, (Merck, Almanya) ilave edilmiştir. İlave edilen her kimyasal ile birlikte vortekslenerek homojen karışım sağlanmıştır. Tüpler 60 °C'de su banyosunda 10 dakika bekletilmiş ve ardından soğuk su ile soğutulmuştur. Soğutulan tüplere 5 mL Hekzan (Merck, Almanya) ilave edilerek karıştırılmıştır. Üzerine 1 mL saf su ilave edilerek faz ayrımının sağlanması için oda sıcaklığında yaklaşık 15 dakika bekletilmiştir. Faz ayrımı gerçekleştirildikten sonra ayrılan hekzan tabakası temiz bir tüpe ayrılmıştır. Hekzan ayrımı gerçekleştirildikten sonra tüplere 4 mL o-

fitaldehit çözeltilisi (1 mL asetik asit (Merck) içerisinde 0,5 mg ophthaldialdehyde olacak şekilde hazırlanmış) ilave edilmiş ve 10 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. 10 dakikanın sonunda tüplere 2 mL sülfirik asit (Merck, Almanya) ilave edilerek vortekslenmiştir. 10 dakika boyunca tekrar oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bekleme süresinin sonunda 550 nm'de spektrofotometrede kültür içermeyen köre karşı okumaları gerçekleştirilmiştir.



BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Örneklerdeki Toplam Laktik Asit Bakterilerinin Sayımı

Türkiye'nin farklı illerinde üretilen 13 manda beyaz peyniri, 7 mozzarella peyniri ve 3 yoğurt örneği analiz materyali olarak kullanılmıştır. Örnekler aseptik koşullar altında muhafaza edilerek iki farklı besiyeri ile laktik asit bakterilerinin sayımı gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları Çizelge.4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Örneklerdeki toplam laktik asit bakterilerinin sayıları

Analiz Örnekleri	MRS Agar Laktik asit bakterileri (kob/g)	M-17 Agar Laktik asit bakterileri (kob/g)	
Beyaz Peynir	Kartepe	<10	5,59 x 10 ⁶
	Kandıra	9,20 x 10 ⁶	1,42 x 10 ⁹
	Bursa	5,00 x 10 ⁸	7,24x10 ⁸
	Balıkesir	2,60 x 10 ⁷	2,10 x 10 ⁷
	Gönen	<10	1,68 x 10 ⁶
	Çorum	1,47 x 10 ⁹	1,20 x 10 ⁸
	Manisa	1,16 x 10 ⁶	1,01 x 10 ⁶
	Samsun	2,90 x 10 ⁷	5,51 x 10 ⁶
	Samsun 2	2,28 x 10 ⁶	2,22 x 10 ⁷
	Bafra	4,10 x 10 ⁵	1,15 x 10 ⁵
	Bafra 2	5,34 x 10 ⁵	9,00 x 10 ⁶
	Çorum-Boğazkale	<10	6,79 x 10 ⁷
	Çanakkale	6,44 x 10 ⁷	6,14 x 10 ⁸
Mozzarella Peynirleri	İstanbul	4,92 x 10 ⁷	2,424 x 10 ⁸
	Kandıra	6,90 x 10 ⁷	6,55 x 10 ⁵
	Kandıra 2	3,82 x 10 ⁸	3,52 x 10 ⁸
	Antalya	1,40 x 10 ⁸	1,90 x 10 ⁸
	Kırklareli	2,47 x 10 ⁸	9,66 x 10 ⁶
	Afyon	2,02 x 10 ⁵	<10
	Antalya 2 (rani)	5,79 x 10 ⁵	4,30 x 10 ⁵
Manda Yoğurtları	Manisa	1,99 x 10 ⁴	6,68 x 10 ⁷
	Balıkesir	<10	5,11 x 10 ⁵
	Çanakkale	1,27 x 10 ³	3,02 x 10 ⁵

Analize alınan örnekler içerisinde klasik tip manda peynirleri arasında laktik asit bakterisi sayısı en yüksek Çorum örneğinin MRS Agar ile gerçekleştirilen analizinde $1,47 \times 10^9$ kob/g olarak bulunurken, Kartepe, Gönen ve Çorum Boğazkale örneklerinin MRS Agar'a yapılan ekimlerinde laktik asit bakterisi tespit edilememiştir. Mozzarella örneklerinde en yüksek laktik asit bakterisi sayısı $3,82 \times 10^8$ kob/g ile Kandıra 2 örneğinin MRS Agar'a yapılan ekimlerinde tespit edilirken Afyon örneğinin M-17'ye gerçekleştirilen ekimlerinde laktik asit bakterisi tespit edilememiştir. Yoğurt örneklerinde ise $6,68 \times 10^7$ kob/g ile en yüksek laktik asit bakterisi sayımı Manisa örneğinin M-17 Agar'a yapılan ekimlerinde bulunmuş, Balıkesir örneğinin MRS Agar'a yapılan ekimlerinde ise laktik asit bakterisi tespit edilememiştir.

Analize alınan 3 tip ürünün ortalama laktik asit bakterisi sayısı sırası ile klasik tip manda peynir örnekleri için $1,85 \times 10^8$ kob/g, mozzarella peynir örnekleri $8,89 \times 10^7$ kob/g, yoğurt örnekleri için $1,12 \times 10^7$ kob/g olarak belirlenmiştir.

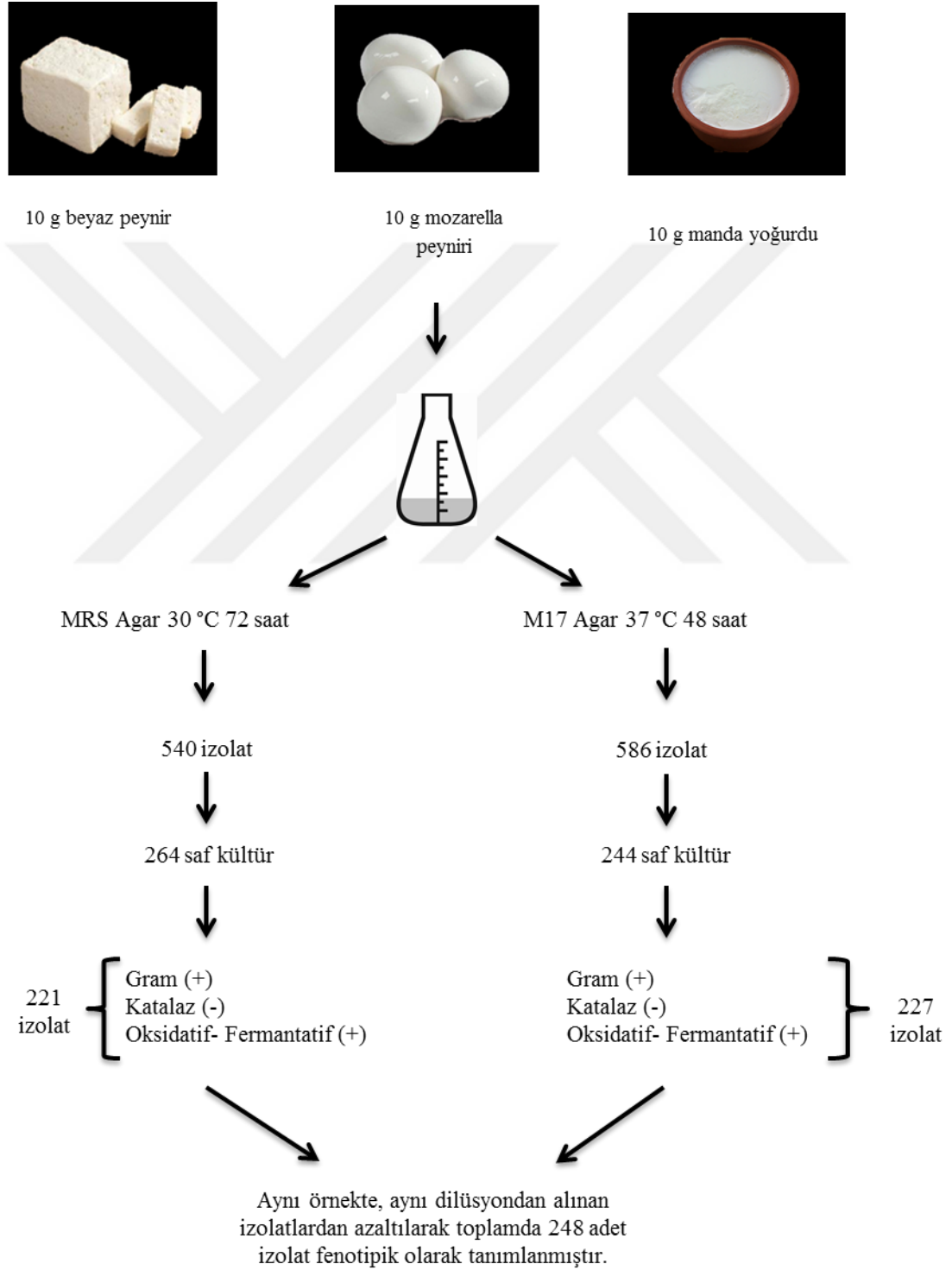
Coppona ve ark. (1988) mozzarella peynirinde starter olarak da kullanılan 16 farklı mozzarella peyniraltı suyu ile yaptıkları çalışmada ortalama olarak laktik asit bakteri sayısını $5,04 \times 10^8$ log kob/g olarak bulmuşlardır. Yaptıkları çalışma ile mozzarella örneklerimiz karşılaştırıldığında örneklerimizdeki laktik asit bakteri sayısı yaklaşık 1 log daha düşüktür. Sonuçlar arasındaki bu farkın ise mozzarella peynirlerinin yapımında kullanılan sütlerden, peynir yapım ve alet ekipmandan ayrıca örnek farkından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Akgün ve ark. (2016) tarafından düşük yağ içeriğinin manda sütü yoğurtlarının fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerine etkisi üzerine yaptıkları çalışmada 20 gün boyunca depoladıkları örneklerde *S. thermophilus* sayısının 8.25 ila 9.17 log kob/g arasında değiştiğini belirlemişlerdir.

4.2. Manda Sütü Ürünleri Örneklerinden Elde Edilen Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu

Örneklerden laktik asit bakterisi sayımı ve izolasyonu için yapılan analizler Metot 3.2.'da belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Anlamlı sonuç oluşturan petrilere toplam koloni sayılarının karekökü kadar izolat alınmıştır. M-17 Agar'dan 586, MRS Agar'dan 540 olmak üzere toplamda 1126 izolat alınmıştır. Aynı örnekten alınan izolatlardan 502 tanesi saf olarak elde edilmiştir. Toplam 502 izolata Gram boyama ve katalaz testi, glukoz oksidasyon-fermantasyon testi uygulanmıştır. Yapılan testler sonucunda M-17 Agar'dan izole edilen izolatlardan 227 izolatın Gram pozitif, katalaz negatif ve oksidatif-fermantatif olduğu ve

izolatlardan 27 tanesinin maya olduğu; bulunmuştur. MRS Agar'dan izole edilen 264 izolattan 201 tanesinin Gram pozitif, katalaz negatif, oksidatif-fermantatif olduğu, 56 izolatin maya olduğu ve 7 izolatin ise Gram pozitif, katalaz negatif ancak oksidatif-fermantatif olmadığı tespit edilmiştir. Manda sütü ürünlerden izole edilen laktik asit bakterilerinin izolasyonu Şekil 4.1'de gösterildiği gibi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.1. Manda sütü ürünlerden izole edilen laktik asit bakterilerinin izolasyonu

4.3. Manda Sütü Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Fenotipik Olarak Tanımlanması

Gram pozitif, katalaz negatif, glukozu oksidatif-fermantatif kullanabildiği belirlenen suşların böylece laktik asit bakterisi olduğu kesinleştirilmiştir. Öncelikle laktik asit bakterilerinin taksonomik olarak sınıflandırılabilmesi için Stiles and Holzapfel (1997), Hammes ve Hertel (2009) tarafından belirlenen kriterler esas alınmıştır. Laktik asit bakterisi olduğu kesinleşen ve tanımlanması gerçekleştirilecek olan izolatlar öncelikle fermentasyon tipinin belirlenebilmesi için glikozdan gaz oluşumu testi uygulanmıştır. M-17 Agar izolatlarından 88 (%69,29)'i homofermentatif, 39 (%30,70)'u heterofermentatif bulunmuştur. MRS Agar izolatlarından ise 101 (%83,47)'i homofermentatif, 20 (%16,52)'si heterofermentatif bulunmuştur.

İzolatların laktobasil ya da laktokok olarak gruplandırılabilmesi için izolatlar yapılan Gram boyama sonunda mikroskop incelemesi ile morfolojik ayrımı gerçekleştirilmiştir.

Heterofermentatif oldukları glikozdan gaz oluşturma yeteneklerine göre belirlenen izolatların ikinci aşamada arginin hidrolizi yetenekleri belirlenmiştir. Arginin testi sonucunda pozitif sonuç veren laktobasiller ve kokobasiller zorunlu heterofermentatif gruba dahil edilmiştir. Ayrıca arginin hidrolizi negatif olan fakat glikozdan gaz oluşturan laktobasiller de bu gruba dahil edilmiştir.

Zorunlu heterofermentatif olduğu belirlenen izolatların tür düzeyinde tanımlanabilmesi için izolatlar farklı sıcaklıklarda gelişim yeteneği testi ve karbonhidrat fermentasyon testleri uygulanmıştır. Sonuçlar Klein ve ark. (1998), Morotomi ve ark., (2002), Azadnia ve Khan (2009), Guetouache ve Guessas (2015)'ya göre değerlendirilmiştir.

M-17 Agar'dan izole edilen 20 adet zorunlu heterofermentatif *Lactobacillus* izolatlarının tür düzeyinde tanımlama için uygulanan farklı sıcaklık, arginin ve karbonhidrat testlerinden elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2'deki gibidir. İzolatlardan 5 tanesinin *L. viridescens*, 4 tanesinin *L. acidophilus*, 4 tanesinin *L. sanfranciscensis*, 2 tanesinin *L. confucus*, 2 tanesinin *L. halotolerans*, 2 tanesinin *L. fermentum/ L. reuteri* ve 1 tanesinin *L. zyme* olduğu tespit edilmiştir.

MRS Agar'dan izole edilen 12 adet zorunlu heterofermentatif *Lactobacillus* izolatlarının tür düzeyinde tanımlama için uygulanan testlerden elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3'deki gibidir. İzolatlardan 3 tanesinin *L. sanfranciscensis*, 3 tanesinin *L. fermentum/ L. reuteri*, 2 tanesinin *L. oris*, 1 tanesinin *L. fructosus*, 1 tanesinin *L. equi*, 1 tanesinin *L. brevis* ve 1 tanesinin *L. casei* olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2. M-17 Agar'dan izole edilen zorunlu heterofermentatif *Lactobacillus* izolatlarına uygulanan testler

İzolat Kodu	15°C'de Üreme	45°C'de Üreme	Arginin	Laktöz	Riboz	Galaktöz	Sellebiyoz	Mellebiyoz	Maltoz	Trehaloz	Mannitol	Arabinoz	Ksiloz	Bakteri Türü
1	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>L.acidophilus</i>
5	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	<i>L.confucus</i>
24	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>L.sanfrancisco</i>
48	(+)	(-)	(-)	*	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>L. viridescens</i>
50	(+)	(-)	(-)	*	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>L. viridescens</i>
51	(+)	(-)	(-)	*	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>L. viridescens</i>
54	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	<i>L. sanfranciscensis</i>
56	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	<i>L. fermentum</i>
60	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>L. sanfranciscensis</i>
62	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>L.acidophilus</i>
66	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	<i>L. zymae</i>
67	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	<i>L. halotolerans</i>
70	(+)	(+)	(+)	*	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>L. viridescens</i>
73	(+)	(+)	(+)	*	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>L. viridescens</i>
75	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	<i>L. halotolerans</i>
103	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	<i>L. reuteri</i>
152	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>L.acidophilus</i>
153	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>L.acidophilus</i>
164	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>L. sanfranciscensis</i>
180	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	<i>L.confucus</i>

(+): pozitif sonuç, (-) negatif sonuç, * analiz gerçekleştirilmedi.

Çizelge 4.3. MRS Agar'dan izole edilen zorunlu heterofermentatif *Lactobacillus* izolatlarına uygulanan testler

İzolat no	15°C Üreme	45°C Üreme	Arginin	Mannitol	Sellebiyoz	Riboz	Sakkaroz	Laktoz	Mellebiyoz	Maltoz	Fruktoz	Trehaloz	Rafinoz	Sorbitol	Galaktoz	Arabinoz	Bakterinin türü
m14	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	<i>Lactobacillus fructosus</i>
m20	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	<i>L. equi</i>
m28	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	<i>L. sanfranciscensis</i>
m30	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	<i>L. sanfranciscensis</i>
m32	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	<i>L. sanfranciscensis</i>
m182	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	*	<i>L. brevis</i>
m384	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	<i>L. fermentum/ L. reuteri</i>
m385	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>L. casei</i>
m447	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	<i>L. oris</i>
m454	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	<i>L. oris</i>
m460	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	<i>L. fermentum/ L. reuteri</i>
m409	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	<i>L. fermentum/ L. reuteri</i>

(+): pozitif sonuç, (-) negatif sonuç, * analiz gerçekleştirilmemiştir.

Glikozdan gaz oluşturmeyan homofermantatif *Lactobacillus* izolatlarına yapılan 15°C’de gelişme testine göre; 15°C’de gelişme gösterenler Streptobacteria olarak gruplandırılmıştır. İzolatlara ait farklı sıcaklıkta gelişim ve arginin testi sonuçları Çizelge 4.4. ve 4.5’deki gibidir. İzolatlara ait karbonhidrat fermentasyon testleri sonuçları ise Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.7’de verilmiştir. İzolatların tür bazında tanımlanabilmesi için Hemmes ve ark. (2009), Collins ve ark. (1989; 1987), Guetouache ve Guessas (2015), ve Karabıyıklı ve Karapınar, (2008)’den yararlanılmıştır.

M-17 Agar’dan elde edilen *Streptobacterium* grubu 23 izolatın tür bazında tanımlanabilmesi için gerçekleştirilen farklı sıcaklıklarda gelişme, arginin, esculin ve karbonhidrat fermentasyon testlerinin sonuçları Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.6’da verilmiştir. Gerçekleştirilen testler sonunda izolatlardan 4 tanesinin *L. casei spp.tolerans/ L. yamanashlensis*, 4 tanesinin *L.coryniformis*, 3 tanesinin *L.casei spp.rhamnosus*, 2 tanesinin *L. plantarum*, 2 tanesinin *L. curvatus*, 1 tanesinin *L. rhamnosus*, 1 tanesinin *L. helveticus*, 1 tanesinin *L. casei*, 1 tanesinin, *L. cypricasei* ve 1 tanesinin *L. curvatus subsp. curvatus* olduğu tespit edilmiştir.

MRS Agar’dan elde edilen *Streptobacterium* grubu 25 izolatın tür bazında tanımlanabilmesi için gerçekleştirilen farklı sıcaklıklarda gelişme, arginin, esculin ve karbonhidrat fermentasyon testlerine ait sonuçlar Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.7’deki gibidir. Gerçekleştirilen testler sonucunda izolatlardan 2 tanesinin *L. coryniformis*, 3 tane *L. casei spp.tolerans/ L. yamanashlensis*, 2 tanesi *L. coryniformis subsp. corniformis*, 1 tanesi *L. kefiranofaciens subsp. kefirgranum*, 1 tanesi *L. acidipiscis*, 1 tanesi *L. ultunensis*, 2 tanesi *L. mali*, 3 tanesi *L. curvatus subsp. melibiosus*, 1 tanesi *L. parabuchneri*, 1 tanesi *L. suebicus*, 4 tanesi *L. johnsonii*, 1 tanesi *L. plantarum*, 1 tanesi *L. intestinalis*, 1 tanesinin *L. curvatus subsp. curvatus* ve bir tanesinin *L. acidophilus* olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.4. M-17 Agar'dan izole edilen *Streptobacterium* grubu izolatların farklı sıcaklıklarda gelişim, arginin hidrolizi ve esculin parçalanması testi sonuçları

Izolat No	15°C'de Üreme	45°C'de Üreme	Arginin	Esculin
33	(+)	(+)	(-)	(+)
40	(+)	(+)	(-)	(+)
43	(+)	(+)	(+)	(+)
44	(+)	(+)	(-)	(-)
105	(+)	(-)	(-)	(-)
109	(+)	(-)	(+)	(+)
119	(+)	(-)	(-)	(-)
123	(+)	(-)	(+)	(+)
125	(+)	(-)	(+)	(-)
157	(+)	(+)	(+)	(-)
160	(+)	(-)	(-)	(+)
165	(+)	(-)	(-)	(-)
166	(+)	(-)	(-)	(-)
173	(+)	(+)	(-)	(+)
174	(+)	(-)	(+)	(+)
177	(+)	(-)	(-)	(+)
233	(+)	(-)	(-)	(+)
239	(+)	(-)	(-)	(+)
240	(+)	(-)	(+)	(-)
474	(+)	(-)	(-)	(+)
484	(+)	(-)	(-)	(+)
487	(+)	(-)	(+)	(+)
489	(+)	(+)	(+)	(+)

(+): pozitif sonuç, (-) negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.5. MRS Agar'dan izole edilen *Streptobacterium* grubu izolatların farklı sıcaklıklarda gelişim, arginin hidrolizi ve esculin parçalanması testi sonuçları

Izolat No	15 °C'de Üreme	45 °C'de Üreme	Arginin	Esculin
m18	(+)	(-)	(-)	(-)
m74	(+)	(+)	(-)	(+)
m91	(+)	(+)	(-)	(+)
m133	(+)	(+)	(-)	(+)
m174	(+)	(-)	(-)	(-)
m176	(+)	(-)	(-)	(-)
m183	(-)	(+)	(-)	(-)
m381	(+)	(-)	(-)	(-)
m383	(+)	(-)	(-)	(-)
m388	(-)	(-)	(-)	(+)
m396	(+)	(-)	(-)	(+)
m404	(+)	(-)	(-)	(+)
m446	(+)	(-)	(-)	(+)
m448	(+)	(-)	(+)	(-)
m449	(+)	(-)	(-)	(+)
m450	(-)	(+)	(-)	(+)
m455	(+)	(-)	(-)	(+)
m456	(+)	(-)	(-)	(+)
m457	(+)	(-)	(-)	(+)
m458	(+)	(+)	(-)	(+)
m478	(+)	(+)	(-)	(-)
m479	(+)	(-)	(-)	(+)
m480	(+)	(+)	(-)	(+)
m481	(+)	(+)	(-)	(+)
m482	(+)	(+)	(-)	(+)

(+): pozitif sonuç, (-) negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.6. M-17 Agar'dan izole edilen *Streptobacterium* grubu homofermentatif bakterilere uygulanan karbonhidrat testleri

Izolasyon No	Laktoz	Rafinoz	Sorbitol	Maltoz	Galaktoz	Arabinoz	Fruktoz	Riboz	Mellebiyoz	Sakkaroz	Mannitol	Sellebiyoz	Trelaloz	Ksiloz	Ramnoz	Bakteri Türü
33	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	<i>L.casei spp.rhamnosus</i>
40	(+)	*	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	*	(-)	<i>L. casei spp.tolerans/ L. yamanashiensis</i>
43	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	<i>L. rhamnosus</i>
44	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	*	<i>L. helveticus</i>
105	*	*	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	*	<i>L.coryniformis</i>
109	(+)	*	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	*	<i>L. casei</i>
119	*	*	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>L.coryniformis</i>
123	(+)	*	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	*	(-)	<i>L.casei spp.tolerans/ L. yamanashiensis</i>
125	(+)	*	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	*	(+)	*	(+)	(+)	*	(-)	*	<i>L. carnis /L. piscicola</i>
157	(+)	*	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	*	(+)	*	(+)	(+)	*	(-)	*	<i>L. carnis /L. piscicola</i>
160	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	*	*	*	<i>L. plantarum</i>
165	*	*	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	*	<i>L.coryniformis</i>
166	*	*	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	*	<i>L.coryniformis</i>
173	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	*	(-)	<i>L. curvatus</i>
174	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	*	<i>L. cypricasei</i>
177	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>L.casei spp. rhamnosus</i>
233	(+)	*	*	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	*	(-)	<i>Lactobacillus curvatus subsp. curvatus</i>
239	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	*	*	*	<i>L.plantarum</i>
240	(+)	*	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	*	(+)	*	(+)	(+)	*	(-)	*	<i>L. carnis /L. piscicola</i>
474	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	*	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	*	(-)	<i>L. curvatus</i>
484	(+)	*	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	*	(-)	<i>L.casei spp.tolerans/ L. yamanashiensis</i>
487	(+)	*	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	*	(-)	<i>L.casei spp.tolerans/ L. yamanashiensis</i>
489	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	<i>L. casei spp.rhamnosus</i>

(+): pozitif sonuç, (-) negatif sonuç, * analiz gerçekleştirilmemiştir.

