

T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TARHANA ÖRNEKLERİNDEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİN
İZOLASYONU VE BAZI PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN
KARAKTERİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kudret ATEŞ

Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı
Gıda Mühendisliği Yüksek Lisans Programı

Haziran, 2019

T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TARHANA ÖRNEKLERİNDEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİN
İZOLASYONU VE BAZI PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN
KARAKTERİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kudret ATEŞ
(Y1413.040001)

Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı
Gıda Mühendisliği Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Hatice ZENGİN

Haziran, 2019



T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

Yüksek Lisans Tez Onay Belgesi

Enstitümüz Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Gıda Mühendisliği Tezli Yüksek Lisans Programı **Y1413.040001** numaralı öğrencisi **Kudret ATEŞ** 'in "TARHANA ÖRNEKLERİNDEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU VE BAZI PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN KARAKTERİZASYONU" adlı tez çalışması Enstitümüz Yönetim Kurulunun 12.06.2019 tarih ve 2019/12 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından **oy birliği** ile Tezli Yüksek Lisans tezi olarak **kabul** edilmiştir.

Öğretim Üyesi Adı Soyadı

İmzası

Tez Savunma Tarihi : 26/06/2019

1)Tez Danışmanı: Dr. Öğr Üyesi Hatice ZENGİN

.....

2) Jüri Üyesi : Prof. Dr. Candan VARLIK

.....

3) Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üyesi Banu METİN

.....

Not: Öğrencinin Tez savunmasında **Başarılı** olması halinde bu form **imzalanacaktır**. Aksi halde geçersizdir.



YEMİN METNİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “**Tarhana Örneklerinden Laktik Asit Bakterilerin İzolasyonu ve Bazı Probiyotik Özelliklerinin Karakterizasyonu**” adlı tez çalışmasının proje safhasından sonuçlanmasına kadar ki bütün süreçlerde bilimsel ahlak ve etik geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurulmaksızın yazıldığını ve yararlandığım eserlerin bibliyografyada gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanmış olduğunu belirtir ve onurumla beyan ederim.

25/06/2019

Kudret ATEŞ





Aileme,



ÖNSÖZ

Tarhana Örneklerinden Laktik Asit Bakterilerin İzolasyonu ve Bazı Probiyotik Özelliklerinin Karakterizasyonu” adlı yüksek lisans çalışmamın oluşmasında çok değerli görüşleri ve eleştirileriyle bana yol gösteren saygıdeğer hocam, tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Hatice Zengin’e teşekkürlerimi sunarım. Bugüne kadar tüm çalışmalarımda bana her zaman destek olan varlıklarıyla beni onurlandıran çok sevdiğim aileme, değerli arkadaşlarım Doç. Dr.Muharrem Balcı, Dr. Öğr. Üyesi Murat Doğan, Dr. Öğr. Üyesi İlkay Yılmaz, Öğr. Üyesi Kadriye Türkeşsiz, Sebahattin Çağlayan ve Yılmaz Koç’a teşekkür ederim.

Haziran, 2019

Kudret ATES



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	ix
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xiii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xv
ŞEKİL LİSTESİ.....	xvii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Probiyotik Tanımı	3
2.2 Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar	5
2.3 Laktik Asit Bakterilerinin Özellikleri	6
2.4 Probiyotik Mikroorganizma Seçme Kriterleri.....	8
2.4.1 Güvenilirlik kriteri	8
2.4.2 İşlevsellik kriteri	8
2.4.3 Teknolojik olma kriteri	8
2.5 Probiyotiklerin etki mekanizması.....	9
2.6 Probiyotiklerin İnsan Sağlığı Üzerine Yararlı Etkileri.....	9
2.7 Probiyotik Mikroorganizmaların Asit Dirençliliği.....	10
2.8 Probiyotik Mikroorganizmaların Safra Tuzu Direnci	11
2.9 Probiyotiklerin Mikroorganizmaların Antibiyotik Direnci	11
2.10 Probiyotik Mikroorganizmaların Antimikrobiyel Aktivitesi	12
2.11 Tarhana Tanımı ve Üretimi	12
2.12 Tarhananın Besin Değeri ve Mikrobiyolojisi.....	15
2.13 Probiyotiklerle İlgili Yapılan Bazı Araştırmalar	16
3. MATERYAL VE METOD.....	19
3.1 Materyal	19
3.2 Metod	19
3.2.1 Laktik asit bakterilerinin izolasyonu.....	19
3.2.2 Katalaz testi.....	21
3.2.3 Gram boyama	21
3.2.4 Stok Kültür Hazırlama	21
3.2.5 Stoktaki İzolatların Aktifleştirilmesi.....	22
3.2.6 İzolatlarının Tanımlanması	22
3.2.7 LAB izolatlarının asit toleransı.....	23
3.2.8 LAB İzolatlarının Safra Tuzu Toleransı	23
3.2.9 LAB İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılığı	24
3.2.10 LAB izolatlarının antimikrobiyel aktivitesi	25
3.2.11 İstatistiksel analiz	26
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	27
4.1 Muhtemel LAB İzolasyon Bulguları.....	27
4.2 LAB İzolatlarının Tanımlama Bulguları	27

4.3 Probiyotik Özellikleri Araştırılan İzolatlar.....	29
4.3.1 Asit Toleransı Bulguları.....	31
4.3.2 Safra Tuzu Toleransı Bulguları.....	34
4.3.3 Antibiyotik Duyarlılık Bulguları.....	36
4.3.4 Antimikrobiyal aktivite bulguları.....	40
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	45
KAYNAKLAR.....	55
ÖZGEÇMİŞ.....	65



KISALTMALAR

ATCC	:Amerikan Tipi Kùltür Koleksiyonu
AX	:Amoxicillin
°C	:Santigrat
C	:Chloramphenicol
CHCA	: α -Cyano-4-hydroxycinnamic acid matrix solüsyonu
CLSI	:Clinical and Laboratory Standarts Institute
FAO	:Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	:Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GIS	:Gastrointestinal Sistem
GRAS	:Genel Olarak Güvenilir-Zararsız Kabul Edilen
KF	:Cephalothin
lt	:Litre
MALDI-TOF MS	: Matriks Aracılı Lazer Dezorpsiyon İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi
MHA	:Mueller Hinton Agar
mm	:Milimetre
LAB	:Laktik Asit Bakterisi
MRS	:De-Man Rogosa Sharp
MS	:Orta dereceli hassas
NB	:Nutrient Broth
P	:Penicillin G
pH	:Bir Çözeltinin Asitlik veya Bazlık Derecesi
R	:Dirençli
S	:Hassas
spp.	:Türler
SPSS	:Statistical Package for the Social Sciences
TAMB	:Toplam Mezofil Aerob Bakteri
WHO	:Dünya Sağlık Örgütü
VA	:Vancomycin
µg	:Mikrogram
µL	:Mikro Litre



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar (Ötleş ve ark. 2014). . 5	
Çizelge 3.1 : Analizlerde kullanılan besiyeri, kimyasal ve kitler	20
Çizelge 3.2 : Antibiyotik disklerde görülen zonların antibiyotik direnç karşılıkları; dirençli (R), orta dereceli duyarlı (MS) ve duyarlı (S)	24
Çizelge 4.1 : Tarhana örneklerinden tanımlanan LAB'lerin dağılımı	28
Çizelge 4.2 : Probiyotik özellikleri araştırılan suşlar	30
Çizelge 4.3 : LAB İzolatlarının pH 3 değerindeki yüzde canlılıkları.....	31
Çizelge 4.4 : LAB İzolatlarının % 0,3 safra tuzu değerindeki yüzde canlılıkları.....	34
Çizelge 4.5 : LAB izolatlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçları (mm); NA: ulaşamadı, R: Dirençli, MS: orta dereceli duyarlı, S: duyarlı, NA: ulaşamadı, P: Penicillin G, VA: Vancomycin, KF: Cephalothin, C: Chloramphenicol, AX: Amoxicillin.	37
Çizelge 4.6 : LAB izolatlarının antibiyotiklere karşı duyarlılık düzeyleri; NA: ulaşamadı, R: Dirençli, MS: orta dereceli duyarlı, S: duyarlı, NA: ulaşamadı, P: Penicillin G, VA: Vancomycin, KF: Cephalothin, C: Chloramphenicol, AX: Amoxicillin.	38
Çizelge 4.7 : LAB izolatlarının patojen bakteriler üzerine oluşturduğu inhibisyon zon çap değerleri (mm).....	40
Çizelge 4.8 : LAB izolatlarının patojen bakteriler üzerine antimikrobiyal etki düzeyleri, ; Antimikrobiyal inhibisyon zon çapı : (-) dirençli/etkisiz, (+) düşük etkili (6 – 9 mm), (++) orta dereceli duyarlı (10 – 13 mm), (+++) duyarlı (14 – 16 mm).....	41