Çizelge 4.7. MRS Agar'dan izole edilen *Streptobacterium* grubu homofermentatif bakterilere uygulanan karbonhidrat testleri

Izolot No	Laktoz	Rafinoz	Sorbitol	Maltoz	Galaktoz	Arabinoz	Fruktoz	Riboz	Mellebiyoz	Sakkaroz	Mannitol	Sellebiyoz	Trelaloz	Ksililoz	Ramnoz	Bakteri Türü	
m18	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	*	<i>L. coryniformis</i>	
m74	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	*	<i>L. casei spp tolerans/ L. yamanashlensis</i>	
m91	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	*	<i>L. casei sptolerans/ L. yamanashlensis</i>	
m133	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	*	<i>L. casei sptolerans/ L. yamanashlensis</i>	
m174	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	<i>L. coryniformis subsp. coryniformis</i>
m176	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	<i>L. coryniformis subsp. coryniformis</i>
m183	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	<i>L. kefiranofaciens subsp. kefirgranum</i>
m381	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	*	<i>Lactobacillus acidipiscis</i>	
m383	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	*	<i>L. coryniformis</i>	
m388	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	*	<i>L. ultunensis</i>	
m396	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	*	<i>L. mali</i>	
m404	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	*	<i>L. mali</i>	
m446	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	<i>L. curvatus subsp. melibiosus</i>
m448	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Lactobacillus parabuchneri</i>
m449	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	*	<i>Lactobacillus suebicus</i>	
m450	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	*	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	
m455	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	*	*	*	<i>Lactobacillus plantarum</i>	
m456	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	<i>L. curvatus subsp. melibiosus</i>
m457	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	<i>L. curvatus subsp. melibiosus</i>
m458	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	*	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	
m478	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	<i>Lactobacillus intestinalis</i>
m479	(+)	*	*	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	<i>L. curvatus subsp. curvatus</i>
m480	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	*	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	
m481	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	*	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	
m482	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	*	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	

(+): pozitif sonuç, (-) negatif sonuç, * analiz gerçekleştirilmemiştir.

Glikozdan gaz oluşturmeyen homofermantatif *Lactobacillus* izolatlarına yapılan 15°C’de gelişme testine göre; 15°C’de gelişme göstermeyen izolatlar *Thermobacterium* olarak gruplandırılmıştır. İzolatlara ait karbonhidrat fermentasyon testleri sonuçları ise Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9’da verilmiştir. İzolatların tür bazında tanımlanabilmesi için Temiz (1989), Hemmes ve ark. (2009), Collins ve ark. (1989; 1987) ve Karabıyıklı ve Karapınar, (2008)’den yararlanılmıştır.

M-17 Agar’dan elde edilen 26 adet izolatın tür bazında tanımlanabilmesi için karbonhidrat fermentasyon testleri uygulanmıştır. Uygulanan testler sonunda izolatların 3 tanesinin *L. delbrueckii spp. bulgaricus*, 6 tanesinin *L. amylophilus*, 4 tanesinin *L. acidophilus*, 4 tanesinin *L.ruminis*, 1 tanesinin *L. frumenti*, 1 tanesinin *L. intestinalis*, 3 tanesinin *L. delbrueckii subsp. lactis*, 1 tanesinin *L. fermentum*, 1 tanesinin *L. jensenii* ve 1 tanesinin *L. acetotolorans* olduğu tespit edilmiştir.

MRS Agar’dan elde edilen 39 adet izolatın tür bazında tanımlanabilmesi için izolatlara karbonhidrat fermentasyon testleri uygulanmıştır. Uygulanan testlerin sonunda izolatların 1 tanesinin *L. kefirgranum*, 2 tanesinin *L. kitastonus*, 3 tanesinin *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, 10 tanesinin *L. acidophilus*, 3 tanesinin *L. cypricasei*, 2 tanesinin *L. acidipiscis*, 1 tanesinin *L.ruminis*, 1 tanesinin *L. acetotolerans*, 3 tanesinin *L. salivarius*, 1 tanesinin *L. delbrueckii subsp. lactis*, 3 tanesinin *L. equi*, 4 tanesinin *L. intestinalis*, 1 tanesinin *L. frumenti*, 1 tanesinin *L. mali*, 1 tanesinin *L. kalixensis*, 1 tanesinin *L. aviarus spp. araffinosus* ve 1 tanesinin *L. delbrueckii subsp. delbrueckii* olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.8. M-17 Agar'dan izole edilen *Thermobacterium* grubu homofermentatif bakterilere uygulanan karbonhidrat testleri

İzolasyon no	Laktoz	Rafinoz	Sorbitol	Maltoz	Galaktoz	Arabinoz	Fruktoz	Riboz	Mellebiyoz	Sakkaroz	Mannitol	Sellebiyoz	Trehaloz	Ksiloz	Salisin	Ramnoz	Bakterinin Türü
18	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	*	(-)	(-)	<i>L. delbrueckii spp. bulgaricus</i>
38	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	*	*	*	<i>L. amylophilus</i>
69	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	*	*	*	<i>L. amylophilus</i>
79	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	*	*	*	<i>L. amylophilus</i>
112	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	<i>L. acidophilus</i>
120	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	*	*	*	<i>L. amylophilus</i>
152	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	<i>L. acidophilus</i>
168	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	*	*	*	<i>L. amylophilus</i>
221	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	<i>L. ruminis</i>
222	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	<i>Lactobacillus frumenti</i>
224	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	*	(-)	<i>Lactobacillus intestinalis</i>
226	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	*	(+)	(-)	(+)	*	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis</i>
227	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	*	(+)	(-)	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
228	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	*	(+)	(-)	(+)	*	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis</i>
229	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	*	(+)	(-)	(+)	*	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis</i>
230	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	<i>Lactobacillus ruminis</i>
231	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
232	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Lactobacillus jensenii</i>
235	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	<i>L. ruminis</i>
236	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	<i>Lactobacillus ruminis</i>
234	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	<i>L. amylophilus</i>
241	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	<i>Lactobacillus acetotolerans</i>
469	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	<i>Lactobacillus acetotolerans</i>
470	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	*	(-)	(-)	<i>L. delbrueckii spp. bulgaricus</i>
485	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	*	*	*	<i>Lactobacillus fermentum</i>
492	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	*	(-)	(-)	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>

(+): pozitif sonuç, (-) negatif sonuç, * analiz gerçekleştirilmemiştir.

Çizelge 4.9. MRS Agar'dan izole edilen *Thermobacterium* grubu homofermentatif bakterilere uygulanan karbonhidrat testleri

İzolat no	Laktoz	Rafinoz	Maltoz	Galaktoz	Arabinoz	Fruktoz	Riboz	Mellebiyoz	Sakkaroz	Mannitol	Sellebiyoz	Trehaloz	Ksiloz	Bakteri Türü
m3	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	<i>Lactobacillus kefirgranum</i>
m4	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Lactobacillus kitastonus</i>
m12	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	*	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>
m76	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Lactobacillus kitastonus</i>
m78	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
m84	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
m175	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	<i>Lactobacillus cypricasei</i>
m179	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	<i>L. acidophilus</i>
m180	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	<i>Lactobacillus acidipiscis</i>
m181	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Lactobacillus ruminis</i>
m184	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	<i>L. acidophilus</i>
m185	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	<i>L. acidophilus</i>
m186	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	<i>Lactobacillus acetotolerans</i>
m187	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	<i>Lactobacillus salivarius</i>
m193	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	<i>Lactobacillus salivarius</i>
m198	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	<i>Lactobacillus acidipiscis</i>
m386	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis</i>
m390	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	<i>Lactobacillus cypricasei</i>
m405	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	<i>Lactobacillus cypricasei</i>
m445	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
m459	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	<i>Lactobacillus equi</i>
m462	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>
m463	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
m464	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	*	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>
m465	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	<i>Lactobacillus intestinalis</i>
m466	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
m467	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	<i>Lactobacillus frumenti</i>
m468	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
m469	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	<i>Lactobacillus salivarius</i>
m470	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	<i>Lactobacillus mali</i>

(+): pozitif sonuç, (-) negatif sonuç, * analiz gerçekleştirilmemiştir.

Çizelge 4.9. MRS Agar'dan izole edilen *Thermobacterium* grubu homofermentatif bakterilere uygulanan karbonhidrat testleri (devamı)

İzolat no	Laktoz	Rafinoz	Maltoz	Galaktoz	Arabinoz	Fruktoz	Riboz	Mellebiyoz	Sakkaroz	Mannitol	Sellebiyoz	Trehaloz	Ksiloz	Bakteri Türü
m471	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	<i>Lactobacillus intestinalis</i>
m472	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	<i>Lactobacillus equi</i>
m473	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Lactobacillus kalixensis</i>
m474	(-)	(-)	(+)	(-)	*	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	<i>L. aviarus spp. araffinosus</i>
m475	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	*	(-)	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. delbrueckii</i>
m476	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	<i>Lactobacillus intestinalis</i>
m477	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	<i>Lactobacillus equi</i>
m478	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	<i>Lactobacillus intestinalis</i>
m499	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	<i>Lactobacillus acidophilus</i>

(+): pozitif sonuç, (-) negatif sonuç, * analiz gerçekleştirilmemiştir.

Homofermentatif kok biçiminde olan izolatların tanımlanabilmesi için öncelikle Stiles and Holzapfel (1997)'nin belirlediği kriterler doğrultusunda izolatlar farklı sıcaklıklarda gelişim yetenekleri ve tuz konsantrasyonlarına gösterdikleri direnç yönlerinden incelenerek *Lactococcus*, *Streptococcus* ve *Enterococcus* cinlerinden hangisine ait olduğu belirlenmiştir.

İzolatların tür düzeyinde tanımlanabilmeleri için Follow ve ark. (2005) ve Lui ve ark. (2014) tarafından gerçekleştirilen çalışmalar göz önüne alınarak yapılmıştır.

Homofermantatif kokların cinslere ayrılmasında ilk basamak olarak izolatlarla farklı sıcaklıklarda üreme, farklı tuz konsantrasyonu içeren besiyerinde gelişim, arginin, esculin parçalanması ve pH 9,6'da gelişim testleri gerçekleştirilmiştir.

Bu izolatlardan %6,5 tuz konsantrasyonunda, 10°C'de ve 45°C'de gelişim gösteren ve esculini hidroliz edebilen izolatlar *Enterococcus* cinsi altında tanımlanmıştır. *Enterococcus* cinsi izolatlarla uygulanan farklı sıcaklıkta gelişim, arginin esculin karbonhidrat fermentasyon testleri sonuçları Çizelge 4.10 ve Çizelge 4.11'deki gibidir.

M-17 Agar'dan izole edilen 25 *Enterococcus* izolatın tür düzeyince tanımlanması gerçekleştirilmiştir ve sonuçlar Çizelge 4.9-10'da verilmiştir. Yapılan testler sonucunda 14 izolat *E. faecium*, 1 izolat *E. durans*, 1 izolat *E. pseudoavium*, 1 izolat *E. solitarius*, 2 izolat *E. asini*, 5 izolat *E. avium* ve 1 izolat *E. casseliflavus* olarak tanımlanmıştır.

MRS Agar'dan izole edilen 8 *Enterococcus* izolatın tür düzeyince tanımlanması gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.11). Yapılan testler sonucunda 4 izolat *E. casseliflavus*, 2 izolat *E. faecium* 2 izolat *E. avium* olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4.10. M-17 Agar'dan izole edilen *Enterococcus* izolatlarına uygulanan karbonhidrat fermentasyon testi sonuçları

İzolat no	ph 9,6	Arginin	Esculin	Laktöz	Rafinoz	Maltoz	Arabinöz	Galaktoz	Fruktoz	Sorbitol	Mellebiyoz	Salicin	Sakkaroz	Riboz	Bakteri Türü
9	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>E. faecium</i>
23	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	<i>E.durans</i>
25	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	<i>Enterococcus faecium</i>
32	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Enterococcus faecium</i>
34	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	<i>E. faecium</i>
35	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	<i>E. faecium</i>
45	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	<i>E. feceium</i>
46	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>E. pseudoavium</i>
76	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(0)	(-)	<i>E.solitarus</i>
81	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	<i>E.feceium</i>
85	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	*	(-)	<i>E.asini</i>
167	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	*	(+)	<i>E.feceium</i>
170	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	*	(+)	<i>E.avium</i>
171	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	*	(+)	<i>E. avium</i>
172	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	*	(-)	<i>E.feceium</i>
196	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Enterococcus faecium</i>
201	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Enterococcus faecium</i>
205	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>Enterococcus faecium</i>
210	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>E. faecium</i>
212	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>E. faecium</i>
234	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	*	(+)	<i>E.avium</i>
235	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	*	(+)	<i>E.avium</i>
236	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	*	(+)	<i>E.avium</i>
556	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	*	(-)	<i>E.asini</i>
557	*	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	*	(+)	(-)	<i>Enterococcus casseliflavus</i>

(+: pozitif sonuç, (-) negatif sonuç, * analiz gerçekleştirilmemiştir.

Çizelge 4.11. MRS Agar'dan izole edilen *Enterococcus* izolatlarına uygulanan karbonhidrat fermentasyon testi sonuçları

İzolat no	ph 9,6	Arginin	Esculin	Laktöz	Rafinoz	Maltoz	Arabinoz	Galaktoz	Fruktoz	Sorbitol	Mellebiyoz	Salicin	Sakkaroz	Riboz	Bakteri Türü
m1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	*	(+)	(-)	<i>Enterococcus casseliflavus</i>
m2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	*	(+)	(-)	<i>E. casseliflavus</i>
m119	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	*	(+)	(-)	<i>E. casseliflavus</i>
m134	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	*	(+)	(-)	<i>E. casseliflavus</i>
m158	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>E. faecium</i>
m192	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	*	(+)	<i>E. avium</i>
m196	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	*	(+)	<i>E. avium</i>
m389	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	<i>E. faecium</i>

(+): pozitif sonuç, (-) negatif sonuç, * analiz gerçekleştirilmemiştir.

Homofermentatif kok şeklindeki izolatlardan 45°C’de gelişme gösteremeyen izolatlara 10°C’de gelişim ve % 6,5 tuz konsantrasyonunda gelişim testleri uygulanmıştır. Gerçekleştirilen testler sonucunda 10°C’de gelişim gösteren ve % 6,5 tuz konsantrasyonunda gelişim göstermeyen 21 izolat *Lactococcus* cinsi altında gruplandırılmıştır. *Lactococcus* izolatlarının tür bazında tanımlanabilmeleri için karbonhidrat fermentasyon testleri gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen karbonhidrat fermentasyon testlerinin sonuçları Çizelge 4.12 ve Çizelge 4.13’de verilmiştir.

İzolatların tür düzeyinde tanımlanabilmeleri için Follow ve ark. (2005) ve Lui ve ark. (2014) tarafından gerçekleştirilen çalışmalar göz önüne alınmıştır.

M-17 Agardan izole edilen 10 *Lactococcus* izolatının tür düzeyinde tanımlanması gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen tanımlamada izolatların 2 tanesi *Lactococcus lactis subsp. lactis*, 1 tanesi *Lactococcus lactis*, 2 tanesi *Lactococcus lactis subsp. tructae*, 2 tanesi *Lactococcus raffinolactis*, 1 tanesi *Lactococcus garvieae*, 2 tanesi *Lactococcus chungensis* olarak tanımlanmıştır.

MRS Agar’dan izole edilen 11 *Lactococcus* izolatının tür düzeyinde tanımlanması gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen tanımlamada izolatların 4 tanesi *Lactococcus lactis*, 4 tanesi *Lactococcus plantarum*, 2 tanesi *Lactococcus raffinolactis* ve 1 tanesi *Lactococcus garvieae* olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4.12. M-17 Agar'dan izole edilen *Lactococcus* izolatlarına uygulanan karbonhidrat fermentasyon testi sonuçları

İzolat no	ph 9,6	Arginin	Esculin	Laktoz	Rafinoz	Maltoz	Arabinoz	Galaktoz	Fruktoz	Sorbitol	Mellebiyoz	Salicin	Sakkaroz	Riboz	Sellebiyoz	Mannitol	Bakteri türü
42	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	*	<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>
71	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	<i>Lactococcus lactis</i>
72	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	*	<i>Lactococcus lactis subsp. tructae</i>
116	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	*	(+)	(+)	(+)	<i>Lactococcus raffinolactis</i>
151	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	<i>Lactococcus lactis spp. tructae</i>
154	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	*	<i>Lactococcus raffinolactis</i>
163	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	*	(+)	(+)	*	<i>Lactococcus garvieae</i>
175	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	*	(+)	(+)	(+)	<i>Lactococcus lactis spp. lactis</i>
176	(+)	(+)	*	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	*	*	(+)	*	*	<i>Lactococcus chungensis</i>
206	(+)	(+)	*	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	*	*	(+)	*	*	<i>Lactococcus chungensis</i>

(+): pozitif sonuç, (-) negatif sonuç, * analiz gerçekleştirilmemiştir.

Çizelge 4.13. MRS Agar'dan izole edilen *Lactococcus* izolatlarına uygulanan karbonhidrat fermentasyon testi sonuçları

İzolat	ph 9,6	Arginin	Esculin	Laktoz	Rafinoz	Maltoz	Arabinoz	Galaktoz	Fruktoz	Sorbitol	Mellebiyoz	Salicin	Sakkaroz	Riboz	Sellebiyoz	Mannitol	Bakteri türü
m6	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	<i>Lactococcus lactis</i>
m54	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	<i>Lactococcus plantarum</i>
m72	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	<i>Lactococcus plantarum</i>
m142	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	*	(+)	(+)	*	<i>Lactococcus garvieae</i>
m158	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	<i>Lactococcus lactis</i>
m161	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	<i>Lactococcus plantarum</i>
m162	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	<i>Lactococcus plantarum</i>
m167	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	*	(+)	<i>Lactococcus raffinolactis</i>
m173	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	<i>Lactococcus raffinolactis</i>
m177	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	<i>Lactococcus lactis</i>
m178	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	<i>Lactococcus lactis</i>

(+): pozitif sonuç, (-) negatif sonuç, * analiz gerçekleştirilmemiştir.

Homomentatif kok şeklindeki izolatlardan % 6,5 tuz konsatrasyonunda ve pH 9,6 da ve 10°C’de gelişim gösteremeyen izolatlar *Streptococcus* cinsi altında gruplandırılmıştır. İzolatların tür düzeyinde tanımlanması Follow ve ark. (2005) ve Lui ve ark. (2014) tarafından gerçekleştirilen çalışmalar göz önüne alınarak yapılmıştır.

Bu gruba ait izolatların tür bazında tanımlanması için gerçekleştirilen 45°C’de gelişim ve karbonhidrat fermentasyon testlerinin sonuçları Çizelge 4.14 ve Çizelge 4.15’deki gibidir.

M-17 Agar’dan izole edilen 4 *Streptococcus* izolatının tür düzeyinde tanımlanması gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen tanımlamada 3 tanesi *Streptococcus thermophilus* ve 1 tanesi *Streptococcus equinus* olarak tanımlanmıştır.

MRS Agar’dan izole edilen 18 *Streptococcus* izolatının tür düzeyinde tanımlanması gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen tanımlamada 7 tanesi *Streptococcus thermophilus*, 5 tanesi *Streptococcus bovis*, 3 tanesi *Streptococcus pluranimalium*, 2 tanesi *Streptococcus equinus* ve 1 tanesi *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4.14. M-17 Agar'dan izole edilen *Streptococcus* izolatlarına uygulanan 45°C'de gelişim ve karbonhidrat fermentasyon testi sonuçları

İzolat no	45°C'de gelişim	pH 9,6	Laktöz	Rafinoz	Maltoz	Arabinoz	Galaktöz	Fruktöz	Sorbitol	Mellebiyoz	Salicin	Sakkaroz	Riboz	Sellebiyoz	Bakteri Türü
31	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	<i>Streptococcus equinus</i>
37	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	<i>Streptococcus thermophilus</i>
213	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	<i>Streptococcus thermophilus</i>
584	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	<i>Streptococcus thermophilus</i>

Çizelge 4.15. MRS Agar'dan izole edilen *Streptococcus* izolatlarına uygulanan 45°C'de gelişim ve karbonhidrat fermentasyon testi sonuçları

İzolat no	45°C'de gelişim	pH 9,6	Laktöz	Rafinoz	Maltoz	Arabinoz	Galaktöz	Fruktöz	Sorbitol	Mellebiyoz	Salicin	Sakkaroz	Riboz	Sellebiyoz	Bakteri Türü
m7	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	<i>Streptococcus thermophilus</i>
m83	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	*	<i>Streptococcus bovis</i>
m136	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	<i>Streptococcus pluranimalium</i>
m139	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	*	<i>Streptococcus bovis</i>
m143	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	<i>Streptococcus thermophilus</i>
m145	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	<i>Streptococcus thermophilus</i>
m154	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	<i>Streptococcus thermophilus</i>
m157	(+)	*	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	*	<i>Streptococcus salivarius subsp. thermophilus</i>
m392	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	<i>Streptococcus pluranimalium</i>
m393	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	*	<i>Streptococcus bovis</i>
m395	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	*	<i>Streptococcus bovis</i>
m398	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	<i>Streptococcus pluranimalium</i>
m408	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	*	<i>Streptococcus bovis</i>
m452	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	<i>Streptococcus equinus</i>
m504	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	<i>Streptococcus equinus</i>
m510	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	<i>Streptococcus thermophilus</i>
m511	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	<i>Streptococcus thermophilus</i>
m512	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	<i>Streptococcus thermophilus</i>

(+): pozitif sonuç, (-) negatif sonuç, * analiz gerçekleştirilmemiştir.

Heterofermentatif kok veya kokkidal çubuk şeklindeki izolatlar *Leuconostoc* cinsi olarak gruplandırılmıştır. İzolatların tür düzeyinde tanımlanabilmeleri için Follow ve ark. (2005) ve Lui ve ark. (2014) tarafından gerçekleştirilen çalışmalar göz önüne alınmıştır.

Bu izolatlara gerçekleştirilen pH 9,6, arginin ve eskulin hidrolizi ile birlikte karbonhidrat fermentasyon testlerinin sonuçları Çizelge 4.16 ve Çizelge 4.17'deki gibidir.

M-17 Agar'dan izole edilen 19 *Leuconostoc* cinsi izolatın tür bazında tanımlanması sonucunda izolatlardan 1 tanesi *L. mesenteroides spp. mesenteroides*, 9 tanesi *Leuconostoc lactis*, 3 tanesi *Leuconostoc argentinum*, 2 tanesi *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris*, 2 tanesi *Leuconostoc mesenteroides subsp. dexlranicm* ve 1 tanesi *Leuconostoc kimchii* olarak tanımlanmıştır.

MRS Agar'dan izole edilen 8 *Leuconostoc* cinsi izolatın tür bazında tanımlanması gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen tanımlamalar sonucunda 6 tanesi *Leuconostoc lactis*, 1 tanesi *L. mesenteroides spp. mesenteroides* ve 1 tanesi *Lactococcus raffinolactis* olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4.16. M-17 Agar'dan izole edilen *Leuconostoc* izolatlarına uygulanan karbonhidrat fermentasyon testi sonuçları

İzolat no	pH 9,6	Arginin	Esculin	Laktoz	Rafinoz	Maltoz	Arabinoz	Galaktoz	Fruktoz	Sorbitol	Mellebiyoz	Salicin	Sakkaroz	Riboz	Bakteri Türü
6	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	<i>L. mesenteroides spp. mesenteroides</i>
7	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>L.euconostoc lactis</i>
11	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Leuconostoc argentinum</i>
12	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	<i>Leuconostoc lactis</i>
13	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	<i>Leuconostoc lactis</i>
14	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	<i>Leuconostoc argentinum</i>
16	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	<i>Leuconostoc lactis</i>
17	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Leuconostoc lactis</i>
21	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	<i>Leuconostoc argentinum</i>
26	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris</i>
29	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	<i>Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris</i>
77	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	*	(+)	<i>Leuconostoc mesenteroides subsp. dexlranicm</i>
98	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	<i>Leuconostoc lactis</i>
104	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	*	(+)	<i>Leuconostoc mesenteroides subsp. dexlranicm</i>
115	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	*	(+)	<i>Leuconostoc kimchii</i>
116	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	<i>Leuconostoc lactis</i>
118	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	<i>Leuconostoc lactis</i>
122	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	<i>Leuconostoc kimchii</i>
558	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	<i>L.euconostoc lactis</i>

(+): pozitif sonuç, (-) negatif sonuç, * analiz gerçekleştirilmemiştir.

Çizelge 4.17. MRS Agar'dan izole edilen *Leuconostoc* izolatlarına uygulanan karbonhidrat fermentasyon testi sonuçları

İzolat no	pH 9,6	Arginin	Esculin	Laktoz	Rafinoz	Maltoz	Arabinoz	Galaktoz	Fruktoz	Sorbitol	Mellebiyoz	Salicin	Sakkaroz	Riboz	Sellebiyoz	Mannitol	Bakteri Türü
m11	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	<i>Leuconostoc lactis</i>
m15	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	<i>Leuconostoc lactis</i>
m21	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	<i>L. mesenteroides spp. mesenteroides</i>
m22	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	*	(+)	*	(+)	<i>Lactococcus raffinolactis</i>
m25	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	<i>Leuconostoc lactis</i>
m31	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	<i>Leuconostoc lactis</i>
m156	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	<i>Leuconostoc lactis</i>
m394	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	<i>Leuconostoc lactis</i>

(+): pozitif sonuç, (-) negatif sonuç, * analiz gerçekleştirilmemiştir.

Laktik asit bakterilerinin fenotipik olarak tanımlanmasında 139 tane basil şekilli laktik asit bakterisinden, 37 basil şekilli farklı suş tanımlanmıştır. Tanımlanan suşlar içerisinde baskın olarak 18 (%15,12) tanesi *L. acidophilus*, 12 (%10,08) tanesi *L. casei*, 11 (%9,24) tanesi *L. delbrueckii* bulunmuştur. Tanımlanması gerçekleştirilen 103 adet kok veya kokoid şeklindeki izolatlardan baskın olarak 16 (15,53) tanesi *Enterococcus faecium*, 16 (15,53) tanesi *Leuconostoc lactis*, 9 (%8,73) tanesi *Lactococcus lactis* bulunmuştur.