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Geleneksel tarhana üretim akış şeması.....	13
Şekil 3.1 : MRS besiyerlerinin aneorabik olarak 37°C 'de inkübasyonu	20
Şekil 3.2 : LAB izolatlarının mikroskop görüntüleri; a) <i>L. fermentum</i> 205, b) <i>P. pentosaceus</i> D212	21
Şekil 3.3 : LAB suşlarının asit direnç analizi	23
Şekil 3.4 : LAB suşlarının safra tuzu direnç analizi	24
Şekil 3.5 : LAB suşlarının antimikrobiyal aktivite analizi	26
Şekil 4.1 : Kütle Spektrometrisi ile tanımlanan LAB izolatlarının dağılımı	27
Şekil 4.2 : Tanımlanan LAB izolatlarının türlere göre dağılımı.....	28
Şekil 4.3 : LAB izolatlarının ticari firmalara göre dağılımı; Ticari firma kodları: A, B, C, D, E, F, G, H, L, M	29
Şekil 4.4 : LAB suşlarının pH 3.0 toleransları; E11, F32, H31, A112, A211, E12... ..	32
Şekil 4.5 : LAB suşlarının pH 3.0 toleransları; K212, C112, B32, G24, G31, 1M... ..	32
Şekil 4.6 : LAB suşlarının pH 3.0 toleransları; K222, F11, 208, 205, 201, 203	33
Şekil 4.7 : LAB suşlarının pH 3.0 toleransları; 29, 191, C111, G1, 125, D212	33
Şekil 4.8 : LAB suşlarının pH 3.0 toleransları; 41, D15, B21, B11	33
Şekil 4.9 : LAB suşlarının safra tuzu toleransları; A112, A211, F32, E11, H31, C112	35
Şekil 4.10 : LAB suşlarının safra tuzu toleransları; 201, G24, 1M, K222, K212, 208	35
Şekil 4.11 : LAB suşlarının safra tuzu toleransları; E12, 203, G31, F11, B32, 125 .	35
Şekil 4.12 : LAB suşlarının safra tuzu toleransları; 191, 205, C111, 41, 29, D212 ..	36
Şekil 4.13 : LAB suşlarının safra tuzu toleransları; D15, G1, B21, B11	36
Şekil 4.14 : LAB suşlarının antibiyotik duyarlılık petri görünümü; D15 ve 205 suşları	39
Şekil 4.15 : LAB suşlarının antibiyotik duyarlılık benzerlik dendrogramı	39
Şekil 4.16 : LAB suşlarının antimikrobiyal aktivite benzerlik dendrogramı.....	42



TARHANA ÖRNEKLERİNDEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİN İZOLASYONU VE BAZI PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN KARAKTERİZASYONU