Morea ve ark. (1998)'nin mozzarella peynirinde bulunan laktik asit bakterilerinin karakterizasyonu için yaptıkları çalışmada baskın flora olarak bizim çalışmamız ile ortak olarak *L.casei* suşu bulmuşlardır. Çalışmaları sırasında yalnızca 13 farklı biyotipte basil şekilli bakteri bulmuşlardır. Benzer şekilde Pisano ve ark. (2016) tarafından mozzarella peynirinde yapılan çalışmada da baskın olarak çalışmamız ile benzer olarak *L. delbrueckii* suşu izole etmişlerdir.

Shafakatullah ve ark. (2014) Hindistan'ın Karnataka bölgesinden temin ettikleri manda sütlerinden izole edilen laktik asit bakterisi suşlarını incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada baskın olarak *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* ve *Bifidobacterium longum* varlığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda *Bifidobacterium* cinsi izolasyonu yapılmamıştır.

Rizqiati ve ark. (2015)'nin Endonezya'dan temin ettikleri manda sütleri üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada, manda sütlerinden çalışmamızda da izole edilen *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. casei* suşlarını izole etmişlerdir.

Casarotti ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada manda sütünden üretilen mozzarella peynirinde *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus casei* ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* suşlarını baskın mikrobiyota olarak tanımlamışlardır. Forhad ve ark. (2015)'nin manda sütü üzerinde yaptıkları çalışmada da baskın mikrobiyota benzer şekilde bulunmuştur. Bizim çalışmamızda en çok izole edilen cinsin de *Lactobacillus spp.* olduğu belirlenmiştir.

4.4. Tanımlanması Gerçekleştirilen *Lactobacillus* Cinsi Bakterilerin Probiyotik Özelliklerinin Araştırılması

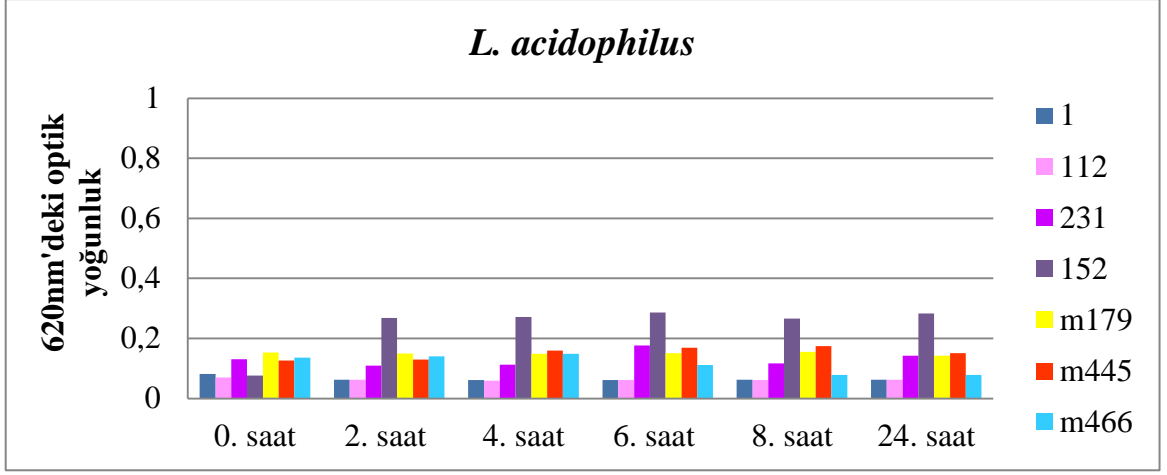
Manda sütü ürünlerinden elde edilen ve tanımlaması gerçekleştirilen *Lactobacillus* cinsi izolatlardan probiyotik özellik gösterme ihtimali olanlar önceki çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre belirlenmiştir (Olivares ve ark. 2006; Tanabe ve ark. 2014; Lü ve ark., 2014). Buna göre *L. acidophilus*, *L. sanfrancisco*, *L. casei spp. rhamnosus*, *L. casei spp. tolerans/ L. yamanashlensis*, *L. coryniformis*, *L. plantarum*, *L. intestinalis*, *L. delbrueckii*

subs. lactis, *L. delbrueckii subs. bulgaricus*, *L. jensenii*, *L. johnsoni*, *L. rhamnosus*, *L. reutrei*, *L. amylophilus*, *L. kalixensis*, *L. oris*, *L. kefirgranum*, *L. fermentum*, *L. salivarius* ve *L. equi* izolatlarından 51 adet seçilerek probiyotik özellikleri belirlenmiştir. Probiyotik özelliklerin belirlenebilmesi için seçilen izolatlara öncelikle düşük pH değerine karşı gelişimin belirlenmesi, safra suyuna karşı toleransın belirlenmesi, fenol varlığında canlılık testleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu testlerde sindirim koşullarına direnç gösterebilecek olan izolatlar arasından farklı örneklere ait izolatlar seçilerek bu testlere ek olarak safra tuzu hidrolaz (BSH) aktivitesi, antibiyotik hassasiyeti ve kolesterol asimilasyon testleri uygulanmıştır.

4.4.1. Düşük pH Değerine Karşı Gelişimin Belirlenmesi

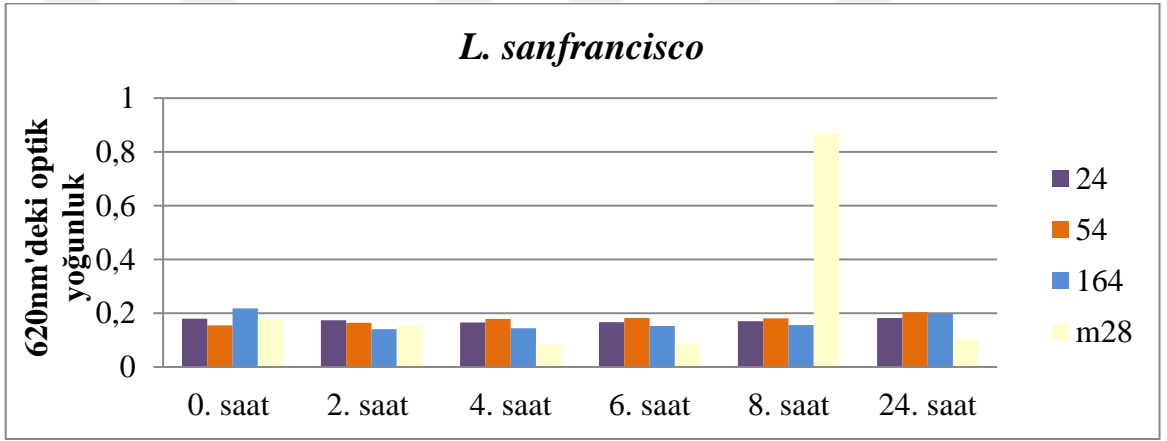
Probiyotik olarak kullanılacak mikroorganizmaların sindirim kanalı boyunca canlılıklarını koruyabilmeleri ve bağırsak sistemine tutunabilmeleri gerekmektedir. Bu neden ile probiyotik mikroorganizmaların sindirim süresince mide içerisindeki pH 2,5'a direnç gösterebilmesi gerekmektedir (Dunne ve ark., 1999; Sağdıç ve ark., 2004, Yıldız, 2013; Fontana ve ark., 2013). Seçilen 51 izolatın pH 2,5'da gelişimleri incelenmiştir.

Süreye bağlı pH 2,5 de gelişim değerlerinin sonuçları *L. acidophilus* izolatlarının Şekil 4.2'de, *L. sanfrancisco* izolatlarının Şekil 4.3'de, *L. casei spp. rhamnosus* izolatlarının, Şekil 4.4'de, *L. casei spp. tolerans / L. yamanashlensis* izolatlarının Şekil 4.5'de, *L. coryniformis* izolatlarının Şekil 4.6'de, *L. plantarum* izolatlarının Şekil 4.7'de, *L. intestinalis* izolatlarının Şekil 4.8'de, *L. delbrueckii subs. lactis* ve *L. delbrueckii subs. bulgaricus* izolatlarının Şekil 4.9'da, *L. jensenii* ve *L. johnsoni* izolatlarının Şekil 4.10'da, *L. rhamnosus*, *L. reutrei*, *L. amylophilus* izolatlarının Şekil 4.11'de, *L. kalixensis* ve *L. oris*, *L. kefirgranum* izolatlarının Şekil 4.12'de, *L. fermentum* izolatlarının Şekil 4.13'de, *L. salivarius* ve *L. equi* izolatlarını Şekil 4.14'de gösterilmiştir.



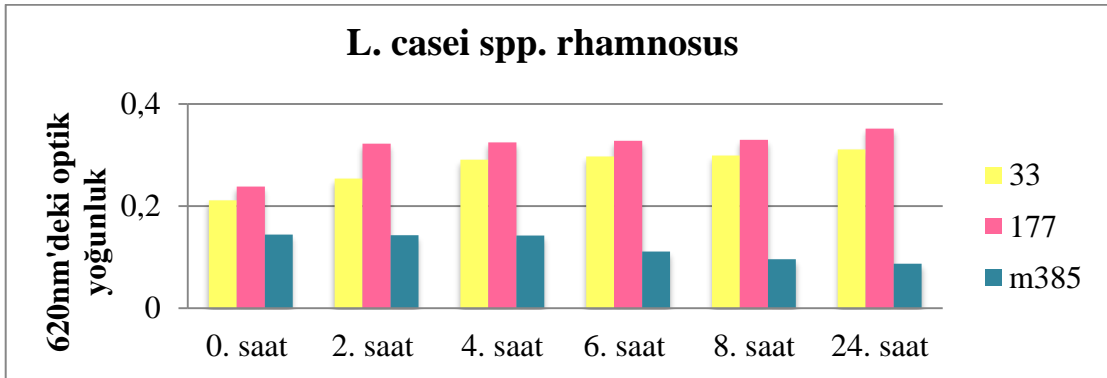
Şekil 4.2. *L. acidophilus* izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları

L. acidophilus izolatları: 1, 112, 231, 152, m179, m,445



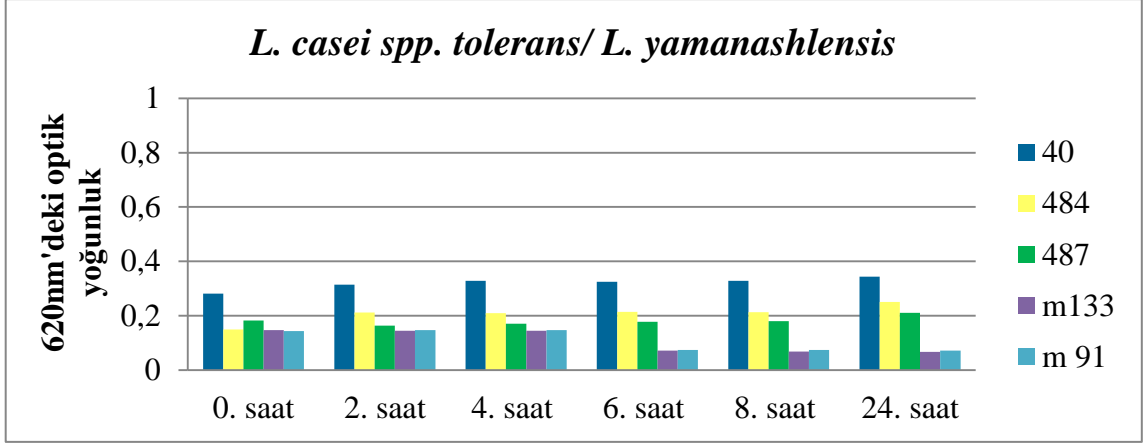
Şekil 4.3. *L. sanfrancisco* izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları

L. sanfrancisco izolatları: 24, 54, 164, m28



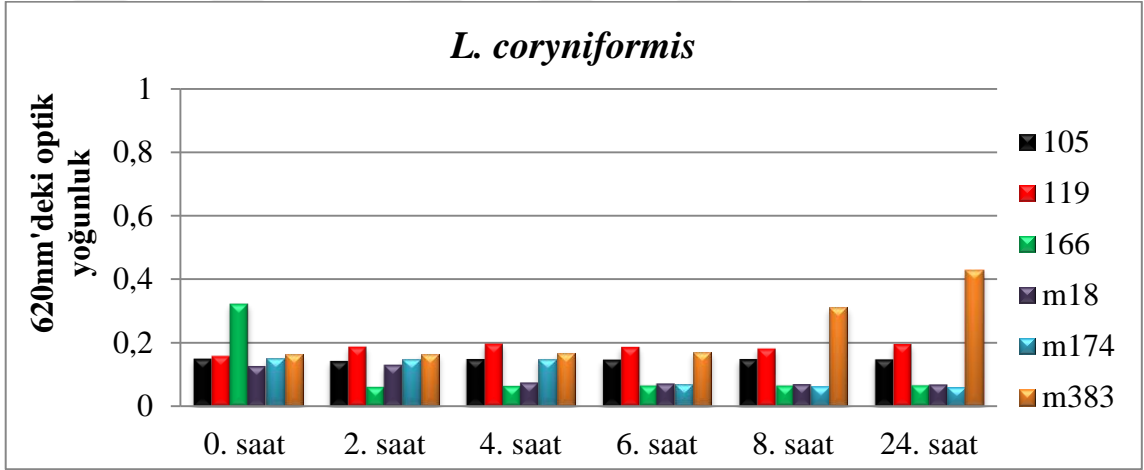
Şekil 4.4. *L. casei spp. rhamnosus* izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları

L. casei spp. rhamnosus izolatları: 33, 177, m385



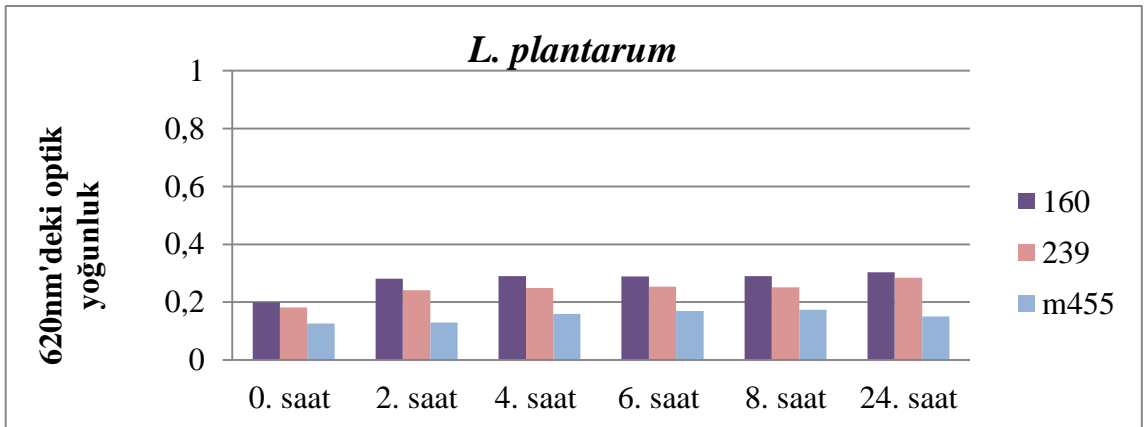
Şekil 4.5. *L. casei spp. tolerans / L. yamanashlensis* izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları

L. casei spp. tolerans / L. yamanashlensis izolatları: 40, 484, 487, m133, m91



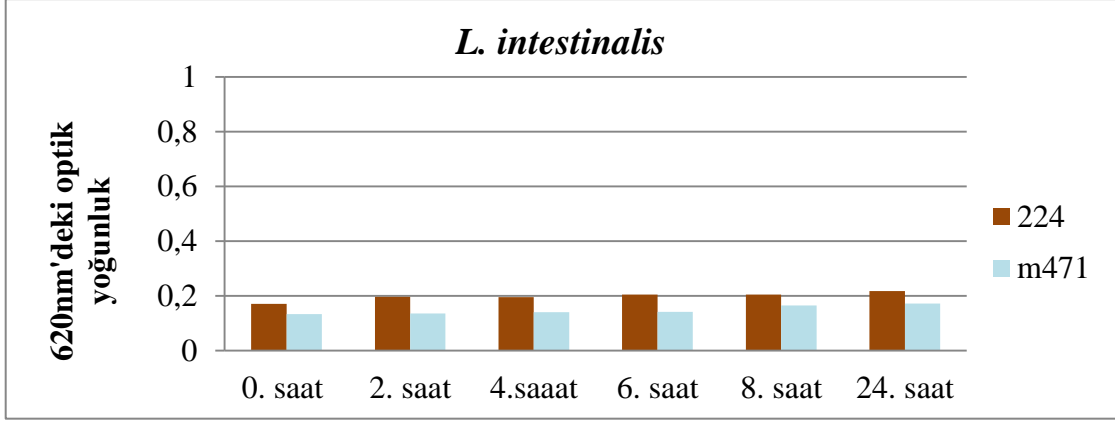
Şekil 4.6. *L. coryniformis* izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları

L. coryniformis izolatları: 105, 119, 166, m18, m174, m383



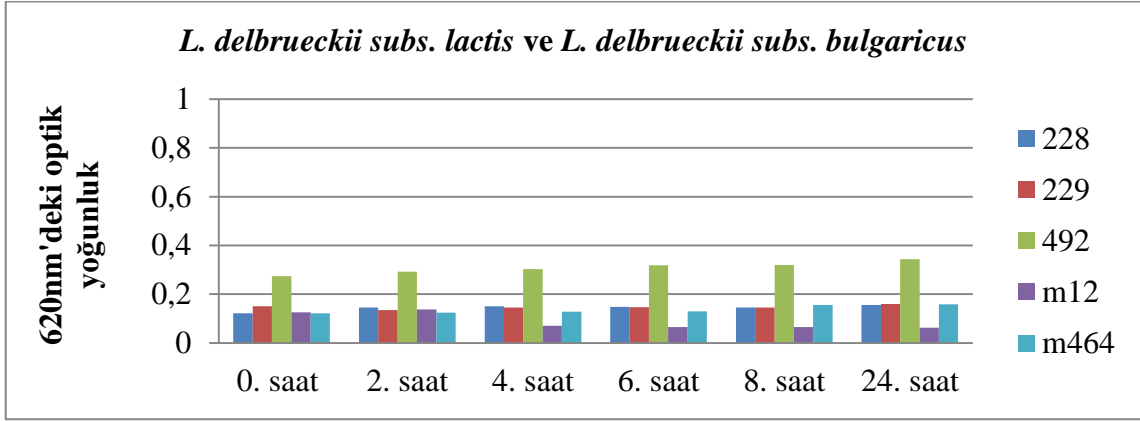
Şekil 4.7. *L. plantarum* izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları

L. plantarum izolatları: 160, 239, m445



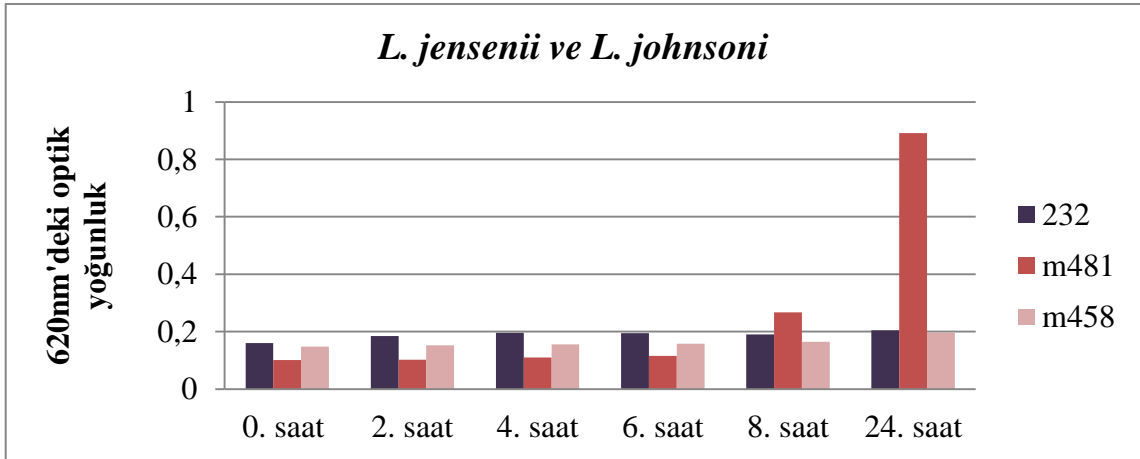
Şekil 4.8. *L. intestinalis* izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları

L. intestinalis izolatları: 224, m471



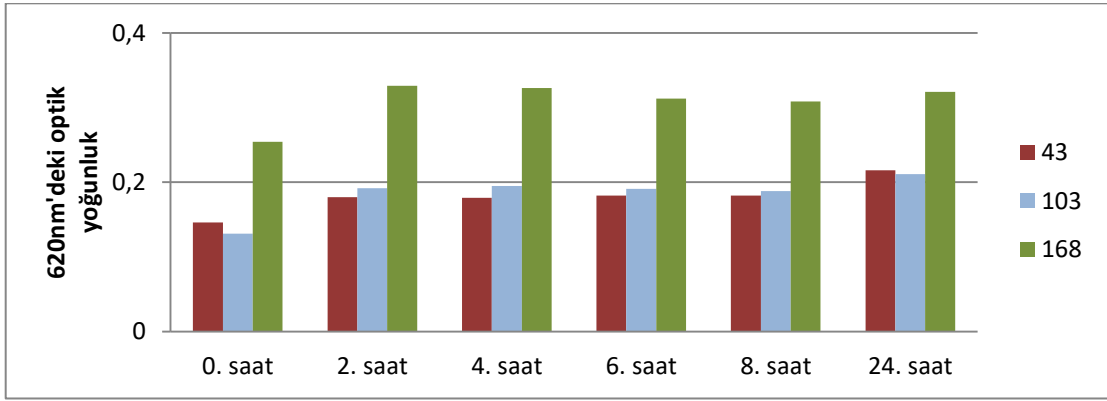
Şekil 4.9. *L. delbrueckii subs. lactis* ve *L. delbrueckii subs. bulgaricus* izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları

L. delbrueckii subs. lactis izolatları: 228, 229; *L. delbrueckii subs. bulgaricus* izolatları: 492, m12, m464



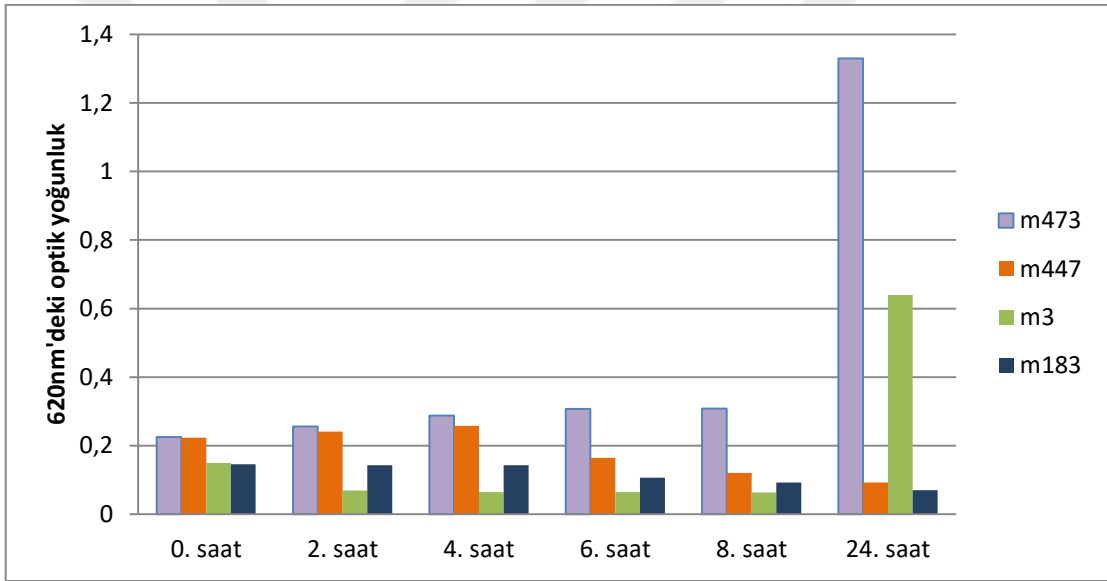
Şekil 4.10. *L. jensenii* ve *L. johnsoni* izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları

L. jensenii 232; *L. johnsoni*:m481, m458



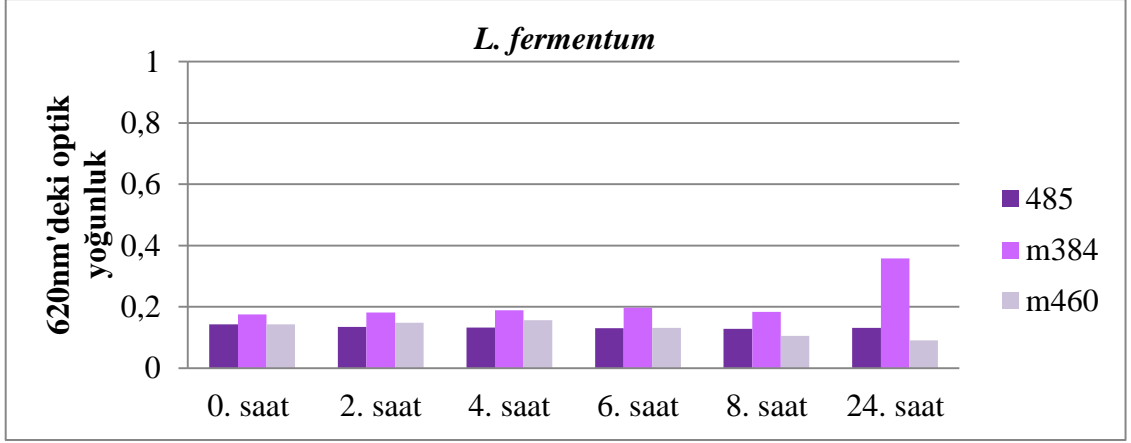
Şekil 4.11. *L. rhamnosus*, *L. reutrei*, *L. amylophilus*, *L. kalixensis*, *L. oris* ve *L. kefirgranum* izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları

L. rhamnosus izolatı: 43; *L. reutrei* izolatı: 103; *L. amylophilus* izolatı: 168



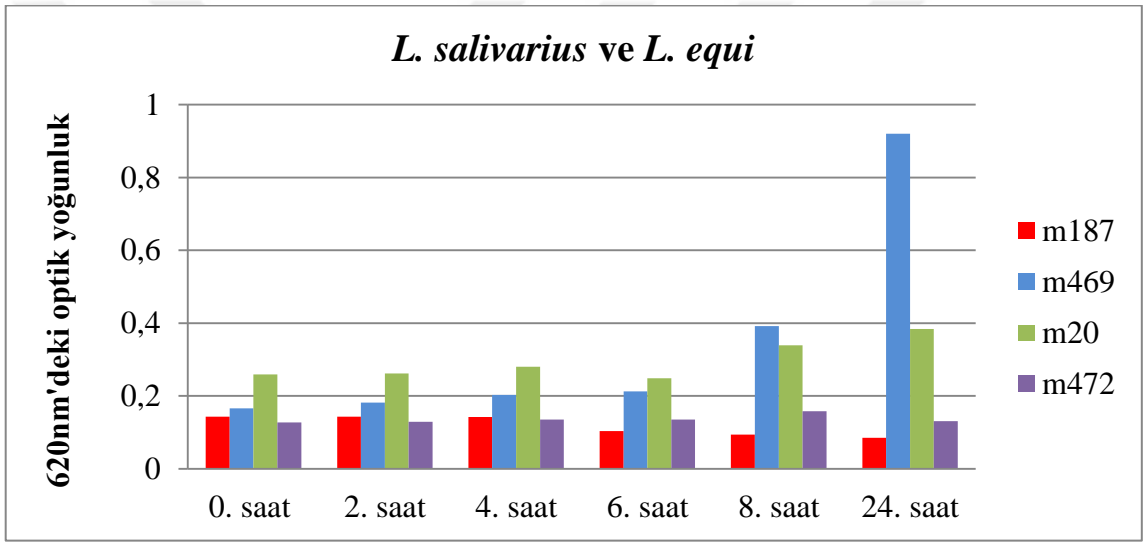
Şekil 4.12. *L. oris* ve *L. kefirgranum* izolatlarına ait süreye bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları

L. kalixensis izolatı: m473; *L. oris* izolatı: m447; *L. kefirgranum* izolatı: m3



Şekil 4.13. *L. fermentum* izolatlarına ait süreyle bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları

L. fermentum izolatları: 485, m384, m460



Şekil 4.14. *L. salivarius* ve *L. equi* izolatlarına ait süreyle bağlı pH 2,5'deki optik yoğunlukları

L. salivarius izolat: m187, m469; *L. equi* izolatları: m20, m472

İzolatların zamana karşı pH 2,5'de gelişimleri incelendiğinde 38 izolatın 24 saat boyunca canlılıklarını koruyabildikleri, 4 izolatın 0-2. saat aralığında canlılıklarını kaybettikleri, 4 izolatın canlılıklarını 2-4. saate kadar koruyabildikleri ve 4 izolatın canlılıklarını 4-6. saate kadar koruyabildikleri tespit edilmiştir. m28 (*L. sanfrancisco*) numaralı izolatın ise 0-2. saat aralığında canlılığını kaybetmesine rağmen 8. saatte gösterdiği artışın kontaminasyon kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Shafakatullah ve Chandra (2014) tarafından yapılan çalışmada manda sütlerinden izole ederek tanımlanmasını gerçekleştirdikleri *L. acidophilus*, *L.rhamnosus* ve *Bifidobacterium*

longum izolatlarının pH 2’de 3 saat süreyle canlılıklarını kontrol etmişlerdir. Üç saatin sonunda tüm izolatların canlılıklarını koruyabildiğini bulmuşlardır.

Klinberg ve ark., (2014)’nın yaptıkları çalışmada fermente sosislerden izole ettikleri laktik asit bakterilerinden 28 izolata %0.3 safra tuzu varlığında 4 saat boyunca canlılıklarını incelemişlerdir. İzolatlardan %85’inin 4 saat boyunca safra tuzu varlığında canlılığını koruduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada, bizim çalışmamıza benzer şekilde 2 saat içerisinde canlılıklarını yitiren izolatlar da tespit etmişlerdir.

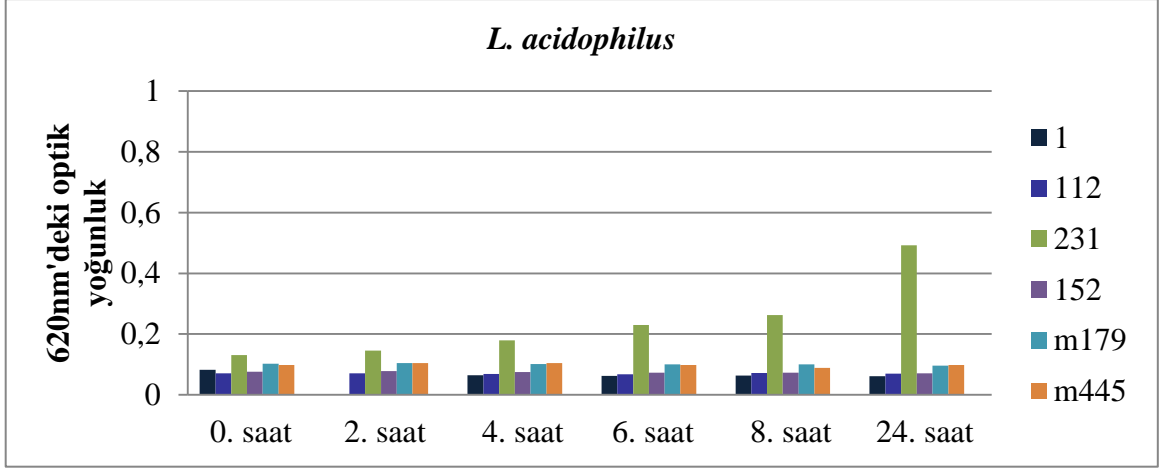
Lee ve ark. (2016)’nın Kore’nin geleneksel bir ürünü olan Kimchi’den izole ettikleri 4 laktik asit bakterisi izolatının 3 saat boyunca pH 3’de gelişimlerini takip etmişlerdir. İzolatlarından yalnızca bir tanesinin (*L. plantarum*) 3 saat içerisinde canlılığını koruyabildiğini tespit etmişlerdir.

Abushelaibi ve ark. (2017)’nin yaptıkları çalışmada deve sütünden izole ettikleri 23 LAB’nin 9 tanesinin 2 saat boyunca pH 2,0’de canlılıklarını koruduğunu tespit etmişlerdir. pH 2,5 ile yapılan çalışmalarda mikroorganizmaların midede kalış süresi olan 2 saat baz alınmıştır. Bizim çalışmamızda 32 izolat 2 saat boyunca canlılıklarını koruyabilmiştir.

4.4.2. Safra Suyuna Karşı Toleransın Belirlenmesi

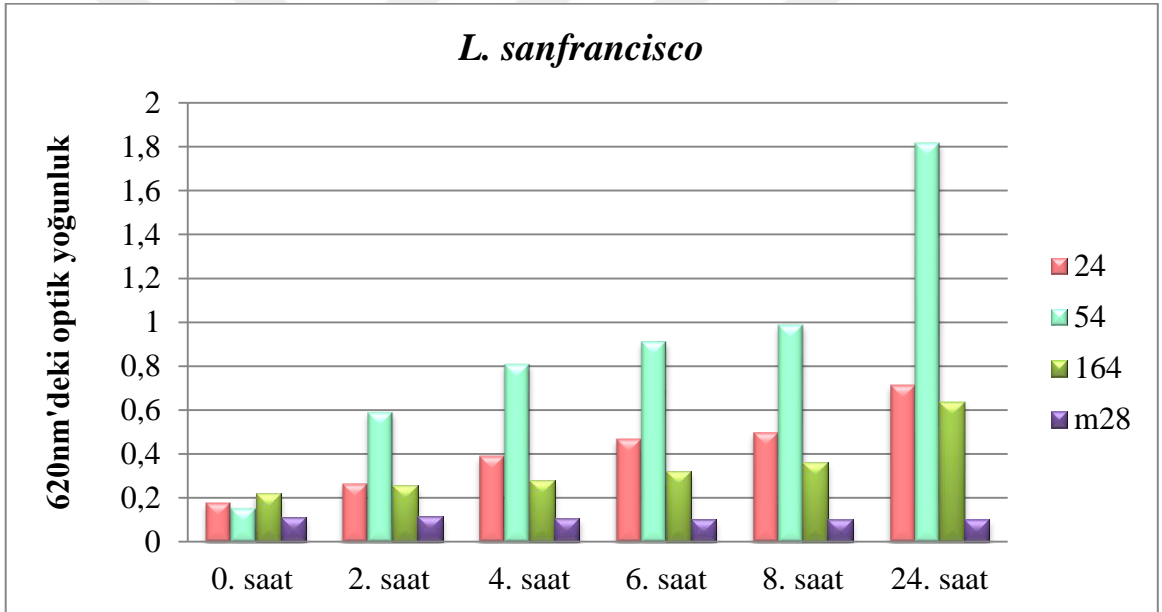
Safra suyu, yağların emülsifiye ve çözündürülmesi için karaciğerde üretilerek gerek duyulduğunda ince bağırsağa gönderilir. Safra suyunun yağlar üzerindeki etkisinden dolayı mikroorganizmaların hücre zarında bulunan yapılara zarar vererek antimikrobiyal etki oluşturmaktadır. Probiyotik mikroorganizmaların ise bağırsak epiteline tutunabilmeleri için safra tuzu varlığında canlılıklarını koruyabilmeleri gerekmektedir Yapılan çalışmalar genel olarak %0.3 safra tuzunda probiyotik mikroorganizmaların 60-180 dakika canlılıklarını koruyabildiklerini göstermektedir. (Begley var ark., 2005; Fontana ve ark., 2013).

Süreye bağlı safra tuzu varlığında gelişim değerleri sonuçları *L. acidophilus* izolatlarının Şekil 4.15’de, *L. sanfrancisco* izolatlarının Şekil 4.16’de, *L.casei spp.rhamnosus* izolatlarının Şekil 4.17’de, *L.casei spp.rhamnosus* izolatlarının Şekil 4.18’de, *L. coryniformis* izolatlarının Şekil 4.19’de, *L. plantarum* izolatlarının Şekil 4.20’de, *L. intestinalis* izolatlarının Şekil 4.21’de, *L. delbrueckii subs. lactis* ve *L. delbrueckii subs. bulgaricus* izolatlarının Şekil 4.22’de, *L. jensenii* ve *L. johnsoni* izolatlarının Şekil 4.23’de, *L. rhamnosus*, *L. reutrei*, *L. amylophilus* izolatlarının Şekil 4.24’de, *L. kalixensis*, *L. oris* ve *L. kefirgranum* izolatlarının Şekil 4.25’de, *L. fermentum* izolatlarının Şekil 4.26’de, *L.salivarius* ve *L. equi* izolatlarının Şekil 4.27’de gösterilmiştir.



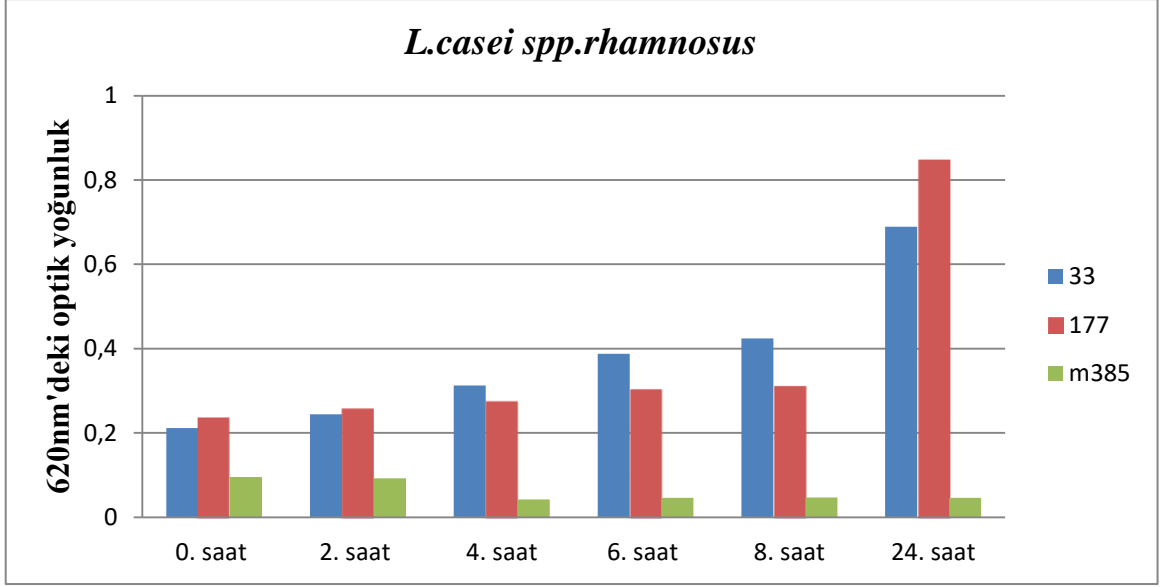
Şekil 4.15. *L. acidophilus* izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları

L. acidophilus izolatları: 1, 112, 231, 152, m179, m,445



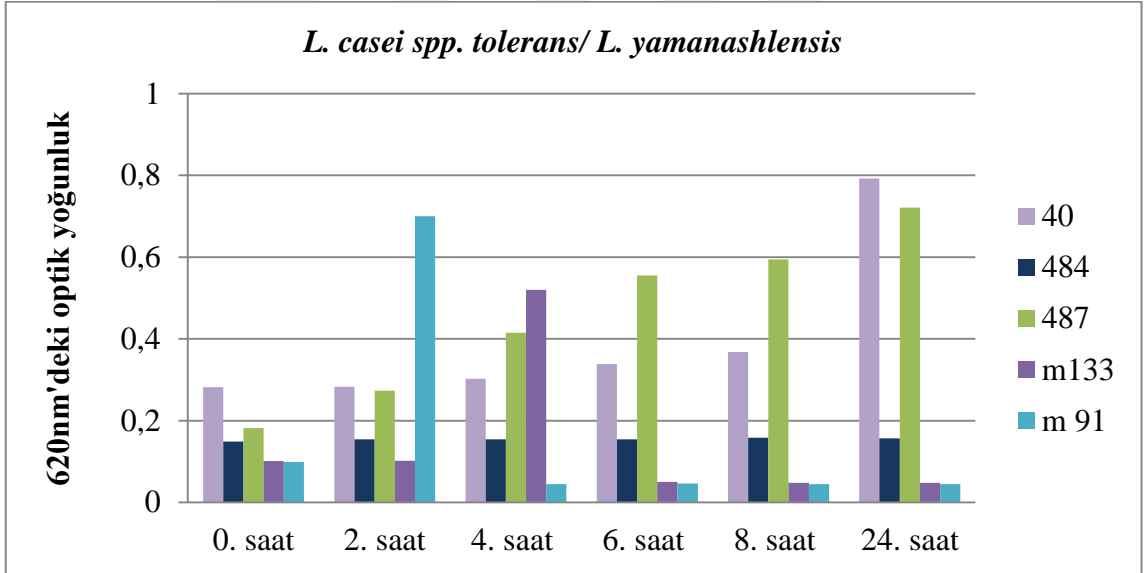
Şekil 4.16. *L. sanfrancisco* izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları

L. sanfrancisco izolatları: 24, 54, 164, m28



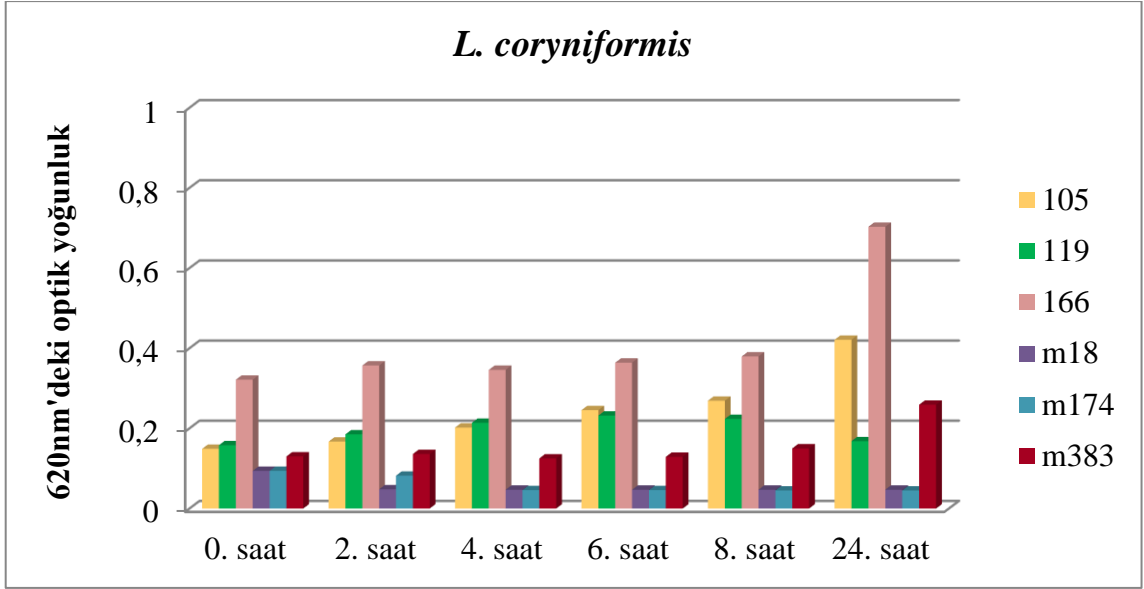
Şekil 4.17. *L.casei spp.rhamnosus* izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları

L.casei spp.rhamnosus izolatları: 33, 177, m385



Şekil 4.18. *L. casei spp tolerans/ L. yamanashlensis* izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları

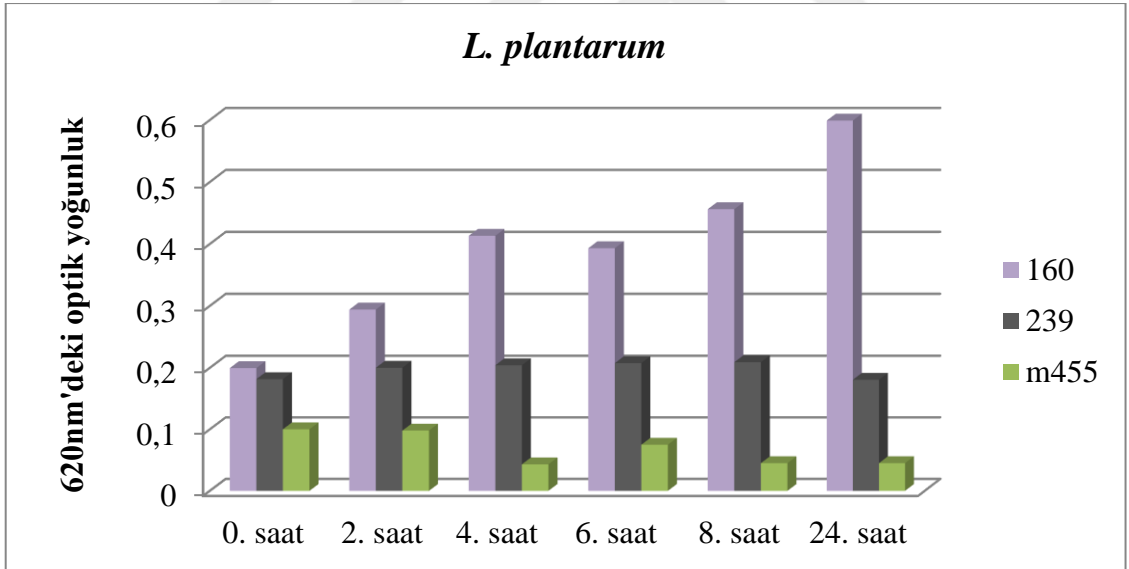
L. casei spp. tolerans / L. yamanashlensis izolatları: 40, 484, 487, m133, m91



Şekil 4.19. *L. coryniformis* izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları

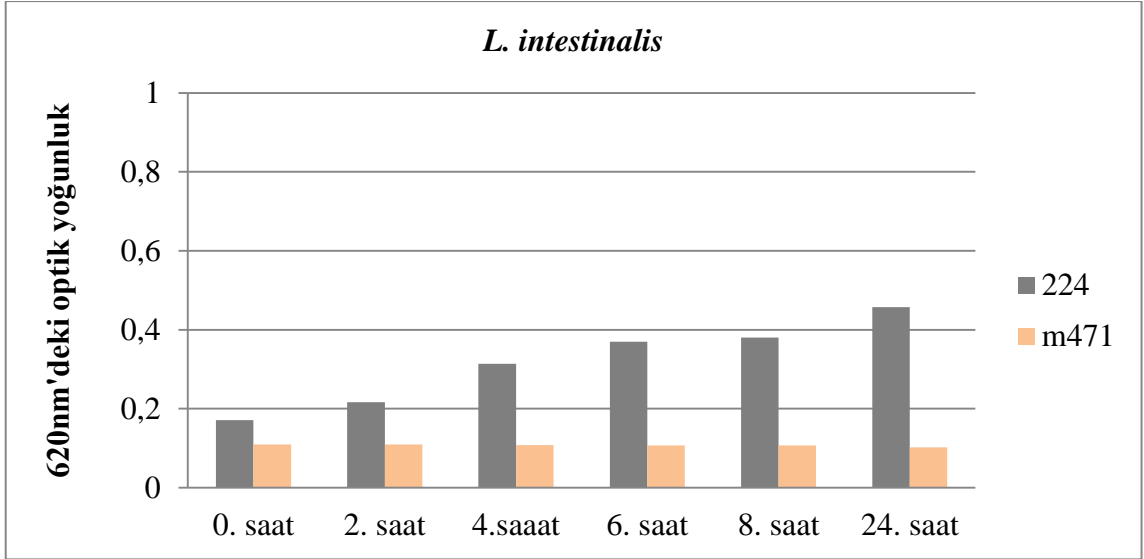
OD₆₂₀: 620 nm'deki optik yoğunluk

L. coryniformis izolatları: 105, 119, 166, m18, m174, m383



Şekil 4.20. *L. plantarum* izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları

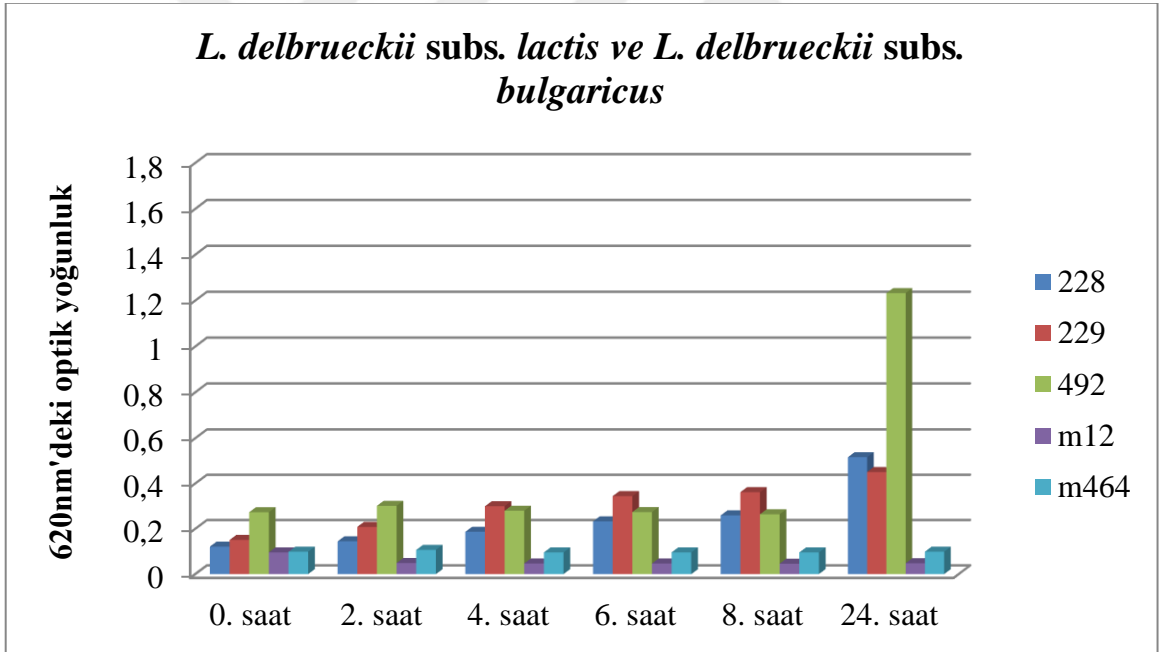
L. plantarum izolatları: 160, 239, m445



Şekil 4.21. *L. intestinalis* izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları

OD₆₂₀: 620 nm'deki optik yoğunluk

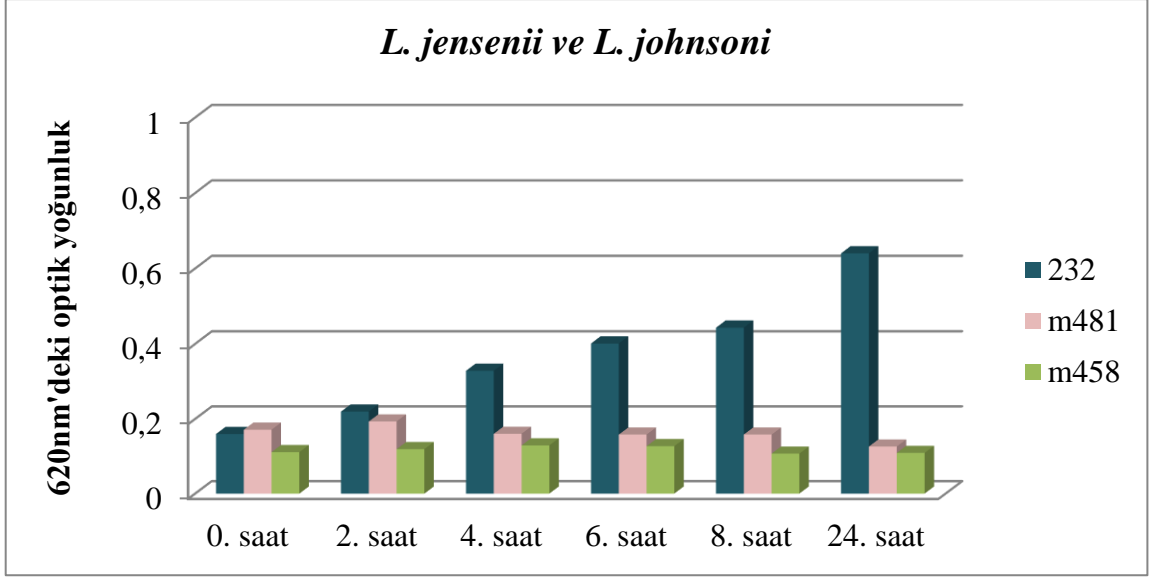
L. intestinalis izolatları: 224, m471



Şekil 4.22. *L. delbrueckii subs. lactis ve L. delbrueckii subs. bulgaricus* izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları

L. delbrueckii subs. lactis izolatları: 228, 229,

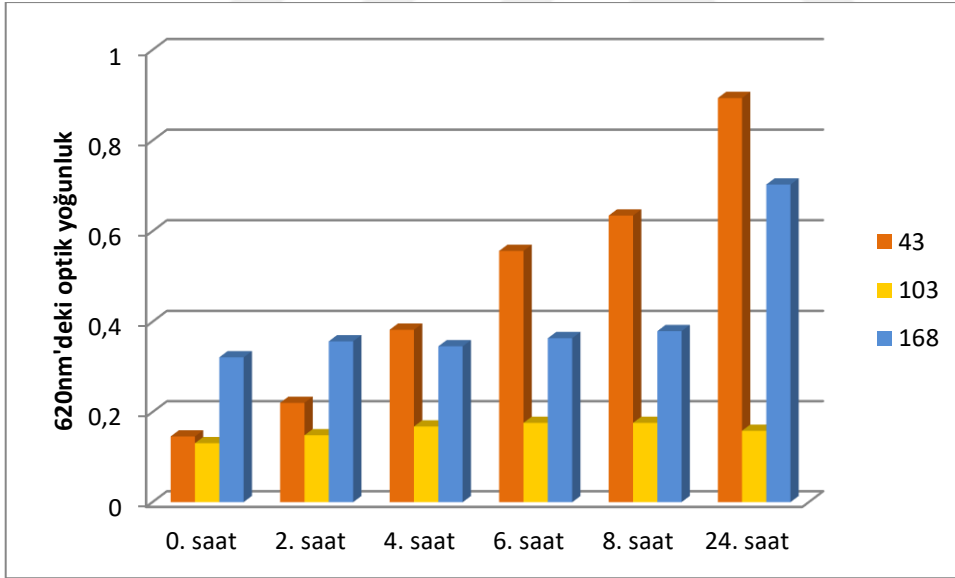
L. delbrueckii subs. bulgaricus izolatları: 492, m12, m464



Şekil 4.23. *L. jensenii* ve *L. johnsoni* izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları

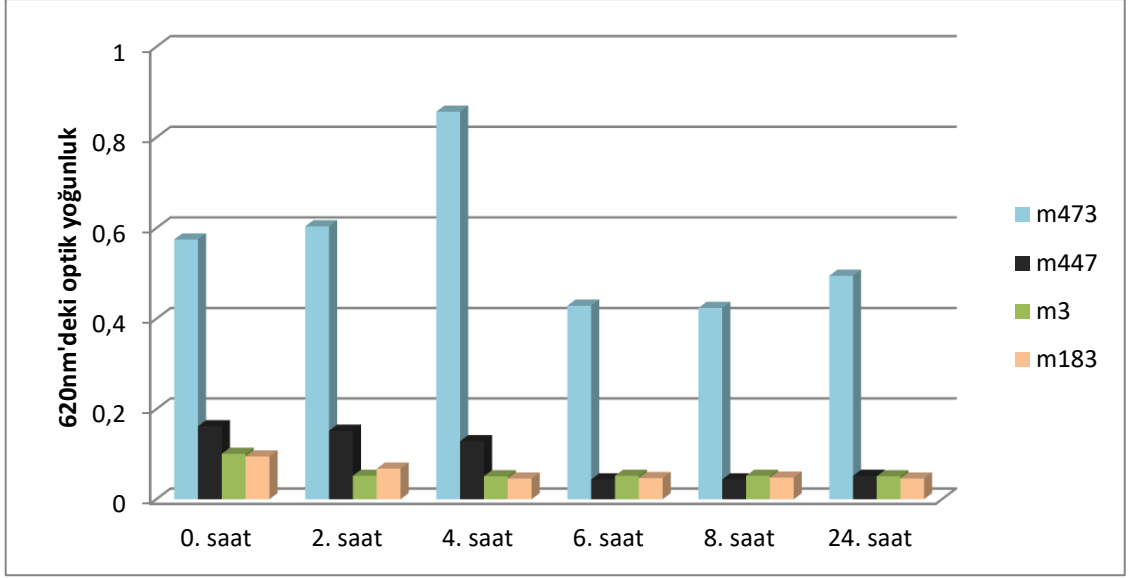
OD₆₂₀: 620 nm'deki optik yoğunluk

L. jensenii 232; *L. johnsoni*:m481, m458



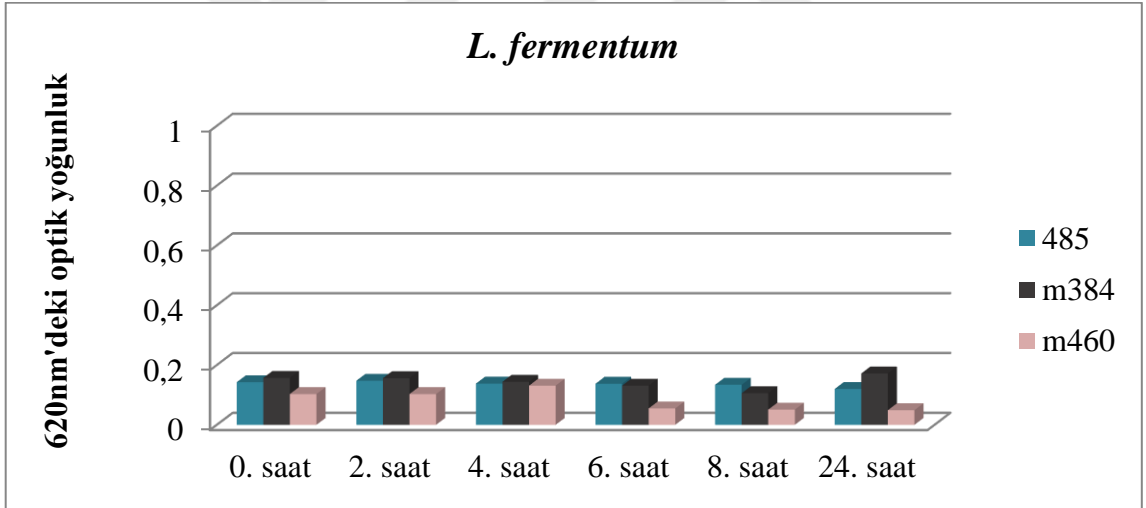
Şekil 4.24. *L. rhamnosus*, *L. reutrei*, *L. amylophilus* izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları

L. rhamnosus izolatu: 43; *L. reutrei* izolatu: 103; *L. amylophilus* izolatu: 168



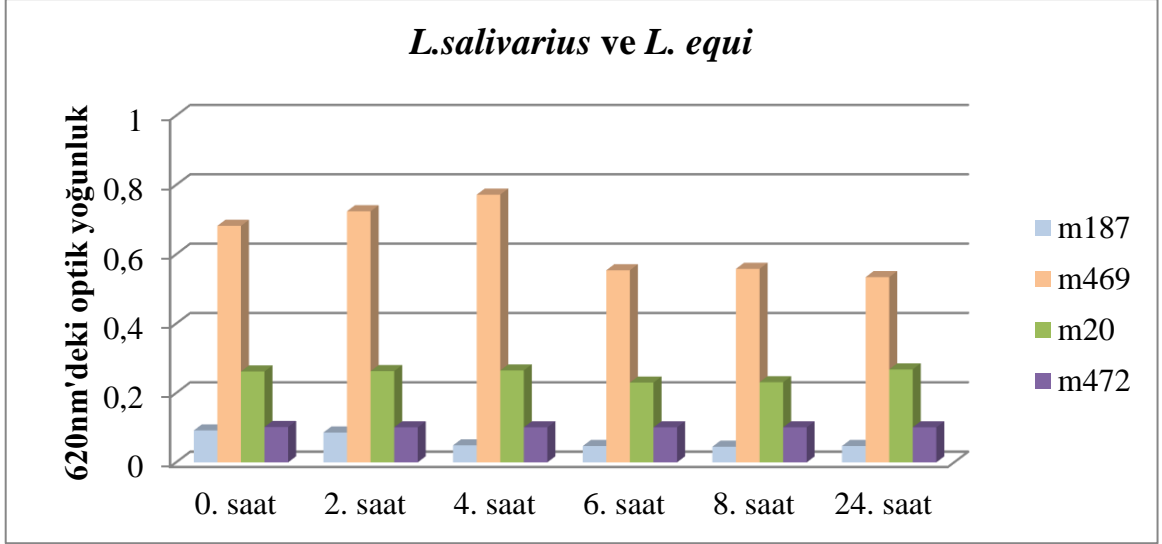
Şekil 4.25. *L. kalixensis*, *L. oris* ve *L. kefirgranum* izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları

L. kalixensis izolatu: m473; *L. oris* izolatu: m447; *L. kefirgranum* izolatu: m3



Şekil 4.26. *L. fermentum* izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları

L. fermentum izolatları: 485, m384, m460



Şekil 4.27. *L. salivarius* ve *L. equi* izolatlarına ait süreye bağlı safra tuzu varlığında optik yoğunlukları

L. salivarius izolat: m187, m469; *L. equi* izolatları: m20, m472

İzolatlara ait zamana bağlı safra tuzu varlığında gelişimler incelendiğinde 35 izolatın 24 saat boyunca canlılıklarını koruyabildiği, 5 izolatın 4-6. saate kadar canlılıklarını koruyabildiği, 5 izolatın 2-4. saate kadar canlılığını koruyabildiği ve 6 izolatın 0-2. saat aralığında canlılığını kaybettiği tespit edilmiştir.

Maragkoudakis ve ark.(2006) yaptıkları çalışmada süt ürünlerinden izole ettikleri 29 *Lactobacillus* suşlarının probiyotik potansiyelinin araştırılması için % 0.3 oranında safra tuzunda gelişme testi uygulamışlardır. Çalışma sonunda izole edilen tüm *Lactobacillus* suşlarının 4 saate kadar canlılıklarını devam ettirdiklerini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda izolatların %80'i 4. saate kadar canlılıklarını koruyabilmiştir.

Xiaodong ve ark. (2009); bebek dışkılarından izole ettikleri potansiyel probiyotik özellik taşıyan *Lactobacillus acidophilus* NIT'in pH 2-4'e ve safra tuzuna %1-3 oranında dayanıklı olduğunu bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda *Lactobacillus acidophilus* izolatlarından %66.6'sı 24 saat boyunca %0,3 oranında safra tuzu varlığında canlılığını koyuyabilmiştir.

Chowdhury ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada Bangladesh'in farklı bölgelerinden temin ettikleri manda yoğurtlarından izole edilen laktik asit bakterilerinin %0,05-0,3 oranında safra tuzuna karşı direncinin belirlendiği ve izole edilen tüm izolatların %0,3 oranında safra tuzu varlığında gelişim gösterdikleri ifade edilmektedir.

Shafakatullah ve Chandra (2014) tarafından yapılan çalışmada manda sütlerinden izole ederek tanımlanmasını gerçekleştirdikleri *L. acidophilus*, *L.rhamnosus* ve *Bifidobacterium*

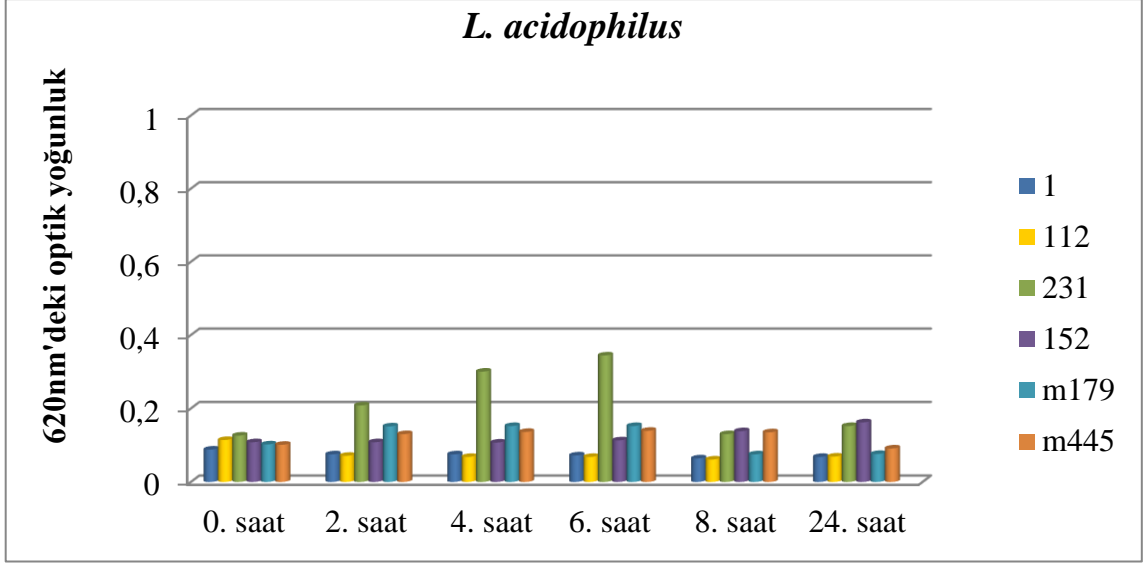
longum izolatlarının 3 saat süre ile %0,3 safra tuzu varlığında gelişimlerini incelemiştir. 3. saatin sonunda *L. acidophilus*'un diğer iki izolata göre daha dirençli olduğunu tespit etmişlerdir.

Khan ve Kang (2016) tarafından yapılan çalışmada Kore'ye ait geleneksel fermente bir ürün olan “ Kimchi”den izole edilen *L. plantarum* DGK-17 suşunun potansiyel probiyotik etkilerinin araştırıldığı ve %0,5 ile %1,5 değerlerinde gerçekleştirilen safra tuzuna direnç testinde safra tuzu konsantrasyonu arttıkça safra tuzu toleransının azaldığı ifade edilmektedir.

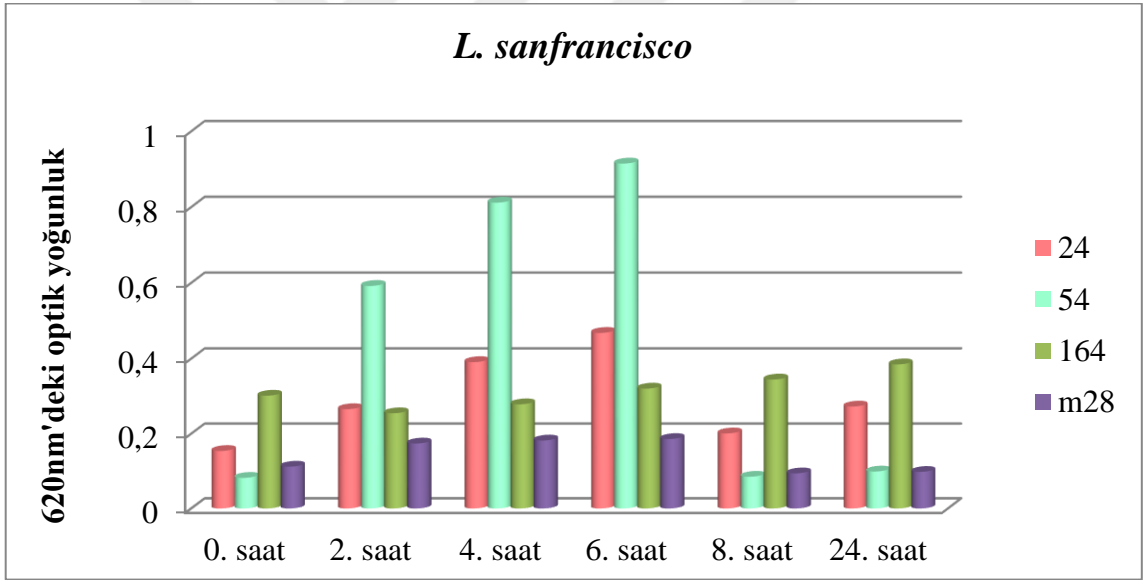
4.4.3. Fenol Varlığında Canlılık Testi

Beslenme ile alınan veya dokularda biyosentez ve yıkım olayları sırasında proteinlerden kaynaklanan bazı aminoasitler bağırsaklarda bazı mikroorganizma faaliyetleri sonucu fenoller oluşabilmektedir. Bu bileşiklerin, bazı *Lactobacillus* suşlarına karşı bakteriyostatik bir etki yapabildiği bildirilmektedir (Vizoso Pinto ve ark. 2006). Bu sebeple probiyotik potansiyeli araştırılan *Lactobacillus* suşlarının fenol varlığında canlılıklarını koruyabilme yetenekleri araştırılmıştır.

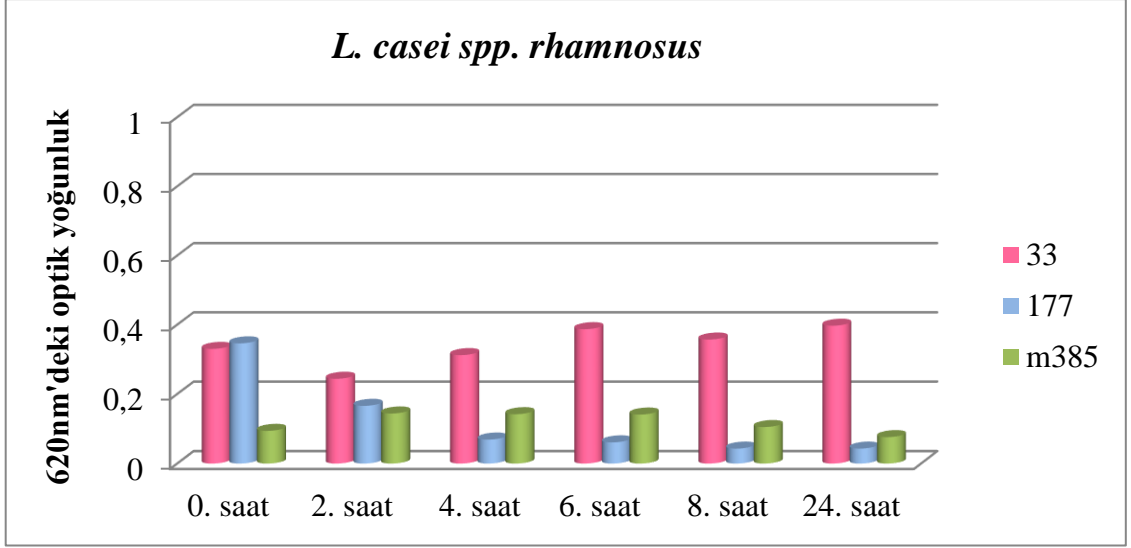
Süreye bağlı fenol varlığında gelişim değerleri sonuçları *L. acidophilus* izolatlarının Şekil 4.28'de, *L. sanfrancisco* izolatlarının Şekil 4.29'da, *L. casei spp. rhamnosus* izolatlarının Şekil 4.30'da, *L. casei spp. tolerans / L. yamanashlensis* izolatlarının Şekil 4.31'de, *L. coryniformis* izolatlarının Şekil 4.32'de, *L. plantarum* izolatlarının Şekil 4.33'de, *L. intestinalis* izolatlarının Şekil 4.34'de, *L. delbrueckii subs. lactis* ve *L. delbrueckii subs. bulgaricus* izolatlarının Şekil 4.35'de, *L. jensenii* ve *L. johnsoni* izolatlarının Şekil 4.36'de, *L. rhamnosus*, *L. reutrei*, *L. amylophilus* izolatlarının Şekil 4.37'de, *L. kalixensis*, *L. oris* ve *L. kefirgranum* izolatlarının Şekil 4.38'de, *L. fermentum* izolatlarının Şekil 4.39'da, *L. salivarius* ve *L. equi* izolatlarının Şekil 4.40'da gösterilmiştir.



Şekil 4.28. *L. acidophilus* izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları
L. acidophilus izolatları: 1, 112, 231, 152, m179, m,445

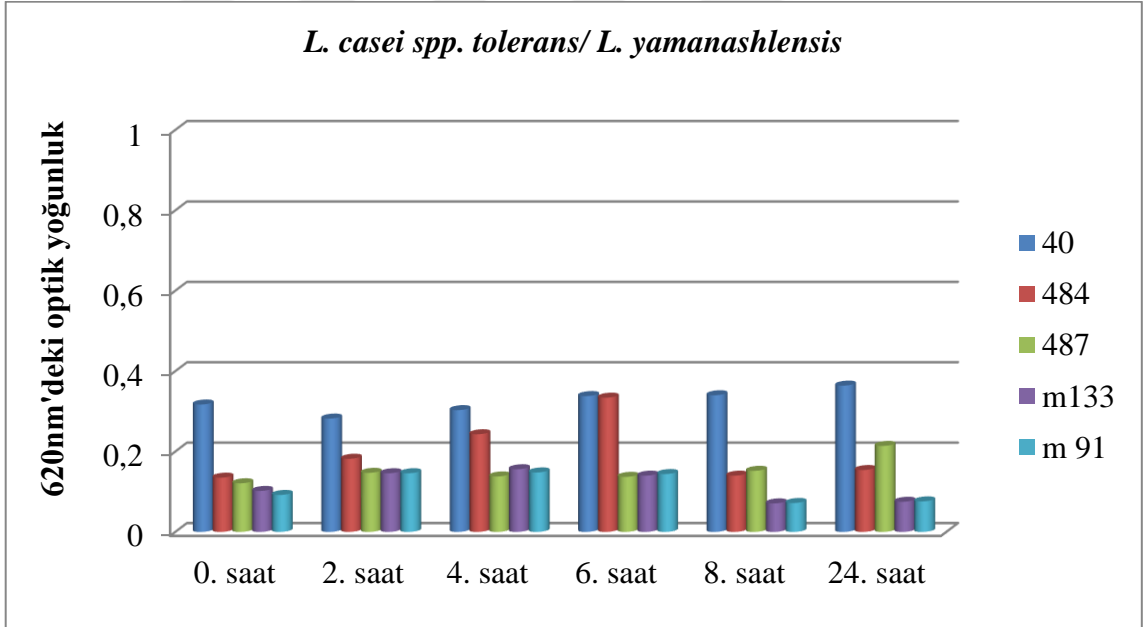


Şekil 4.29. *L. sanfrancisco* izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları
L. sanfrancisco izolatları: 24, 54, 164, m28



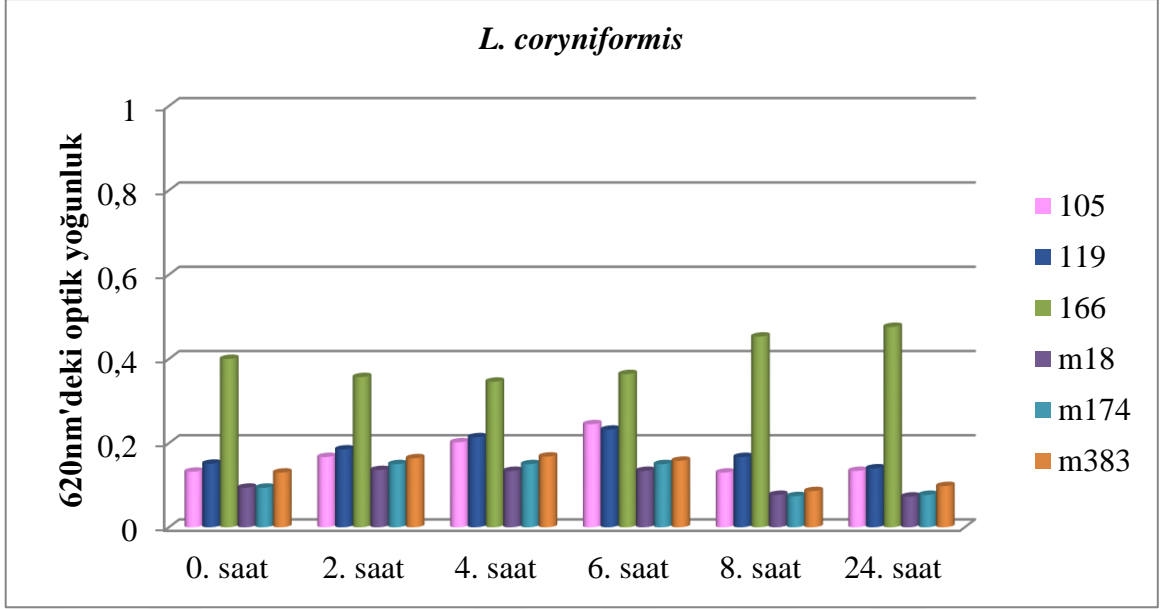
Şekil 4.30. *L. casei spp. rhamnosus* izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları

L. casei spp. rhamnosus izolatları: 33, 177, m385



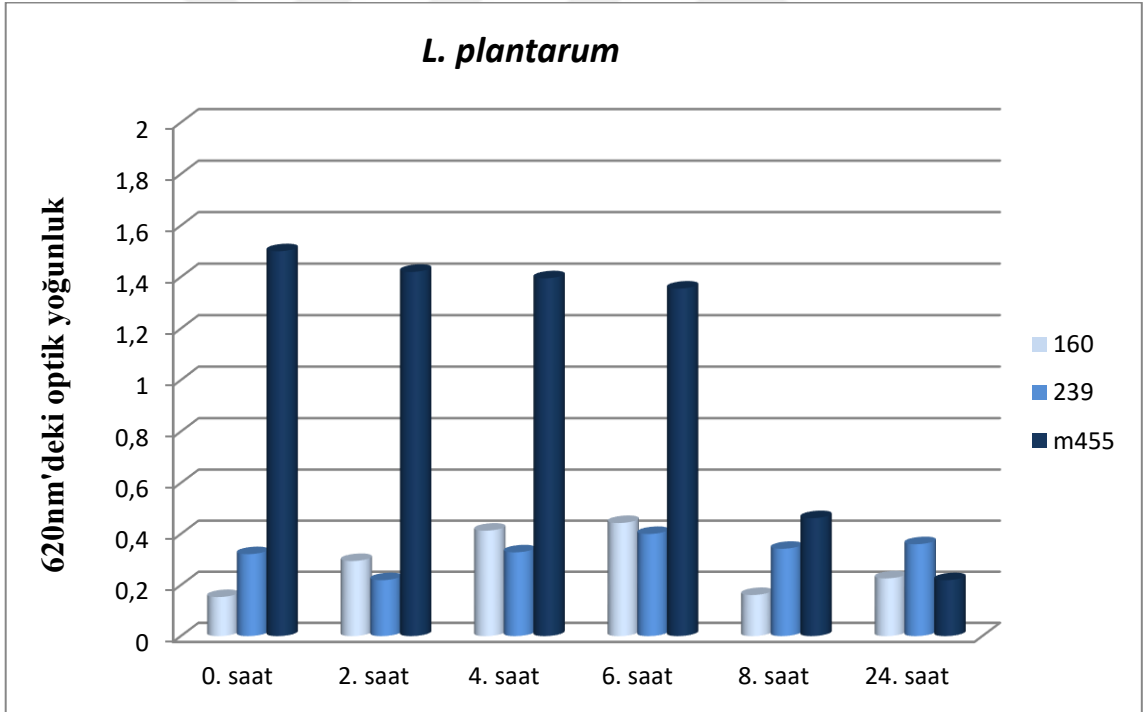
Şekil 4.31. *L. casei spp. tolerans/ L. yamanashlensis* izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları

L. casei spp. tolerans / L. yamanashlensis izolatları: 40, 484, 487, m133, m91



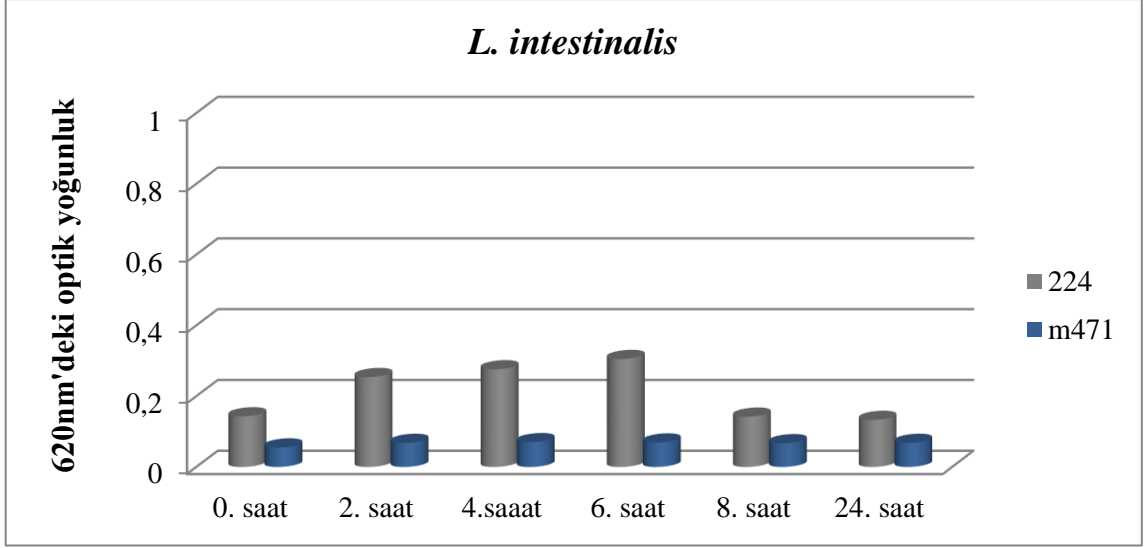
Şekil 4.32. *L. coryniformis* izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları

L. coryniformis izolatları: 105, 119, 166, m18, m174, m383



Şekil 4.33. *L. plantarum* izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları

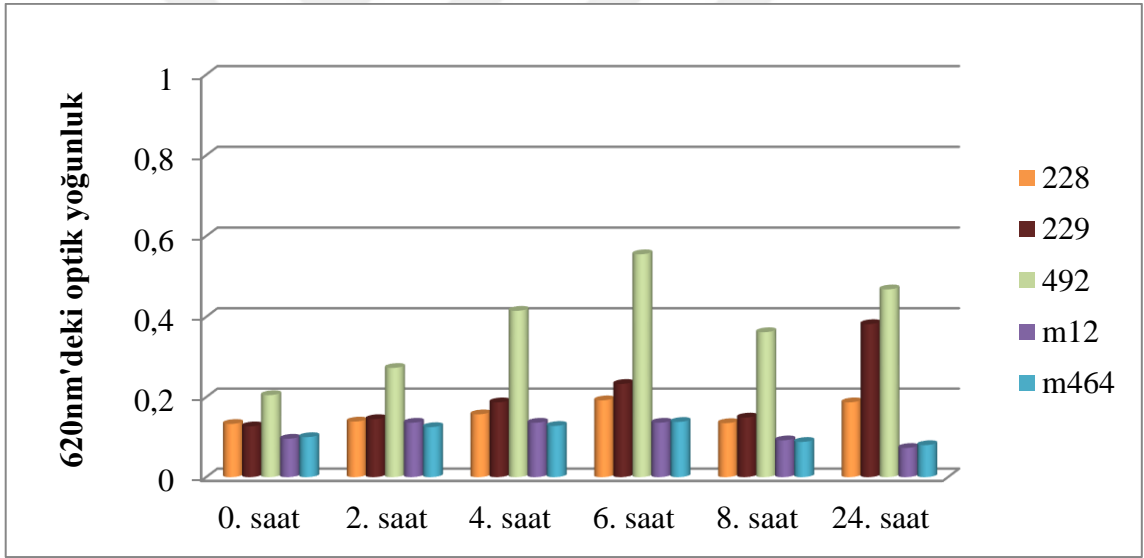
L. plantarum izolatları: 160, 239, m445



Şekil 4.34. *L. intestinalis* izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları

OD₆₂₀: 620 nm'deki optik yoğunluk

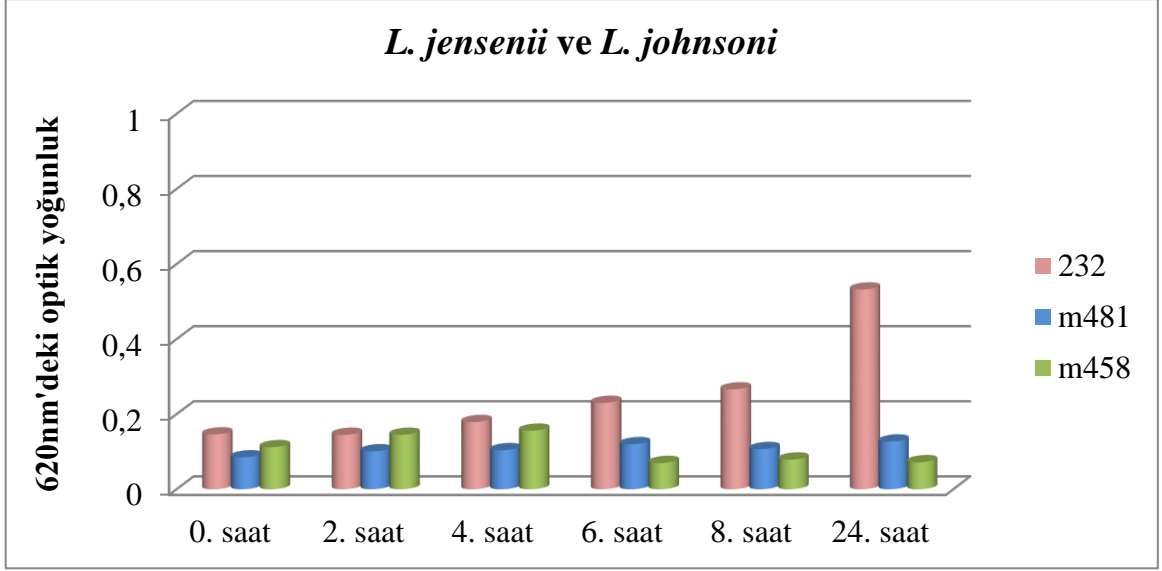
L. intestinalis izolatları: 224, m471



Şekil 4.35. *L. delbrueckii subs. lactis* ve *L. delbrueckii subs. bulgaricus* izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları

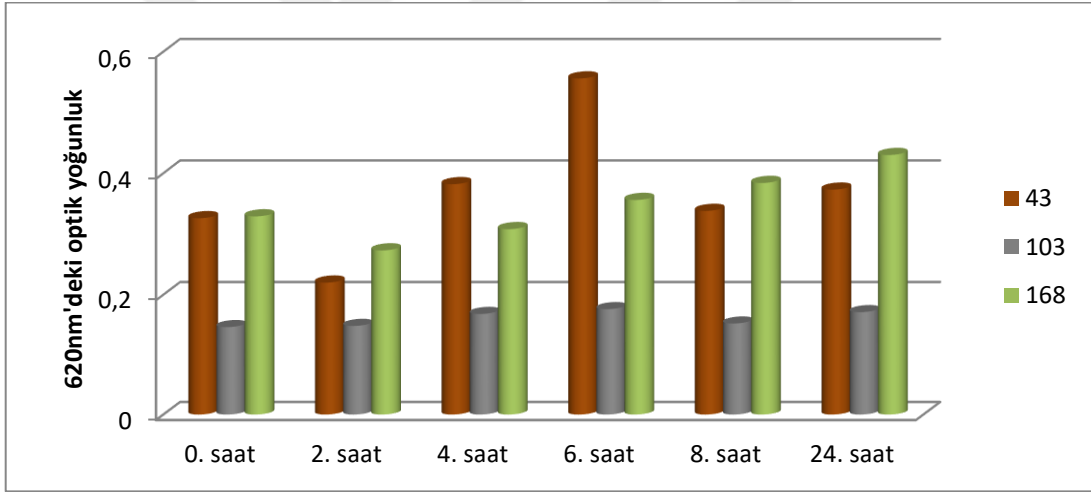
L. delbrueckii subs. lactis izolatları: 228, 229,

L. delbrueckii subs. bulgaricus izolatları: 492, m12, m464



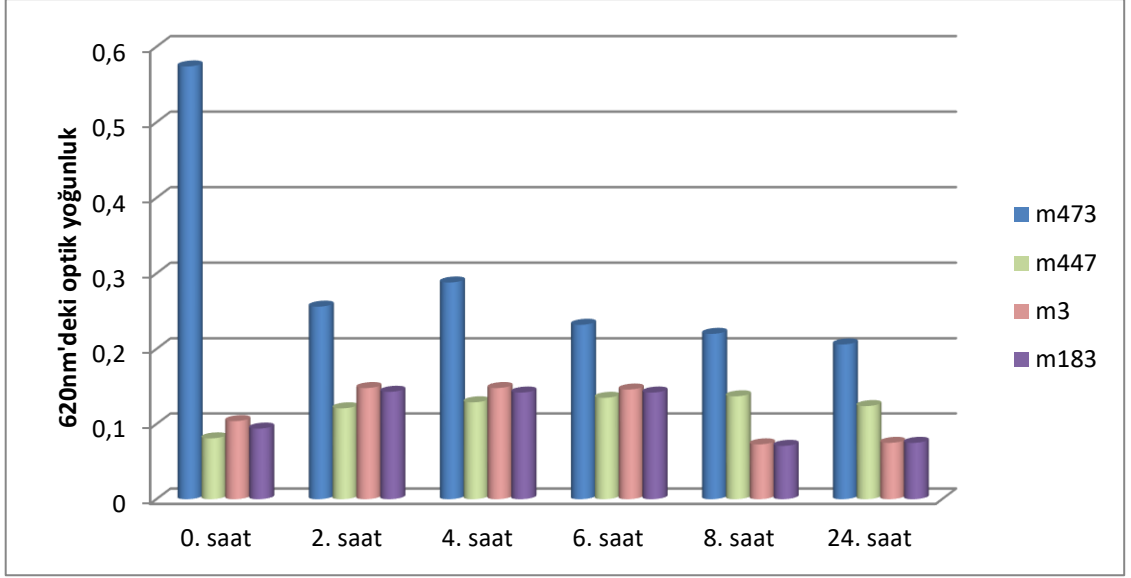
Şekil 4.36. *L. jensenii* ve *L. johnsoni* izolatlarına ait süreye bağlı fenol optik yoğunlukları

L. jensenii 232; *L. johnsoni*:m481, m458



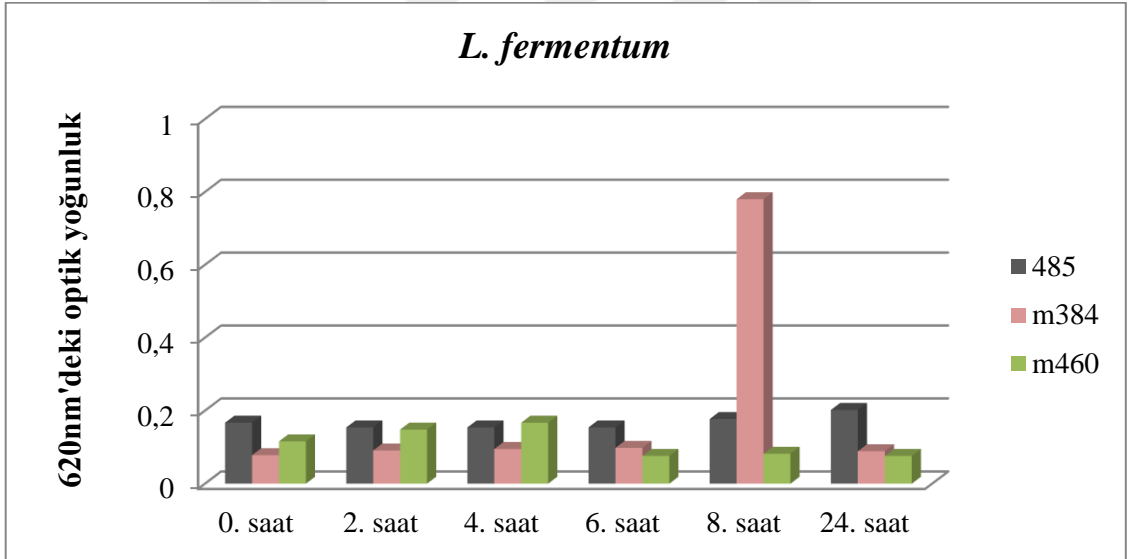
Şekil 4.37. *L. rhamnosus*, *L. reutrei*, *L. amylophilus* izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları

L. rhamnosus izolatu: 43; *L. reutrei* izolatu: 103; *L. amylophilus* izolatu: 168



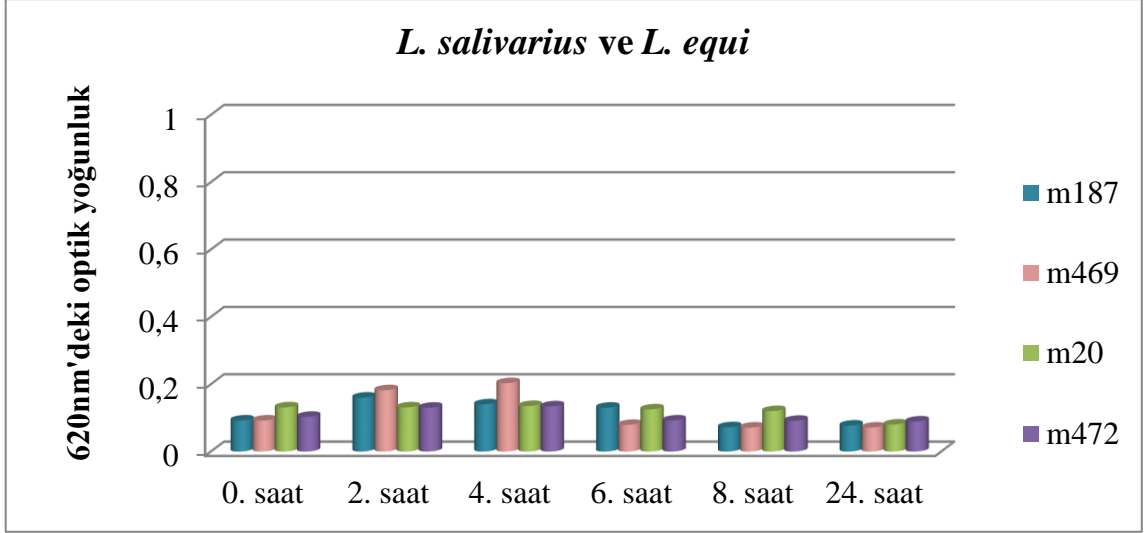
Şekil 4.38. *L. kalixensis*, *L. oris* ve *L. kefirgranum* izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları

L. kalixensis izolatu: m473; *L. oris* izolatu: m447; *L. kefirgranum* izolatu: m3



Şekil 4.39. *L. fermentum* izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları

L. fermentum izolatları: 485, m384, m460



Şekil 4.40. *L. salivarius* ve *L. equi* izolatlarına ait süreye bağlı fenol varlığında optik yoğunlukları

L. salivarius izolat: m187, m469; *L. equi* izolatları: m20, m472

İzolatların zamana bağlı fenol varlığında gelişimleri incelendiğinde 16 izolatın 24 saat boyunca canlılıklarını koruyabildiği, 1 izolatın 8-24. saate kadar canlılığını koruyabildiği, 24 izolatın 6-8. saate kadar canlılığı koruyabildiği, 3 izolatın 4-6. saate kadar canlılığını koruyabildiği, 2 izolatın 2-4. saate kadar canlılığını koruyabildiği ve 3 izolatın ise 0-2. saat içerisinde canlılıklarını kaybettiği tespit edilmiştir. 1 izolatın ise 8. saate gösterdiği hızlı gelişimin kontaminasyondan kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Vizoso Pinto ve ark. (2006)'nın insan dışkıları ve geleneksel fermente ürünlerden izole ettikleri laktik asit bakterilerinin probiyotik özelliklerinin araştırılması için izolatların 24 saat süre ile %0,4 fenol varlığında gelişim yeteneklerini incelemişlerdir. 24. saatin sonunda tüm *L. plantarum* suşlarının fenol varlığında canlılıklarını koruduğunu ve *L. johnsonii*'nin alt türlerinin fenol varlığında gelişim yeteneklerinin farklılık gösterdiğini bulmuşlardır. Çalışmamızda fenol varlığında canlılıkları test edilen izolatlardan büyük çoğunluğu Vizosa Pinto ve ark. (2006)'nın yaptıkları çalışmaya benzer şekilde sonuçlar vermiştir. Ancak *L. plantarum* ve *L. sanfrancisco* türlerine ait izolatları diğer türlere ait izolatlara göre fenol varlığında canlılıklarının daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Akman (2009) tarafından yapılan çalışmada farklı kaynaklardan elde ettiği 32 laktik asit bakterisinin %0,4 fenol içerisinde gelişimi incelenmiştir. Çalışmada sadece *L. casei* 21 adet suşu fenol varlığında canlılığını koruyabildiğini tespit etmiştir. Çalışmamız ile kıyaslandığında bu çalışmadaki test edilen suşlar canlılıklarını çok kısa süre ile koruyabilmişlerdir.

Forhad ve ark. (2015)'nin mozarella peynirinden izole ettikleri laktik asit bakterilerine uyguladıkları 24 saat süre ile fenol varlığında canlılık testinde ise 4 izolattan 3'ünün %0,4 oranında fenol içeren besiyerinde canlılıklarını koruyabildiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca yaptıkları çalışmada farklı konsantrasyondaki fenol varlığının test edilen mikroorganizmaların gelişimleri üzerinde farklar oluşturduğunu ifade etmişlerdir.

4.4.4. Safra Tuzu Hidrolaz (BSH) Aktivitesi

Safra tuzu hidrolaz enzimi (BSH) konjuge glisin veya taurinin hidrolizini katalizleyerek bunları aminoasitlere ve serbest safra tuzlarına dönüştürmektedir. Safra tuzlarının dekonjugasyonu ile safra tuzlarının enterohepatik dolaşımı engellenmiş ve bu sayesinde serum kolesterol seviyesinde düşme oluşmaktadır (Alp ve Ertürkmen, 2017; Abushelaibi ve ark., 2017).

Sindirim koşullarında canlılık göstererek probiyotik olma ihtimali belirlenen 26 izolata ait safra tuzu hidrolaz aktivitesi çökeltme zonları Çizelge 4.18'de gösterildiği gibi ölçülmüştür. Analize alınan tüm izolatlarda değişen miktarlarda olsa da tamamında safra tuzu hidrolaz aktivitesi gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.18. Safra tuzu hidrolaz testi ölçülen zon çapları

İzolot no	Zon çapı (mm)	İzolot no	Zon çapı (mm)
m20	10,75 ± 1,50	24	11,50 ± 0,57
m28	12,50 ± 0,57	33	10,25 ± 0,50
m179	10,75 ± 0,95	43	13,0 ± 0,81
m383	11,25 ± 0,95	168	15,25 ± 1,25
m384	15,0 ± 1,82	224	12,25 ± 0,95
m455	11,75 ± 0,95	231	11,0 ± 0,81
m458	9,50 ± 0,57	229	13,0 ± 1,15
m464	10,75 ± 0,95	232	9,50 ± 0,57
m469	13,0 ± 0,81	439	9,25 ± 0,95
m471	12,75 ± 0,95	470	13,25 ± 0,95
m472	11,25 ± 0,50	487	12,25 ± 0,50
m473	11,50 ± 0,57	489	15,75 ± 0,95
m481	8,75 ± 0,95	492	12,75 ± 2,21

Bautista ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada zeytinlerden izole ettikleri laktik asit bakterilerinden potansiyel probiyotikleri araştırmışlardır. Çalışmaları sonucunda izolatların hiç birinde safra tuzu hidrolaz aktivitesine rastlamamışlardır. Bu çalışmanın aksine Abushelaibi ve ark. (2017) deve sütünden izole ettikleri laktik asit bakterilerinin tümünün

serbest kolik asit üreterek araştırılan safra tuzlarının her birini hidrolize edebilme yeteneğini gösterdiğini bulmuşlardır.

Vizoso Pinto ve ark. (2006)'nın yaptıkları çalışmada geleneksel fermente ürün ve insan dışkılarından elde ettikleri ve sindirim sistemi içerisinde canlılıklarını korumayı başarabilen tüm izolatlarının ayrıca safra tuzu hidrolaz aktivitesine de sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Mathara ve ark. (2008) tarafından Kenya'ya ait geleneksel bir süt ürününden izole edilen 7 *L. acidophilus* suşundan 5 tanesinin safra tuzu hidrolaz aktivitesi gösterdiğini belirlemişlerdir. Çalışmamız sırasında BSH aktivitesi araştırılan 2 *L. acidophilus* izolatının ikisinin de BSH aktivitesi gösterdiği bulunmuştur.

Akman (2009)'ın 18 izolat üzerinde gerçekleştirdiği safra tuzu hidrolaz testi sonucunda izolatlardan 7 tanesinin safra tuzu hidrolaz aktivitesi gösterdiğini bulmuşlardır. BSH aktivitesi gösteren izolatların oluşturdukları zon çapları çalışmamız ile karşılaştırıldığında ortalama olarak daha düşük bulunmuştur.