ÖZET

Tarhana, buğday ürünleri (un, irmik, bulgur), yoğurt, ekmek mayası ve çeşitli sebzelerin (domates, soğan, kırmızıbiber vb.), tuz ve baharatlarla karıştırılması suretiyle elde edilen fermente hamurun, kurutulması ve öğütülmesiyle üretilen geleneksel fermente bir gıdadır. Bu çalışmanın amacı, piyasadaki bazı organik ve ev yapımı tarhanalardan izole edilen laktik asit bakterisi (LAB) izolatlarını MALDI-TOF yöntemiyle tanımlayarak örneklerin LAB florasını belirlemek ve bu bakterilerin asit ve safra dirençleri, antibiyotik duyarlılığı, antimikrobiyal aktivitesi gibi bazı probiyotik özelliklerini karakterize etmektir. Ağırlıklı olarak Manisa yöresinden, geleneksel ev yapımı ve ticari firmalar tarafından üretilen toplam 55 adet tarhana örneğinden 210 adet gram pozitif ve katalaz negatif muhtemel LAB izolatı elde edilmiştir. LAB izolatlarından 86 adetinin, kütle spektrometrisi kullanılarak cins ve tür bazında teşhisleri yapılmıştır. Tanımlanan potansiyel probiyotik LAB üyeleri; 43 adet *Pediococcus pentosaceus*, 21 adet *Enterococcus faecalis*, 6 adet *Enterococcus faecium*, 8 adet *Lactobacillus fermentum*, 3 adet *Lactobacillus brevis* ve 5 adet *Lactobacillus* spp. (*Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum*) suşlarıdır. Ticari ölçekteki firmalardan temin edilen organik tarhanalardaki LAB çeşitliği ve sayısı, geleneksel ev tipi üretilen tarhanalara göre yüksek çıkmıştır. Bazı probiyotik özelliklerin araştırılmasına yönelik 28 LAB suşu üzerinde yapılan analizlerde; % 50 bakteri suşunun mide asitliğine (pH 3.0) toleranslı ve % 85,7 suşun safra tuzu ortamına (% 0,3) direnç göstererek hayatta kaldıkları tespit edilmiştir. 5 farklı antibiyotiğe karşı gerçekleştirilen antibiyogram testinde suşların % 59'u Amoxicillin'e dirençli, % 44'ünün Vancomycin'e dirençli ve % 4'ünün Cephalothin'e dirençliyken suşların % 96'sı Cephalothin'e, suşların tümünün Penicillin G ve Chloramphenicol karşı yarı duyarlı ve/veya duyarlı oldukları tespit edilmiştir. İzolatların % 46,4'ü *Staphylococcus aureus*, % 14,3'ü *Escherichia coli* ve % 7,1'i *Salmonella* Typhimurium gibi patojen bakterilere karşı orta düzeyde antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Özetle *P. Pentosaceus* A112, *L. brevis* B11 ve *Lactobacillus* spp. G1 suşları mide asitliğine ve safra tuzuna dayanıklılık, seçilen antibiyotiklerin çoğuna duyarlılık ve bazı patojen bakterilere karşı düşük ve/veya orta dereceli duyarlı aktivite gibi iyi probiyotik özellik göstermişlerdir. Sonuç olarak, iyi bir LAB kaynağı olan organik ürünlerden elde edilen izolatların, endüstriyel olarak üretilen probiyotikler yerine seçenek olup olamayacağının daha detaylı olarak araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: *Probiyotik, Tarhana, Probiyotik Özellik, Laktik Asit Bakterisi*



ISOLATION OF LACTIC ACID BACTERIA FROM TARHANA SAMPLES AND CHARACTERIZATION OF SOME PROBIOTIC PROPERTIES

ABSTRACT

Tarhana is a favored Turkish traditional dried soup which is produced by drying and grinding the fermented dough prepared by mixing wheat product (semolina, flour, bulgur), yogurt, and Baker's yeast with some vegetables (tomato, onion, red pepper, etc), salt and spices. The purpose of the current study was the identification of lactic acid bacteria (LAB) isolated from some homemade and organically produced by MALDI-TOF method to determine the LAB flora of the samples and to characterize some probiotic properties such as stomach acid and bile resistance, antibiotic susceptibility and antimicrobial activity of these bacteria. 210 gram-positive and catalase-negative probable LAB strains were isolated from 55 tarhana samples from traditional homemade and organically produced by commercial firms. A total of 86 of the LAB strains were identified on the basis of genus and species using mass spectrometry. Identified potential probiotic LAB members; 43 *Pediococcus pentosaceus*, 21 *Enterococcus faecalis*, 6 *Enterococcus faecium*, 8 *Lactobacillus fermentum*, 3 *Lactobacillus brevis* and 5 *Lactobacillus* spp. (*Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum*) strains. The variety and number of LABs in organic tarhanas isolated from commercial companies were higher than those of traditional domestic tarhanas were. In the analyzes carried out on 28 LAB strains to investigate some probiotic properties; It was found that 50 % bacteria strains were tolerant to gastric acidity (pH 3.0) and 85.7 % strains were resistant to bile salt media (0.3%). Of the 5 different antibiotics, 59 % of the isolates showed resistance to Amoxicillin and 44,4% to Vancomycin. 59 % of strains against 5 different antibiotics were resistant to Amoxicillin, 44 % were resistant to Vancomycin and 4 % were resistant to Cephalothin, while 96 % of strains were sensitive to Cephalothin, all strains were semi-sensitive or sensitive to Penicillin G and Chloramphenicol. 46,4 % of isolates showed moderate antimicrobial activity against pathogenic bacteria such as *Staphylococcus aureus*, 14,3 % *Escherichia coli*, and 7,1 % *Salmonella* Typhimurium. In summary, *P. pentosaceus* A112, *L. brevis* B11 and *Lactobacillus* spp. G1 strains, they showed good probiotic properties such as resistance to gastric acidity and bile salt, sensitive to most of the selected antibiotics and low or moderate susceptible activity to certain pathogens. As a result, LAB strains isolated from organic products, which are a good source of LAB and should be investigated in detail as alternatives to probiotics produced industrially as probiotic culture candidates.