4.4.5. Antibiyotik Hassasiyeti

Laktik asit bakterileri GRAS statüsünde yer alsalar da probiyotik olarak kullanılabilmesi için antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi FAO /WHO (2002) tarafından önerilmektedir. Probiyotik suşların temel şartı, aktarılabılır antibiyotik direnç genleri taşımamalarıdır. Bu genleri taşıyan bakterilerin tüketilmesi istenmemektedir. Bunun sebebi bağırsaktaki patojen bakterilere yatay gen transferi ile antibiyotiğe dirençli patojenlerin oluşuna yol açabilmeleridir (Zhou ve ark., 2007). Özellikle günümüzde artan antibiyotik kullanımı ile pek çok patojen türün farklı antibiyotiklere karşı direnç gösterdiği ifade edilmektedir (Liu ve ark., 2014; Meral ve Korukoğlu, 2014).

Çalışmamızda düşük pH değerine direnç, safra tuzu varlığında gelişim ve fenol varlığında canlılık gösteren veya canlılığını koruyan izolatlardan her bir potansiyel probiyotik suşunu temsil edecek şekilde 13 adet MRS Agar ve 13 adet M-17 Agar izolatlarından seçilerek antibiyotik hassasiyetleri belirlenmiştir. İzolatlara ait antibiyotik hassasiyeti sonuçları Çizelge 4.19'daki gibi değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.19. İzolatlara ait antibiyotik hassasiyetleri sonuçları

İzolot no	Amp 10 µg	P 10 µg	KF 30 µg	VA 30 µg	CN 10 µg	TE 30 µg	C 30 µg	E 15 µg	RD 5 µg	NV 30 µg
m20	S	S	S	R	R	S	S	S	MS	S
m28	S	MS	S	R	R	S	S	S	MS	R
m179	S	R	MS	MS	R	R	S	R	R	R
m383	S	MS	S	MS	R	S	S	S	S	R
m384	S	R	MS	R	R	S	S	S	S	R
m455	S	R	S	R	S	S	S	S	R	R
m458	R	S	R	R	S	R	S	R	MS	MS
m464	S	R	R	R	S	S	S	R	S	R
m469	S	R	R	R	S	S	MS	R	S	R
m471	S	R	MS	R	R	S	MS	R	R	R
m472	S	S	S	R	S	MS	S	S	MS	R
m473	S	R	R	R	S	MS	S	R	S	R
m481	S	R	R	R	R	S	S	R	R	S
24	S	MS	R	S	S	R	S	R	R	MS
33	S	S	MS	MS	S	S	S	S	MS	S
43	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
168	S	MS	S	S	S	R	S	R	R	R
224	S	MS	R	MS	S	R	R	R	R	MS
231	S	MS	R	MS	S	R	R	R	R	R
229	S	S	MS	MS	S	R	R	R	R	R
232	S	S	R	MS	R	R	S	R	R	MS
439	S	MS	R	MS	S	S	R	R	R	MS
470	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R
487	S	MS	MS	R	R	S	S	S	R	S
489	S	S	S	R	R	S	R	R	S	R
492	S	MS	MS	S	R	S	R	S	S	S

AMP: Ampicillin, P: Penicillin, KF: Cephalothin, VA: Vancomycin CN: Gentamicin, TE: Tetracycline, C: Chloramphenicol, E: Erythromycin, RD: Rifampicin, ,NV: Novobiocin, Dirençli (R), orta dereceli hassas (MS) ve hassas (S)

Antibiyotik hassasiyeti değerlendirilen izolatların tamamı en az 2 farklı antibiyotiğe karşı direnç göstermiştir. Antibiyotikler açısından değerlendirildiğinde izolatlardan 23'ünün Ampisilin'e ,17'sinin Chloramphenicol'a ve 15'inin Tetrasiklin'e hassas olduğu, 17'sinin Vancomycin'e, 15'inin Erytromycin ve Vancomycin'e dirençli olduğu tespit edilmiştir. Diğer test edilen antibiyotiklerin hassasiyetlerinin değişiklik gösterdiği görülmüştür.

Yapılan çalışmalar genel olarak laktik asit bakterilerinin Ampisilin'e karşı duyarlı olduğunu göstermektedir. (Korhonen, 2010; Lee ve ark., 2016; Banerjee ve ark., 2017). Sharma ve ark. (2017) ve Sukmarini ve ark. (2014) yaptıkları çalışmalarda izole ettikleri laktik asit bakterilerinin tamamının Eritromisin ve Kloromfenikol'e karşı dirençli olduğunu

bulmuşlardır. Eritromisin üzerine yapılan bir başka çalışmada ise izolatların tamamının Eritromisin'e karşı hassas olduğu bulunmuştur (Abushelaibi ve ark., 2017). Laktik asit bakterilerinin Gentamisin'e olan dirençleri ise değişiklik göstermektedir (Sharma ve ark., 2017; Domingos-Lopes ve ar., 2017; Banerjee ve ark., 2017). Vankomisin ile yapılan çalışmalar da genel olarak laktik asit bakterilerinin Vankomisine karşı dirençli olduğunu göstermektedir (Ocana ve ark., 2006; Liu ve ark., 2009; Lee ve ark., 2016; Banerjee ve ark., 2017). Charteris ve ark. (1998) ve Abushelaibi ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmalarda tüm laktik asit bakterisi izolatlarının Penisilin'e hassas olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca Domingos-Lopes ve ark. (2017) tarafından yaptıkları çalışmada basil şeklindeki laktik asit bakterilerinin Rifampisin ve Tetrasiklin antibiyotiklerine karşı dirençli olduğunu belirlemişlerdir. Zhou ve ark., (2007) ise tüm laktik asit bakterisi izolatlarının Novabiyosin'e karşı hassasiyet gösterdiğini tespit etmişlerdir. Kloramfenikol, Tetrasiklin ve Rifampisin ile yapılan diğer çalışmaların aksine Lee ve ark. (2016)'nın yaptıkları çalışmada tüm izolatlar bu üç antibiyotiğe karşı hassasiyet göstermiştir.

4.4.6. Kolesterol Asimilasyon Testi

Kandaki kolesterol miktarı artışı pek çok sağlık sorunu ile ilişkilendirilmektedir. Özellikle kan damarları içerisinde biriken kolesterol damar tıkanıklıkları ve hatta ölüm ile sonuçlanabilecek kalp krizlerine neden olmaktadır. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki pek çok probiyotik mikroorganizma kolesterol seviyesinin düşürülmesine yardımcı olmaktadır (Liong ve Shah, 2005; Tok, 2007; Ding ve ark., 2017).

Kolesterol asimilasyonu testi gerçekleştirilen izolatlara ait 24 saat sonundaki kolesterol giderimleri spektrofotometre ölçümleri ve % kolesterol giderimleri Çizelge 4.18'de gösterildiği gibidir.

Çizelge 4.19. İzolatlara ait kolesterol giderimleri sonuçları

İzolot no	MRS+Kolesterol+Oxgall		MRS+Kolesterol+NA_TCDA		İzolot no	M-17 +Kolesterol+Oxgall		M-17 +Kolesterol+NA_TCDA	
	OD ₅₅₀	% asimilasyon	OD ₅₅₀	% asimilasyon		OD ₅₅₀	% asimilasyon	OD ₅₅₀	% asimilasyon
m469	0,122	86,59	0,071	92,19	229	0,085	91,14	0,089	88,58
m383	0,139	84,72	0,082	90,98	487	0,086	91,04	0,079	89,87
m458	0,111	87,8	0,117	87,14	470	0,094	90,2	0,078	90
m471	0,113	87,58	0,079	91,31	489	0,096	90	0,08	89,74
m179	0,096	89,45	0,071	92,13	439	0,109	88,64	0,08	89,74
m454	0,103	88,68	0,121	86,7	492	0,096	90	0,077	90,12
m464	0,105	88,46	0,088	90,32	232	0,093	90,31	0,081	89,61
m385	0,096	89,45	0,135	85,16	24	0,093	90,31	0,082	89,48
m472	0,098	89,23	0,075	91,75	33	0,096	90	0,088	88,71
m20	0,098	89,23	0,077	91,53	43	0,093	90,31	0,084	89,23
m473	0,106	88,35	0,071	92,13	231	0,108	88,75	0,084	89,23
m28	0,193	78,79	0,177	80,54	168	0,098	89,79	0,073	90,64
m481	0,101	88,9	0,085	91,23	224	0,096	90	0,073	90,94

OD₅₅₀ : 550 nm'deki optic yoğunluk, NA_TCDA: Sodyum taurodeoxykolat, % asimilasyon: köre karşılık kolesterol asimilasyon yüzdesi.

İzolatlara ait % kolesterol gideriminin hesaplanabilmesi için Tok, (2007) tarafından belirtilen hesaplama yöntemi kullanılmıştır. İzolatlar genel olarak değerlendirildiğinde 24 saatin sonunda en düşük %78,79 oranında en yüksek %92,19 oranında kolesterol giderimi sağlamıştır. En yüksek kolesterol giderimi sağlayan m469 suşunun aynı zamanda yüksek safra tuzu hidrolaz aktivitesine sahip olduğu gözlemlenmiştir. 489 numaralı izolatın ise en yüksek safra tuzu hidrolaz aktivitesi ile %90 oranında kolesterol giderimi sağladığı gözlemlenmiştir. m481 numaralı izolatın ise BSH aktivitesi çok düşük seviyede iken kolesterol asimilasyon yüzdesi yüksek bulunmuştur. Tüm izolatlar incelendiğinde kolesterol asimilasyonu ile safra tuzu hidrolaz aktivitesi arasında doğrudan bir ilişki olmadığı sonucuna varılmıştır. Çalışmada kullanılan ve kolesterole ilave edilen iki farklı safra tuzu arasında farklılık gözlenmemiştir.

Liong ve Shah (2005)'nin yaptıkları 11 farklı izolat üzerinde gerçekleştirdikleri kolesterol asimilasyonu çalışması sırasında tüm suşların 12.03 - 32.25 µg / mL arasında değişen seviyelerde değişen seviyelerde kolesterolü asimile edebildiğini tespit etmişlerdir.

Akman (2009) tarafından yapılan çalışmada kolesterol asimilasyon yeteneği test edilen üç izolatın üçünde bizim çalışmamıza benzer şekilde kolesterol asimilasyonu sağlamıştır.

Ding ve ark. (2017) *L. plantarum* suşu üzerinde yaptığı kolesterol asimilasyonu çalışmalarında izolata ait kolesterol gideriminin ortalama olarak %73 olduğunu tespit etmişlerdir ve çalışmamızla kolesterol giderim ortalamasının Ding ve ark., (2017) kıyasla yüksek olduğu görülmektedir.

Angmo ve ark., (2016) tarafından Hindistan'a özgü bir peynir ve arpa esaslı biradan izole ettikleri laktik asit bakterileri üzerine yaptıkları çalışmada diğer çalışmaların aksine izotların kolesterol asimilasyon seviyesi en çok %38'e kadar çıkabilmiştir.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzde sağlıklı beslenmeye olan ilgi giderek artmaktadır. Özellikle sağlık açısından pek çok olumlu etki oluşturan probiyotik ürünlerin tüketimi ve çeşitliliği giderek artmaktadır. Fermente süt ürünleri probiyotik mikroorganizmaların gelişimi için uygun besin ortamını barındırması sebebi ile probiyotik ürünlerin önemli bir bölümünü oluşturmaktadır.

Manda sütü ürünleri ise aromatik özellikleri sebebi ile pek çok ülkede giderek artan bir işleme kapasitesine sahiptir. İnek sütünün probiyotik özelliklerinin araştırılması üzerine pek çok çalışma bulunurken, manda sütünün probiyotiklerinin araştırılması ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Ancak manda sütü de tıpkı inek sütü gibi probiyotik bakteriler için potansiyel bir kaynak olabilir. Manda sütü ürünleri manda sütünün besleyici kimyasal içeriği ve barındırdığı muhtemel probiyotik bakteriler düşünüldüğünde günlük tüketim açısından geliştirilmesi gereken bir endüstriyi oluşturmaktadır.

Gerçekleştirdiğimiz çalışmada Türkiye'nin farklı illerinden temin edilen manda sütü ile yapılmış beyaz peynir, mozzarella peyniri ve yoğurt örneklerinde bulunan laktik asit bakterisi sayıları iki farklı besiyeri ile belirlenmiştir. Laktik asit bakterisi açısından analize alınan 3 örnek tipi laktik asit bakterisi yükü açısından karşılaştırıldığında en yüksek klasik tip manda peynir örnekleri ($1,85 \times 10^8$ kob/g) iken, ikinci sırada mozzarella peynir örnekleri ($8,89 \times 10^7$ kob/g) ve son olarak yoğurt örnekleri ($1,12 \times 10^7$ kob/g) şeklinde sıralanmaktadır.

Elde edilen laktik asit bakterilerinden izolatlar alınmış ve izolatların fenotipik olarak tanımlaması gerçekleştirilmiştir. 139 tane basil şekilli laktik asit bakterisinden, 37 farklı tür tanımlanmıştır. Tanımlanan türler içerisinde baskın olarak 18 (%15,12) tanesi *L. acidophilus*, 12 (%10,08) tanesi *L. casei*, 11 (%9,24) tanesi *L. delbrueckii* olarak bulunmuştur. Tanımlanması gerçekleştirilen 103 adet kok veya kokoid şeklindeki izolatlardan baskın olarak 16 (15,53) tanesi *Enterococcus faecium*, 16 (15,53) tanesi *Leuconostoc lactis*, 9 (%8,73) tanesi *Lactococcus lactis* bulunmuştur.

Tanımlaması gerçekleştirilen *Lactobacillus* izolatlarından 53 tanesi seçilerek probiyotik özellikleri araştırılmıştır. Seçilen izolatların probiyotik özelliklerinin belirlenmesinde ilk aşama olarak düşük pH, safra tuzu ve fenol varlığında gelişimleri incelenmiştir. İzolatların genel olarak mide pH'sında, safra tuzu varlığına ve 6-8 saate kadar %0,4 fenol varlığında canlılıklarını koruyabildikleri gözlemlenmiştir. İzolatların düşük pH'a

direnç, safra tuzu ve fenol varlığındaki değişimleri suşa bağlı olarak incelendiğinde farklılık göstermiştir.

Sindirim koşullarında varlığını koruyabilen bu izolatlardan 26 tanesi seçilerek antibiyotik direnç, safra tuzu hidrolaz ve kolesterol asimilasyon yetenekleri açısından değerlendirilmiştir. Değerlendirmeler sonunda antibiyotik dirençlerinin genel olarak literatürde yer alan çalışmalarla benzerlik gösterdiği, yüksek kolesterol giderimine ve safra tuzu hidrolaz aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Probiyotik özellikleri araştırılan 26 suşun da probiyotik olma potansiyeli barındırdığı gözlemlenmiştir. Özellikle Manisa'dan temin edilen beyaz peynir örneğinden izole edilen 33 numaralı *L. casei spp. rhamnosus* ve 43 numaralı *L. rhamnosus* izolatları gösterdikleri sindirim sisteminde canlılık, kolesterol giderimleri, safra tuzu hidrolaz aktiviteleri ve antibiyotik hassasiyetleri ile ideal probiyotik izolatlardır. Diğer izolatların ise sahip oldukları antibiyotik dirençlerinin kökenin genetik ya da plazmid kaynaklı olduğu araştırılmalıdır.

Gerçekleştirilen çalışmaların devamında izole edilen suşların genetik tanımlamalarının yapılarak probiyotik özelliklerinin araştırılmasında farklı özelliklerinin de araştırılması gerekmektedir. İzolatların farklı gıda matrikslerinde de gelişimlerini sürdürülebilirliği kontrol edilerek probiyotik starter olarak kullanılabilme özellikleri araştırılmalıdır.

Sonuç olarak manda sütü ürünlerinin zengin bir mikrofloraya sahip olduğu ve bu floranın içerisinde probiyotik özellikleri gösterebilen suşları barındırdığı ortaya konulmuştur. Yapılan bu çalışma sayesinde probiyotik suşlar için alternatif bir kaynak olarak manda sütü ürünlerinin kullanılmasının önü açılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abushelaibi A., Al-Mahadin S., El-Tarabily K., Shah N.P., Ayyash M. 2017. Characterization of Potential Probiotic Lactic Acid Bacteria Isolated from Camel Milk. *LWT - Food Science and Technology*, 79: 316-325.
- Aiba Y., Suzuki N., Kabir A.M.A., Takagi A., Koga Y. 1998. Lactic Acid-Mediated Suppression of *Helicobacter pylori* by the Oral Administration of *Lactobacillus salivarius* as a Probiotic in a Gnotobiotic Murine Model. *The American Journal of Gastroenterology*, 93 (11): 2097-2101.
- Akgün A., Yazici F., Gulec H.A. 2016. Effect of Reduced Fat Content on the Physicochemical and Microbiological Properties of Buffalo Milk Yoghurt. *LWT-Food Science and Technology*, 74: 521-527.
- Akman E. 2009. Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi. İstanbul.
- Alp D., Ertürkmen P. 2017. Probiyotik Olarak Kullanılan *Lactobacillus* spp. Suşlarının Kolesterol Düşürücü Etkileri ve Olası Mekanizmalar. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 8 (1): 108-113.
- Angmo K., Kumari A., Bhalla T.C. 2016. Probiotic Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Foods and Beverage of Ladakh. *LWT - Food Science and Technology*, 66: 428-435.
- Azadnia P., Khan N.A.H. 2009. Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Drinking Yogurt in Tribes of Fars Province. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 10 (3):235-239.
- Badis A., Guetarni D., Boudjema M.B., Henni, D.E., Tornadijo M.E., Kihal M., 2004. Identification and Technological Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Raw Goat's Milk of Four Algerian Races. *Food Microbiology*, 2: 579-588.
- Banerjee G., Nandi A., Ray A.K. 2017. Assessment of Hemolytic Activity, Enzyme Production and Bacteriocin Characterization of *Bacillus subtilis* LR1 Isolated from the Gastrointestinal Tract of Fish. *Archives of Microbiology*, 199: 115-124.

- Bari Md.A., Islam Md.R. 2017. Probiotics: A New Horizon for Treating Childhood Diarrhea in Bangladesh. *Food and Nutrition Sciences*, 8: 613-623.
- Barua R., Mahmud Md.N., Hakim M.A. 2014. Screening of Potential *Lactobacillus* Species from Buffalo Milk and Evaluation of Their Antimicrobial Activity. *Scholars Academic Journal of Bioscience*, 2 (12A): 871-876.
- Bautista-Gallego J., Arroyo-Lopez F.N., Rantsiou K., Jimenez-Diaz R., Garrido-Fernandez A., Cocolin L. 2013. Screening of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Table Olives with Probiotic Potential. *Food Research International*, 50: 35-142.
- Begley M., Sleator R.D., Gahan C.G.M., Hill C., 2005. The Contribution of Three Bile-Associated Loci (*bsh*, *pva*, and *btlB*) to Gastrointestinal Persistence and Bile Tolerance of *Listeria monocytogenes*. *Infection Immunity*, 73: 894–904.
- Berti C., Agostoni C., Davanzo R., Hyppönen E., Isolauri E., Meltzer H.M., Steegers-Theunissen R.P., Cetin I. 2017. Early-Life Nutritional Exposures and Lifelong Health: Immediate and Long-Lasting Impacts of Probiotics, Vitamin D, and Breastfeeding. *Nutrition Reviews*, 75 (2): 83-97.
- Bron P.A., Kleerebezem M., Brummer R.J., Cani P.D., Mercenier A., MacDonald T.T., Garcia-Rodenas C.L., Wells J.M. 2017. Can Probiotics Modulate Human Disease by Impacting Intestinal Barrier Function. *British Journal of Nutrition*, 117: 93-107.
- Canbulat Z., Özcan T. 2007. Bebek Mamaları ve Çocuk Ek Besinlerinde *Lactobacillus rhamnosus* GG Kullanımının Sağlık Üzerine Etkileri. *U.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21 (1): 69-79.
- Canducci F., Armuzzi A., and Cremonini F. 2000. A Lyophilized and Inactivated Culture of *Lactobacillus acidophilus* Increases *Helicobacter pylori* Eradication Rates. *Alimentary Pharmacology Therapeutics*, 14: 16-25.
- Casarotti S.N., Carneiro B.M., Todorov S.D., Nero L. A., Rahal P., Penna A.L.B. 2017. In Vitro Assessment of Safety and Probiotic Potential Characteristics of *Lactobacillus* Strains Isolated from Water Buffalo Mozzarella Cheese. *Annals of Microbiology*, 67: 289–301.
- Ceyhan N., Alıç H., 2012. Bağırsak Mikroflorası ve Probiyotikler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5 (1): 107-113

- Charteris W., Kelly P.M., Morelli L., Collins J.K. 1998. Antibiotic Susceptibility of Potentially Probiotic *Lactobacillus* Species. *Journal of Food Protection*, 61 (12): 1636-1643.
- Chowdhury A., Malaker R., Hossain Md. N., Fakruddin Md., Noor R., Ahmed M. M. 2013. Bacteriocin Profiling of Probiotic *Lactobacillus spp.* Isolated from Yogurt. *International Journal of Pharmaceutical Chemistry*, 3 (3): 50-56.
- Collins M.D., Farrow J.A. E., Phillips B.A., Feresu S., Jones D. 1987. Classification of *Lactobacillus Divergens*, *Lactobacillus piscicola*, and Some Catalase-Negative, *Asporogenous*, Rod-Shaped Bacteria from Poultry in a New Genus, *Carnobacterium*. *International Journal Of Systematic Bacteriology*, 37 (4): 310-316.
- Collins M.D., Phillips B.A., Zanoni P. 1989. Deoxyribonucleic Acid Homology Studies of *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei sp. nov., subsp. paracasei* and *subsp. tolerans*, and *Lactobacillus rhamnosus sp. nov., comb. nov.* *International Journal of Systematic Bacteriology*, 39 (2): 105-108.
- Coppola S., Parente E., Dumontet S., La Peccerella A. 1988. The Microflora of Natural Whey Cultures Utilized as Starters in the Manufacture of Mozzarella Cheese from Water-Muffalo Milk. *Le Lait*, 68 (3): 295-310.
- Correddu F., Serdino J., Manca M. G., Cosenza G., Pauciullo A., Ramunno L., Macciotta N.P.P. 2017. Use of Multivariate Factor Analysis to Characterize the Fatty Acid Profile of Buffalo Milk. *Journal of Food Composition and Analysis*, 60: 25-31.
- Costa G.N., Miglioranza L.H.S. (2012). Probiotics: The Effects on Human Health and Current Prospects, Probiotics, Prof. Everlon Rigobelo (Ed.), InTech. Chapter 15.
- Cuffia F., George G., Renzulli P., Reinheimer J., Meinardi C., Burns P. 2017. Technological Challenges in the Production of a Probiotic Pasta Filata Soft Cheese. *LWT - Food Science and Technology*, 81: 111-117.
- Çelik Ş., Bakırcı İ., Özdemir C., Özdemir S. 2001. Erzurum Ovası'nda Yetiştirilen Mandalara Ait Sütlerin Fizikokimyasal Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 32 (1): 77-82.

- De Almeida Junior W.L.G., Da Silva Ferrari I., De Souza J.V., Da Silva C.D.A., Da Costa M.M., Dias F.S. 2015. Characterization and Evaluation of Lactic Acid Bacteria Isolated from Goat Milk. *Food Control*, 53: 96-103.
- De Angelis M., Bottacini F., Fosso B., Kelleher P., Calasso M., Di-Cagno R., Ventura M., Picardi E., Van-Sinderen D., Gobbetti M. 2014. *Lactobacillus rossiae*, a Vitamin B12 Producer, Represents a Metabolically Versatile Species within the Genus *Lactobacillus*. *PLoS One*, 9 (9): 1-11.
- Delia, P., Sansotta, G., Donato, V. 2002. Prevention of Radiation-induced Diarrhea with the use of VSL 3, a New High-potency Probiotic Preparation. *American Journal of Gastroenterology*, 97 (8): 2150-2152.
- Demirok-Tokatlı N. 2014. Bebeklerden İzole Edilen *Lactobacillus* spp.'nin Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi. Namık Kemal Üniversitesi . Tekirdağ.
- Devriese L.A., Vandamme P., Collins M.D., Alvarez N., Pot B., Hommez J., Butaye P., Haesebrouck F. 1999. *Streptococcus pluranimalium* sp. nov., from Cattle and Other Animals. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49: 1221-1226.
- Dicks L.M.T., Botes M. 2010. Probiotic Lactic Acid Bacteria in the Gastro-intestinal Tract: Health Benefits, Safety and Mode of Action. *Beneficial Microbes*, 1 (1): 11-29.
- Dinçer E., Kıvanç M., Karaca H. 2009. Biyokorucu Olarak Laktik Asit Bakterileri ve Bakteriyosinler. *Gıda Dergisi*, 3: 1-8
- Ding W., Shi C., Chen M., Zhou J., Long R., Guo X. 2017. Screening for Lactic Acid Bacteria in Traditional Fermented Tibetan Yak Milk and Evaluating Their probiotic and Cholesterol-Lowering Potentials in Rats Fed a High-Cholesterol Diet. *Journal of Functional Foods*, 32: 324-332.
- Domingos-Lopes M.F.P., Stanton C., Dapkevicius M. L. E., Silva C. C. G. 2017. Genetic Diversity, Safety and Technological Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Artisanal Pico Cheese. *Food Microbiology*, 63: 178-190.
- Drisko J., Bischoff B., Hall M., McCallum R. 2006. Treating Irritable Bowel Syndrome with a Food Elimination Diet Followed by Food Challenge and Probiotics. *Journal of the American College of Nutrition*, 25 (6): 514-522.

- Drosinos E.H., Paramithiotis S., Kolovos G., Tsikouras I., Metaxopoulos I. 2007. Phenotypic and Technological Diversity of Lactic Acid Bacteria and *Staphylococci* Isolated from Traditionally Fermented Sausages in Southern Greece. *Food Microbiology*, 24: 260-270.
- Du Toit E., Gomez- Gallego C., Salminen S. 2017. Probiotics During the Perinatal Period: Impact on the Health of Mothers and Infants. *Prebiotics and Probiotics in Human Milk*, 16: 429–459.
- Dunne C., Murphy L., Flynn S., O’Mahony L., O’Halloran S., Feeney M., Morrissey D., Thornton G., Fitzgerald G., Daly C., Kiely B., Quigley E.M.M., O’Sullivan G.C., Shanahan F., Collins J.K. 1999. Probiotics: from Myth to Reality. Demonstration of Functionality in Animal Models of Disease and in Human Clinical Trials. *Antonie van Leeuwenhoek*, 76: 279-292.
- Duru S., Özgüneş H. 1981. Ankara Piyasasında Satışa Sunulan Ayran ve Yoğurt Örneklerinin Hijyenik Kaliteleri Üzerinde Araştırmalar. *Gıda Dergisi*, 4: 19-23.
- Ertaş N., Al S., Karadal F., Gönülalan Z. 2013. Kayseri İlinde Satışa Sunulan Manda Yoğurtlarının Mikrobiyolojik Kalitesi. *İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 40 (1): 83-89.
- FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization). 2002 Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food; Ontario, Canada.
- FAOSTAT. 2015 . FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division), 2015. Statistical Database of the Food and Agriculture Organization of the United Nations. 05.07.2017. <http://www.fao.org/faostat/en/#home>.
- Fontana L., Bermudez-Brito M., Plaza-Diaz J., Munoz-Quezada S., Gil A. 2013. Sources, Isolation, Characterisation and Evaluation of Probiotics. *British Journal of Nutrition*, 109: 35-50.

- Forhad M.H., Rahman S.M.K., Saikot F.K., Biswas K.C. 2015. Probiotic Properties Analysis of Isolated Lactic Acid Bacteria from Buffalo Milk. Archives of Clinical Microbiology, 7: 1-5.
- Galleo B.J., Lopez A.F.N., Rantsiou K., Diaz J.R. 2013. Screening of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Table Olives with Probiotic Potential. Food Research International, 50: 135-142.
- Göçer E.M., Ergin F., Küçükçetin A. 2016. Sindirim Sistemi Modellerinde Probiyotik Mikroorganizmaların Canlılığı. Akademik Gıda, 14 (2): 158-165.
- Grenov B., Namusoke H., Lanyero B., Nabukeera-Barungi N., Ritz C., Molgaard C., Friis H., Michaelsen K.F. 2017. Effect of Probiotics on Diarrhea in Children with Severe Acute Malnutrition: A Randomized Controlled Study in Uganda. Journal Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 64 (3): 396-403.
- Guetouache M., Guessas B. 2015. Characterization and Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Cheese (Klila) Prepared from Cow's Milk. African Journal of Microbiology Research, 9 (2): 71-77.
- Gürler Z., Kuyucuğlu Y., Pamuk Ş. 2013. Chemical and Microbiological Quality of Anatolian Buffalo Milk. African Journal of Microbiology Research, 7 (16): 1512-1517.
- Gürsoy O., Kınık Ö. 2006. Peynir Üretiminde Probiyotik Bakterilerin Kullanımı : Probiyotik Peynir. Mühendislik Bilimleri Dergisi, 12 (1): 105-116.
- Gürsoy O., Kınık Ö., 2005. Probiyotikler ve Gastrointestinal Sağlığa Etkileri. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 35: 136-148.
- Güven A., Gülmez M. 2006. Fonksiyonel Gıdalar ve Sağlık İlişkisi. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 12 (1): 91-96.
- Hammes W.P., Hertel C. 2009. Genus I. *Lactobacillus* Beijerinck 1901. In: (Eds.) Vos P.D., Garrity G., Jones J., Krieg N.R., Ludwig W., Rainey F.A., Schleifer K.H., Whitman W. B. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 3. The Firmicutes. Springer. 465-511.

- Hammes W.P., Vogel R.F. 1995. The Genus Lactobacillus, The Genera of Lactic Acid Bacteria, Wood B.J.B and Holzapfel W.H. (Eds.), Chapman and Hall, London, 398p.
- Han B., Meng Y., Li M., Yang Y., Ren F., Zeng Q., Robert Nout M. 2007. A Survey on the Microbiological and Chemical Composition of Buffalo Milk in China. Food Control, 18 (6): 742-746.
- Harrigan W.F., Mc Canse M.E. 1976. Laboratory Methots in Food and Dairy Microbiology. Academic Press, 452p.
- Hemaiswarya S., Raja R., Ravikumar R., Carvalho I.S. 2013. Mechanism of Action of Probiotics. Brazilian Archives OF Biology and Technology, 56 (1): 113-119.
- Hernandez Y.G., Sanchez P.T., Boucourt R., Balcazar J. L., Nicoli J.R., Silva J.M., Rodriguez Z., Fuertes H., Nunez O., Albeo N., Halaihel N. 2016. Isolation, Characterization and Evaluation of Probiotic Lactic Acid Bacteria for Potential Use in Animal Production. Research in Veterinary Science, 108: 125-132.
- Hızarcı Ö. 2011. Tulum Peynirinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması ve Anti-Listerial Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi. İstanbul.
- Hod K., Sperber A.D., Ron Y., Dickman R., Berliner S., Halpern Z., Maharshak N., Dekel R. 2017. A Double-Blind, Placebo-Controlled Study to Assess the Effect of a Probiotic Mixture on Symptoms and Inflammatory Markers in Women with Diarrhea-Predominant IBS. Neurogastroenterology and Molity, 29 (7): 1-10.
- Holzapfel H.W., Schillinger U. 1992. The Genus Leuconostoc In: The Prokaryotes, Ed: Balows A., Truper H.G., Dawkin M., Harder W., Schleifer K. Newyork USA. 1508-1535.
- Hooper L.V., Littman D.R., Macpherson A.J. 2012. Interactions Between the Microbiota and the Immune System. Science, 336: 1268-1273.
- İşleroğlu H., Yıldırım Z., Yıldırım M. 2008 Yöresel Peynirden Antimikrobiyal Aktiviteye Sahip Laktik Asit Bakterisinin İzolasyonu ve Tanısı. GOÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 25 (1): 1-6.

- Karabiyıklı Ş., Karapınar M. 2008. Kopanisti Peynirinin Fermentasyonunda Rol Oynayan Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması. *Gıda Dergisi*, 33 (6): 311-318.
- Khan I., Kang S.C. 2016. Probiotic Potential of Nutritionally Improved *Lactobacillus plantarum* DGK-17 Isolated from Kimchi - a Traditional Korean Fermented Food. *Food Control*, 60: 88-94.
- Khedid K., Faid M., Mokhtarib A., Soulaymani A., Zinedine A. 2009. Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from the One Humped Camel Milk Produced in Morocco. *Microbiological Research*, 164: 81-91.
- Kılıç S. 2014. Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri (3th ed.). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, İzmir. 451p.
- Kıran F., Osmanağaoğlu Ö., 2012. Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Olarak Kullanımı. *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 26 (4): 60-67.
- Kışla D. 2001. Nisin Üreten *Lactococcus lactis* İzolasyonu ve Nisin Üretimine Etki Eden Faktörler. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi. Türkiye.
- Klein G., Pack A., Bonaparte C., Reuter G. 1998. Taxonomy and Physiology of Probiotic Lactic Acid Bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 41: 103-125.
- Klingberg T.D., Axelsson L., Naterstand K., Elsser D., Budde B. B. 2005. Identification of Potential Probiotic Starter Cultures for Scandinavian-Type Fermented Sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 105 (3): 419-431.
- Korhonen J. 2010. Antibiotic Resistance of Lactic Acid Bacteria. Publications of the University of Eastern Finland Dissertations in Forestry and Natural Sciences. Finland. 71p.
- Lee C.H., Steiner T., Petrof E.O., Smieja M., Roscoe D., Nematallah A., Weese J.S., Collins S., Moayyedi P., Crowther M., Ropelesk M.J., Jayaratne P., Higgins D., Li Y., Rau N.V., Kim P.T. 2016. Frozen vs Fresh Fecal Microbiota Transplantation and Clinical Resolution of Diarrhea in Patients With Recurrent *Clostridium difficile* Infection A Randomized Clinical Trial. *American Medical Association*, 315 (2):142-149.

- Lee K.W., Shim J.M., Park S.K., Heo H.J., Kim H.J. 2016. Isolation of Lactic Acid Bacteria with Probiotic Potentials from Kimchi, Traditional Korean Fermented Vegetable. *LWT-Food Science and Technology*, 71: 130-137.
- Li P., Gu Q., Yang L., Yu Y., Wang Y. 2017. Characterization of Extracellular Vitamin B12 Producing *Lactobacillus plantarum* Strains and Assessment of the Probiotic Potentials. *Food Chemistry*, 234: 494-501.
- Lin J., Chiu Y., Lin N., Chu C., Huang K., Liao K., Peng K. 2009. Different Effects of Probiotic Species/Strains on Infections in Preschool Children: a Double-Blind, Randomized, Controlled Study. *Vaccine*, 27: 1073-1079.
- Liong M.T., Shah N.P. 2005. Acid and Bile Tolerance and Cholesterol Removal Ability of *Lactobacilli* Strains. *Journal of Dairy Science*, 88: 55-66.
- Liu C., Zhang Z.Y., Dong K., Yuan J.P., Guo X.K. 2009. Antibiotic Resistance of Probiotic Strains of Lactic Acid Bacteria Isolated from Marketed Foods and Drugs. *Biomedical and Environmental Science*, 22: 401-412.
- Lomer M.C.E., Parkes G.C., Sanderson J.D. 2008. Lactose Intolerance in Clinical Practice – Myths and Realities. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 27: 93-103.
- Lourens-Hattingh A., Viljoen B.C. 2001. Yogurt as Probiotic Carrier Food. *International Dairy Journal*, 11: 1-17.
- Lui W., Pang H., Zhang H., Cai Y. 2014. Biodiversity of Lactic Acid Bacteria. In: *Lactic Acid Bacteria Fundamentals and Practise*. Ed. H. Zhang and Y. Cai. Springer, UK. 103- 203.
- Lü X., Yi L., Dang J., Dang Y., Lui B. 2014. Purification of Novel Bacteriocin Produced by *Lactobacillus coryniformis* MXJ 32 for Inhibiting Bacterial Foodborne Pathogens Including Antibiotic-Resistant Microorganisms. *Food Control*, 46: 264-271.
- Mainville I., Arcand Y., Farnworth E.R. 2005. A Dynamic Model That Simulates the Human Upper Gastrointestinal Tract for the Study of Probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 99: 287– 296.

- Maniruzzaman M., Khan, M.F.R., Amin M.M. 2010. Isolation and Identification of Bacterial Flora from Milk of Apparently Healthy Buffalo-Cows. International Journal of BioResearch, 1 (3): 13-16.
- Maragkoudakis P.A., Zoumpopoulou G., Miaris C., Kalantzopoulos G., Pot B., Tsakalidou E. 2006. Probiotic Potential of *Lactobacillus* Strains Isolated from Dairy Products. International Dairy Journal, 16: 189-199.
- Marteau P., Seksik P., Jian R. 2002. Probiotics and Intestinal Health Effects: a Clinical Perspective. British Journal of Nutrition, 88 (1): 51–57.
- Masood M.I., Qadir M.I., Shirazi J.H., Khan I.U. 2011. Beneficial Effects of Lactic Acid Bacteria on Human Beings. Critical Reviews in Microbiology, 37 (1): 91-98.
- Mathara J.M., Schillinger U., Guigas C., Franz C., Kutima P.M. Mbugua S.K., Shin H.K., Holzapfel W.H. 2008. Functional Characteristics of *Lactobacillus spp.* from Traditional Maasai Fermented Milk Products in Kenya. International Food Microbiology, 126: 57-64.
- Melgar-Lalanne G., Espinoza R.Y., Farrera-Rebollo R., Sanchez H. 2014. Survival Under Stress of Halotolerant *Lactobacilli* with Probiotic Properties. Revista Mexicana de Ingeniería Química, 13 (1): 323-335.
- Meral A., Korukoğlu M. 2014. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Direnç Mekanizmaları. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 28 (2): 71-82.
- Morea M., Baruzzi F., Cappa F., Cocconcelli P.S. 1998. Molecular Characterization of the *Lactobacillus* Community in Traditional Processing of Mozzarella Cheese. International Journal of Food Microbiology, 43: 53-60.
- Morotomi M., Yuki N., Kado Y., Kushiro A., Shimazaki T., Watanabe K., Yuyama T. 2002. *Lactobacillus equi* sp. nov., a Predominant Intestinal *Lactobacillus* Species of the Horse isolated from Faeces of Healthy Horses. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 52: 211-214.
- Myllyluoma E., Kajander K., Mikkola H. 2007. Probiotic Intervention Decreases Serum Gastrin-17 in *Helicobacter pylori* Infection. Digestive and Liver Disease, 39 (6): 516-523.

- O'Mahoy L., McCarthy J., Kelly P., Hurley G., Luo F., Chen K., O'Sullivan C., Kiely B., Collins J. K., Shanahan F., Quigley E.M.M. 2005. Lactobacillus and Bifidobacterium in Irritable Bowel Syndrome: Symptom Responses Relationship to Cytokine Profiles. *Gastroenterology*, 128 (3): 541-551.
- Ocana V., Silva C., Nader-Macias M.E. 2006. Antibiotic Susceptibility of Potentially Probiotic Vaginal Lactobacilli. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*, 18182: 1-6.
- Olivares M., Dí'az-Ropero M.P., Gomez N., Lara-Villoslada F., Sierra S., Maldonado J.A., Martin R., Lo'pez-Huertas E., Rodri'guez J.M., Xaus J. 2006. Oral Administration of Two Probiotic Strains, *Lactobacillus gasseri* CECT5714 and *Lactobacillus coryniformis* CECT5711, Enhances the Intestinal Function of Healthy Adults. *International Journal of Food Microbiology*, 107: 104-111.
- Osuntoki A.A., Ejide O.R., Omonigbehin E.A. 2008. Antagonistic Effects on Enteropathogenic and Plasmid Analysis of Lactobacilli Isolated from Fermented Dairy Products. *Biotechnology* , 7: 311-316.
- Pamuk Ş., Gürler Z. 2010. Manda Sütünden Gelen Lezzet: Mozzarella. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 3 (1): 49-53.
- Parvez S., Malik K., Ah-Kang S., Kim HY. 2006. Probiotic and Their Fermented Food Product are Beneficial for Health. *Journal of Applied Microbiology*, 1171-1185.
- Patel A.R., Shah N.P., Prajapati J.B. 2012. Antibiotic Resistance Profile of Lactic Acid Bacteria and Their Implications in Food Chain. *World Journal of Dairy and Food Sciences*, 7 (2): 202-211.
- Patrik O.M. 2012. Lactic Acid Bacteria in Health and Disease. *Rwanda Journal of Health Science*, 1 (1): 39-50.
- Payne S., Gibson G., Wynne A., Hudspith B., Brostoff J., Tuohy K. 2003. In Vitro Studies on Colonization Resistance of the Human Gut Microbiota to *Candida albicans* and The Effects of Tetracycline and *Lactobacillus plantarum* Lpk. *Food Microbial Sciences*, 4: 1-8.

- Pisano M.B., Scano P., Murgia A. Cosentino S., Caboni P. 2016. Metabolomics and Micrological Profile of Italian Mozzarella Cheese Produced with Buffalo and Cow Milk. *Food Chemistry*, 192: 618-624.
- Plaza-Diaz J., Ruiz-Ojeda F.J., Vilchez-Padial L.M., Gil A. 2017. Evidence of the Anti-Inflammatory Effects of Probiotics and Synbiotics in Intestinal Chronic Diseases. *Nutrients*, 9 (6): 555-574.
- Prantera C., Scribano M.L., Falasco G., Luzi C. 2002. Ineffectiveness of Probiotics in Preventing Recurrence After Curative Resection for Crohn's Disease: a Randomised Controlled Trial with *Lactobacillus* GG. *Gut*, 51: 405-409.
- Ray B., Bhunia A. 2016. Bağırsak Kaynaklı Bakteriler ve Probiyotikler. Temel Gıda Mikrobiyolojisi (5. Basımdan çeviri). Ed. Heperkan D. Nobel Yayıncılık. Ankara. 193-209.
- Reid G., Jass J., Sebulsky M.T., McCormick J.K. 2003. Potential Uses of Probiotics in Clinical Practice. *Clinical Microbiology Reviews*, 16 (4): 658-672.
- Reid G., Jass J., Sebulsky M.T., McCormick J.K. 2003. Potential Uses of Probiotics in Clinical Practice. *Clinical microbiology reviews*, 16 (4): 658-672.
- Rizqiati H., Sumantri C., Noor R.R., Damayanthi E., Rianti E.I. 2015. Characteristics of Indigenous Probiotic from River Buffalo Milk in North Sumatera Indonesia. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*, 22 (2): 113-120.
- Rudel L.L. ve Morris M.D., 1973. Determination of Cholesterol Using o-phthalaldehyde. *Journal of Lipid Research*, 14: 364-366.
- Sağdıç O., Küçüköner E., Özçelik S. 2004. Probiyotik ve Prebiyotiklerin Fonksiyonel Özellikleri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 35 (3-4): 221-228.
- Sakamoto I., Igarashi M., Kimura K., Takagi A., Miwa T., Koga Y. 2001. Suppressive Effect *Lactobacillus gasseri* OLL 2716 (LG 21) on *Helicobacter pylori* Infection in Humans. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47: 709-710.
- Shafakatullah N., Chandra M. 2014. Screening of Raw Buffalo's Milk from Karnataka for Potential Probiotic Strains. *Research Journal of Recent Sciences*, 3 (9): 73-78.

- Sharma C., Gulati S., Thakur N., Singh B P., Gupta S., Kaur S., Mishra S.K., Puniya A.K., Gill J. P. S., Panwar H. 2017. Antibiotic Sensitivity Pattern of Indigenous Lactobacilli Isolated from Curd and Human Milk Samples. 3 Biotech, 7: 53-67.
- Sharma R., Sanodiya B.S., Thakur G. S., Jaiswal P., Pal S., Sharma A., Bisen P.S. 2013. Chacterization of Lactic Acid Bacteria From Raw Milk Samples of Cow, Goat, Sheep, Camel and Buffalo with Special Elucidation to Lactic Acid Production. British Microbiology Research Journal, 3 (4): 746-752.
- Shokryazdan P., Sieo C.C., Kalavathy R., Liang J.B., Alitheen N.B., Jahromi M.F., Ho Y.W. 2014. Probiotic Potential of *Lactobacillus* Strains with Antimicrobial Activity Against Some Human Pathogenic Strains. BioMed Research International, 16: 1-16.
- Silva L.F., Casella T., Gomes E.S., Nogueira M.C.L., Lindner J.D.D., Penna A.L.B. 2015. Diversity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Brazilian Water Buffalo Mozzarella Cheese. Journal of Food Science, 80 (2): 411-417.
- Stanton C., Gardiner G., Meehan H., Collins K., Fitzgerald G., Lynch P.B., Ross R.P. 2001. Market Potential for Probiotics. The American Journal of Clinical Nutrition, 73: 476-483.
- Stiles M.E. and Holzapfel W.H., 1997. Lactic Acid Bacteria of Foods and Their Current Taxonomy. International Journal of Food Microbiology, 36 (1): 1-29
- Sudağıdan M., Aydın A. 2013. Lizozim ve Nişinin Gıda Kaynaklı *Staphylococcus aureus* Suşlarında Gelişim ve Biyofilm Oluşumu Üzerine Etkileri. İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 39 (2): 254-263.
- Sukmarini L., Mustopa A.Z., Normawati M., Muzdalifah I. 2014. Identification of Antibiotic-Resistance Genes from Lactic Acid Bacteria in Indonesian Fermented Foods. HAYATI Journal of Biosciences, 21 (3): 144-150.
- Sylejmani D., Ramadani N., Robaj A., Hamidi A. 2016. Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of Bacterial Isolates from Subclinical mastitis in Dairy Farms ın Kosovo. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine. 19(4): 299-307.
- Şahin G. 2015. Türkiye Zirai Hayatında Manda (*Babulis bubalis*) Yetiştiriciliği ve Manda Ürünlerinin Değerlendirilmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi Edebiyat Fakültesi Coğrafya Dergisi, 31: 14-40.

- Tanabe S., Suzuki T., Wasano Y., Nakajima F., Kawasaki H., Tsuda T., Nagamine N., Tsurumachi T., Sugaya K., Akita H., Takagi M., Takagi K., Inoue Y., Asai Y., Morita H. 2014. Anti-inflammatory and Intestinal Barrier-protective Activities of Commensal Lactobacilli and Bifidobacteria in Thoroughbreds: Role of Probiotics in Diarrhea Prevention in Neonatal Thoroughbreds. *Journal of Equine Science*, 25 (2): 37-43.
- Temiz A., 1989. Et ve Et ürünlerindeki Laktobasillerin Hızlı ve Basit Olarak Tanımlanmaları için Geliştirilen Tanımlama Tabloları. *Gıda Dergisi*, 14 (8): 385-391.
- Thakur K., Tomar S. K., De S. 2016. Lactic Acid Bacteria as a Cell Factory for Riboflavin Production. *Microbial Biotechnology*, 9 (4): 441-451.
- Tok E. 2007. Probiyotik Olarak Kullanılabilecek Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Kolesterol Giderimi Özellikleri Ve Safra Tuzu Dekonjugasyonu Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi. Türkiye.
- Uymaz B. 2009. Probiyotik Özellik Taşıyan Gıda ve İnsan Kaynaklı Laktobasillerin İzolasyonu Tanımlanması ve Bakteriyosin Üretim Yeteneklerinin Karakterizasyonu. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi. Türkiye.
- Uymaz B.(2010). Probiyotikler ve Kullanım Alanları. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 16 (1): 95-104.
- Van Overtvelt L., Moussu H., Horiot S., Samson S., Lombardi V., Mascarell L., Moer E.V.D., Bourdet-Sicard R., Moingeon P. 2010. Lactic Acid Bacteria as Adjuvants for Sublingual Allergy Vaccines. *Vaccine*, 28: 2986-2992.
- Vizoso-Pinto M.G., Franz C.M., Schillinger U., Holzapfel W.H. 2006. *Lactobacillus* spp. with in vitro probiotic properties from human faeces and traditional fermented products. *International Journal of Food Microbiology*, 109: 205-214.
- Walker W. A. 2008. Mechanisms of Action of Probiotics. *Clinical Infections Diseases*, 46 (2): 87-91.
- Widyastuti Y., Rohmatussolihat, Febrisiantosa A. 2014. The Role of Lactic Acid Bacteria in Milk Fermentation. *Food and Nutrition Sciences*, 5: 345-442.

- Xanthopoulos V., Litopoulou-Tzanetaki E. ve Tzanetaki N. 2000. Characterization of *Lactobacillus* isolated from infant faeces as dietary adjuncts. *Food Microbiology*, 17: 205-215.
- Xiaodong P, Fenqin C, Tianxing W, Honggang T, Zhanyu Z. 2009. The Acid, Bile Tolerance And Antimicrobial Property of *Lactobacillus acidophilus* NIT. *Food Control*, 20: 598–602.
- Yang T., Wu K., Wang F., Liang X., Liu Q. 2014. Effect of Exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria on the Texture and Microstructure of Buffalo Yogurt. *International Dairy Journal*, 34: 252-256.
- Yıldırım Y., Sarımehtetoğlu B. 2006. Beyaz Peynir Yapımında Bazı Probiyotik Bakterilerin Kullanılmasının *Listeria monocytogenes* Üzerine Etkisi. *Erciyes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 3 (1): 1-7.
- Yıldız Dilbaş K. 2013. Balıkesir Yöresine Ait Peynirlerden İzole Edilen *Lactobacillus* Bakterilerinin Starter ve Probiyotik Özelliklerinin Araştırılması. Doktora Tezi. Gazi Üniversitesi. Ankara.
- Yıldız H. 2011. Turşu ve Zeytinlerden Laktik Asit Bakterileri ile Mayaların İzolasyonu-İdentifikasyonu ve Elde Edilen İzolatların Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi. Türkiye.
- Zhou R., Sun J. ve Mo H., 2007. Analysis of Functional Properties of *Lactobacillus acidophilus*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23: 195-200.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Gizem TAYLAN

Doğum Yeri : Balıkesir

Doğum Tarihi: 29.04.1991

EĞİTİM BİLGİLERİ

Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi / Gıda Mühendisliği Bölümü,
2014

Yüksek Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi/ Gıda Mühendisliği
Anabilim Dalı, 2017

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

Bildiriler-Ulusal

Taylan G., Yalman M., Zorba N. N., 2016. Manda peynirinin mikrobiyolojik özellikleri. Türkiye 12.TGK Kongresi. 126.

STAJLAR

Keskinoğlu Tavukçuluk ve Damızlık İşl. San Tic. A.Ş. 06.2012-07.2012.

İstanbul Halk Ekmek A.Ş. 06.2013-07.2013

İLETİŞİM ADRESİ

taylangizem@hotmail.com