Keywords: *Probiotic, Tarhana, Probiotic Property, Lactic Acid Bacteria*



1. GİRİŞ

Asırlardır insanların beslenme kültürünün ana ögesi olan fermente ürünler, sadece gıdaların bozulmadan korunması veya besin değeri yüksek gıda üretiminde değil, sağlığı geliştirici faydaları ve hastalıkların önlenmesinde büyük bir potansiyele sahip probiyotik özelliklerinden dolayı da tercih edilmektedirler. Laktik asit bakterileri (LAB), mayalar ve bazı mantar türleri geleneksel fermente gıdalarla ilişkili ana mikroorganizma grubunu oluşturur. Anadolu'da hane halkı düzeyinde birçok farklı geleneksel fermente yiyecek ve içecek türü üretilmektedir. Bunların başında fermente süt ürünleri (peynir, yoğurt, ayran, kefir, kurut), tahıl temelli fermente gıdalar (boza, tarhana), alkollü içecekler (bira, şarap), fermente edilmiş et (sucuk, pastırma), meyve ve sebzeler (şalgam, turşu, hardaliye) gelmektedir (Pamir, 1985; Kabak ve Dobson 2011).

Tarhana, Anadolu'da yaygın olarak tüketilen, geleneksel olarak evlerde ve/veya küçük-ölçekli işletmelerde üretilen tahıl temelli fermente bir gıdadır. Geleneksel, yöresel yöntemlere bağlı olarak değişik çeşitlerde üretilebilen tarhana, genel olarak; buğday ürünleri (irmik, un, bulgur), yoğurt, çeşitli sebze (domates, soğan, biber), baharat, tuz veya maya ilavesiyle hazırlanan hamurun fermente edildikten sonra kimi yörelerde kurutulurken, kimi yörelerde ise kurutmadan yaş halde muhafazası ile elde edilen bir üründür (İbanoğlu Ş. ve İbanoğlu E. 2002).

Hem LAB'lerinin hem de maya fermentasyonlarının eş zamanlı olarak gerçekleşmesi ile üretilen tarhana, içerdiği çeşitli vitamin, mineral, organik asit, serbest aminoasit, diyet lifi, düşük glisemik indeksi ve kolay sindirilebilirliği nedeniyle çocuklar, yaşlılar ve hastalar için sağlıklı ve besleyici özelliği yüksek bir besindir. Fermente bir ürün olan tarhana fonksiyonel ve probiyotik bir gıda olarak değerlendirilmektedir (Ozdemir ve ark. 2007; Daglioglu 2000).

Probiyotikler, gıdalarla doğal olarak veya besin takviyesi şeklinde yeterli miktarda alındığında, bağırsaktaki mikrobiyal dengeyi düzenleyip, konakçının sağlığını olumlu yönde etkileyen ve çoğunluğunu laktik asit bakterilerinin oluşturduğu canlı

mikroorganizmalar olarak tanımlanırlar. Probiyotikler, bulunduğu konağın bağışıklık sistemini gúçlendirerek mikrobiyal patojenlere karşı vücut direncini ve savunmasını artırarak etki gösterirler (Stefan ve ark. 2014).

Geleneksel fermente ürünlerimizden biri olan tarhana hakkında birçok çalışma olmasına rağmen, tarhananın içeriğindeki LAB'lerinin tanımlanması ve probiyotik özellikleri üzerine çok az araştırma yapılmıştır.

Bu tez çalışması kapsamında, geleneksel olarak evlerde ve organik olarak ticari işletmelerde üretilmiş, probiyotik mikroorganizma içerme olasılığı yüksek olan tarhana örneklerinin LAB florasının tanımlanarak, bazı probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmış ve endüstriyel olarak üretilmiş probiyotiklere seçenek olma durumları araştırılmıştır. Tarhana örneklerinden izole edilen bakterilerin kütle spektrometrisi ile cins ve tür tanımlaması yapıldıktan sonra in vitro olarak asit, safra tuzu ve antibiyotik dirençleri ile antimikrobiyal aktivite yönünden bazı probiyotik özellikleri karakterize edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Probiyotik Tanımı

Probiyotik terimi ‘yaşam için’ anlamında olup Yunancadan türetilmiş ve yıllar boyu çeşitli şekillerde kullanılmıştır. Probiyotik kavramını, ilk defa Lilly ve Stillwell (1965) adlı araştırmacılar, “bir mikroorganizmanın diğer mikroorganizmanın gelişimini desteklemek için ürettiği maddeleri” tanımlamak için kullanılmışlardır (Markowiak ve Ślizewska 2017).

1974 yılında Parker, probiyotik tanımlamasında “bağırsak mikrobiyal dengesine katkıda bulunan organizmalar ve maddeler” olarak ifade etmiştir ve bu tanım antibiyotikleride içermektedir (Schrezenmeir, 2001).

Fuller (1989), probiyotikleri “bağırsak mikrobiyal dengesini iyileştirerek konakçı canlıyı olumlu yönde etkileyen canlı bir mikrobiyal yem takviyesi” olarak tanımlayarak canlı hücrelerin etkili bir probiyotiğin temel bir bileşeni olarak önemini vurgulamış ve “maddeler” kelimesinin tanımdan çıkartarak varolan karışıklığı gidermiştir.

Havenaar ve Huis In’t Veld (1992), tüketici ve mikroflora habitatına göre probiyotiklerin tanımını “doğal mikrofloranın özelliklerini geliştirerek tüketiciyi yararlı bir şekilde etkileyen, hayvan veya insanlara mahsus, yaşayan tek veya karışık mikroorganizma kültürü” olarak genişletmişlerdir (Çakır, 2003).

Öte yandan Guarner ve Schaafsma (1998), beklenen etkiyi elde etmek için gereken uygun dozda probiyotik organizmaların kullanılması gerektiğini belirtmişlerdir

2002 yılında, Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya sağlık örgütü (WHO) tarafından belirlenen ve hala geçerliliğini koruyan probiyotikler tanımı “yeterli miktarda alındığında, konakçının sağlığına faydaları olan yaşayan mikroorganizmalar” olarak ifade edilmiştir (FAO/WHO, 2002).

Probiyotikler, sağlıklı bir insanın vücut mukozal yüzey ve sindirim bölgelerinde yaşayan, kolonize olmuş canlı mikroorganizmalar olup, bağırsaktaki mikrobiyal dengeyi geliştirerek ve yarışma yolu ile reseptörlere bağlanıp, patojenleri inaktive edip bağışıklığı ayarlayarak konağa etki ederler. İnsan sindirim sisteminde bağırsak mikroorganizma florasını oluşturan 500'e yakın farklı türde probiyotik ve/veya patojen mikroorganizma belirli bir dengede içinde yaşar. Doğumda steril olan gastrointestinal sistemde daha sonra çevreden alınan mikroorganizmalar ile kontaminasyon ve kolonizasyon süreci başlar. Antibiyotik kullanımı, radyasyon tedavisi, stres ve enfeksiyon ile açığa çıkan patojen bakteriler, bağırsağa yerleşerek dengeyi bozarlar ve çeşitli enfeksiyonlara neden olarak immünoenflamatuar ve otoimmün hastalıklara olan yatkınlığı artırır. Probiyotik bakteriler ise bağırsak duvarına tutunarak, patojen mikroorganizmaların bağırsakta koloni kurmasını engeller ve dengeyi yeniden sağlayarak sağlığa olumlu yönde etki ederler (Guarner ve Malagelada 2003; Fanaro ve ark. 2003; Dogan ve Ozpınar 2017)

Gastrointestinal sisteme transfer olan probiyotik bakterilerin canlılıklarını sürdürüp etkili olabilmesi için mide asidine ve safra tuzuna dayanıklı olmaları, antibiyotiklerle alındıklarında canlılıklarını sürdürebilmeleri, sindirim sisteminde kolonize olarak patojenlere karşı antagonistik etki göstermeleri gerekmektedir (Arihara 2006; Soccol ve ark. 2010).

Probiyotik ürünler, probiyotik mikroorganizmaları içeren taşıyıcı gıdalar veya içerisinde probiyotik mikroorganizma olan değişik vitamin, enzim ve aroma bileşenleri ile desteklenerek direkt olarak tablet veya kapsül haline getirilmiş insan sağlığını destekleyici preparatlardır. Probiyotikler, fermente gıda ürünleri ve eczacılık ürünlerine kadar geniş bir kullanım alanına sahiptir. Probiyotik ürünler, dondurarak kurutulmuş bakteri kültür tableti/kapsülü olarak veya probiyotik bakterilerin gıdalara eklenmesi ile tüketilirler (Ouweland ve ark. 2002; Rolfe 2000).

Probiyotik içeriklerin, takviyelerin ve gıdaların küresel satışının 2020 yılına kadar yıllık %8 artış oranıyla 2015'den 2020'ye kadar 50 milyar ABD Dolarına ulaşması beklenmektedir (Min ve ark. 2018).

2.2 Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar

Probiyotik mikroorganizmaların çoğunluğunu LAB oluşturmakla birlikte bazı farklı bakteriler, maya ve küflerde probiyotik gıda veya preparat hazırlanmasında kullanılmaktadır (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1 : Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar (Ötleş ve ark. 2014).

<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>L.brevis, L.acidophilus, L.amylovorus, L.bulgaricus, L.casei L. crispatus, L.delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus, L.fermentum, L.gallinaruma, L.gasseri, L.helveticus, L.johnsonii, L.plantarum, L. lactis, L. reuteri, L. paracasei, L. rhamnosus, L. salivarius</i>
<i>Streptococcus</i> spp.	<i>S.salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>
<i>Lactococcus</i> spp.	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Leuconostoc</i> spp.	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
<i>Pediococcus</i> spp.	<i>P. pentosaceus, P. acidilactici</i>
<i>Bifidobacteria</i> spp.	<i>B. adolescentis, B. animalisc, B. bifidum, B. breve B. essensis, B. infantis, B. laterosporus, B. longum</i>
<i>Propionibacteria</i> spp.	<i>P. freudenreichii, P. acidipropionici, P. thoenii, P. jensenii</i>
<i>Enterococcus</i> spp.	<i>E. faecium, E. faecalis,</i>
<i>Bacillus</i> türü	<i>B. alcalophilus, B. cereus, B. clausii, B. coagulans, B. subtilis</i>
Diğer bakteri	<i>Escherichia coli, Sporolactobacillus inulinusa</i>
Maya	<i>Saccharomyces cerevisiae (boulardii)</i>

İnsan bağırsak florasının doğal üyeleri olan *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Enterobacterium* spp. gibi LAB üyeleri de insan beslenmesi için tasarlanan probiyotik gıda ve takviyelerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, bu bakteriler GRAS (Genel Olarak Güvenli) olarak kabul edilmekte ve geleneksel fermente gıdaların üretiminde kullanılmaktadır (Dunne, 2001).

Yoğurttaki *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* türleri hariç içeriğindeki diğer laktik asit bakterileri olan probiyotik mikroorganizmalar da bağırsak mikroflorasında yaşayabilmektedirler (Timmerman ve ark. 2004).

2.3 Laktik Asit Bakterilerinin Özellikleri

LAB ile ilgili çalışmalar 1900'lü yılların başında sütün fermantasyonu üzerine başlamış olup, ilk saf kültür (*Lactococcus lactis*) 1873 yılında Lister tarafından elde edilmiştir.

1919'da Orla-Jensen, LAB üyelerinin karakterizasyonu hakkında monografi yayınlamıştır (Orla-Jensen 1919; Von Wright ve ark. 2011). Günümüzde hala geçerliliğini koruyan LAB'lerinin sınıflandırılmasında farklı morfolojileri, glukozu fermente edebilmeleri, farklı sıcaklıklarda gelişebilmeleri, laktik asit üretim şekilleri, yüksek tuz konsantrasyonunda gelişimleri, asit veya alkali toleransları gibi özellikleri kullanılmaktadır (Quinto ve ark. 2014).

LAB üyelerinin insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri ilk kez Metchnikoff tarafından; günlük diyetlerinde *Lactobacillus* spp. içeren yoğurt yiyerek beslenen Bulgar köylülerinin istisnai olarak ortalama 87 yıllık bir ömre sahip olduğunu fark etmesiyle belirtilmiştir. Metchnikoff'un oto-zehirlenme teorisine göre bağırsaktaki patojenlerin ürettiği toksinler insan vücudu yavaşça zehirlenmekte ve enterik patojenlerin çoğalmasıyla da zayıflayan vücudun direnci düşmektedir. Bu olumsuz durumun laktik asit bakterileri barındıran ekşi süt gibi ürünlerin tüketimi ile tersine çevrilerek başarıyla önlenebileceği belirtilmiştir (Metchnikoff 1907; Grigoroff 1905; Vasiljevic ve Shah 2008).

LAB üyeleri morfolojik açıdan kısa, uzun çubuk ya da kok şeklinde veya tetrat gibi çok değişken özellik göstermekle birlikte, fizyolojik açıdan oldukça benzerdirler. Gram pozitif olan LAB'leri karbonhidratların fermantasyonu ile

nihai ürün olarak laktik asit üreten, katalaz negatif, bazı türler hariç spor oluşturmeyen, anaerobik ya da mikroaerofilik, hareketsiz ve birkaç üyesi hariç yalnız tek düzlemde bölünen mikroorganizmalardır. LAB türleri termofilik ve mezofilik özellik göstermekle birlikte farklı sıcaklıklarda (10-45°C) ve yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişebilmekte, yüksek asit ve bazik ortama uyum sağlayabilmektedirler (Lee ve Salminen 2009).

LAB üyeleri arasında; *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., *Aerococcus* spp., *Alloiooccus* spp., *Carnobacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Leuconostoc* spp., *Oenococcus* spp., *Pediococcus* spp., *Tetragenococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Symbiobacterium* spp., *Vagococcus* spp. ve *Weissella* spp. cinsleri bulunmaktadır (Horvath ve ark. 2009).

Doğada yaygın olarak bulunan LAB'leri; gıda ve yem gibi karbonhidrat substratlarının mevcut olduğu her yerde (süt ve tahıl ürünleri, et, balık, fermente sebze ve içecekler) bitki materyalleri, insan ve hayvanların genital, intestinal ve solunum sistemlerinde, toprakta, suda ve kanalizasyonda bulunurlar (Kandler ve Weiss 1986; Liu ve Dong 2003; Klaenhammer ve ark. 2005).

Türden türe değişmekle birlikte LAB'leri laktik asit fermentasyonu sırasında H₂O₂, organik asit, bakteriyosin, etanol, diasetil, CO₂, asetaldehit gibi çeşitli bileşikler üretirler. Antimikrobiyal etkiye sahip olan bu bileşiklerin çoğu geleneksel fermente gıdalara kendine özgü koku, tat ve yapı kazandırmakla birlikte, ürünü mikrobiyal bozulmalara veya oluşabilecek mikrobiyal hastalık risklerine karşı koruyup, ürünün raf ömrünü uzatmaktadır. Fermente gıdaların üretiminde, ürün kalitesinin geliştirilmesinde standardizasyonun sağlanması amacıyla LAB'lerinin starter kültür olarak kullanımı mevcuttur. Gıdanın duysal, reolojik özelliklerinin geliştirilmesi ve korunması için kullanılan starter kültürler, eski pasajlama yöntemleri ile yer değiştirmiştir. Günümüzde LAB üyeleri; fermente süt, et, sebze, tahıl, kahve, kakao, alkol gibi çok sayıda ürünün fermentasyonunda temel görev alan ve gıda endüstrisinde ürün kalitesini arttıran bakteriler olarak değerlendirilmektedir (Lindgren 2002; Çakır 2003; Makarova ve ark. 2006; Zacharof ve ark. 2011; Zehir 2017).

LAB'lerinin güvenilir bir şekilde probiyotik olarak kullanılabilmesi için, toksik bir etkiye sahip olmaması, sindirim sistemi boyunca canlı kalabilmesi, düşük pH'a toleranslı olması, safra tuzlarını hidroliz edebilmesi, antimikrobiyal madde

üretebilmesi ve bağırsaklarda kolonize olup, gelişebilme gibi birçok özelliğe sahip olması gerekmektedir (Kaur ve ark. 2002; Bağdatlı ve Kundakçı 2013).

2.4 Probiyotik Mikroorganizma Seçme Kriterleri

Probiyotik mikroorganizmalar güvenilirlik, işlevsellik ve teknolojik olma kriterlerine göre seçilmektedir (Saarela ve ark. 2000).

2.4.1 Güvenilirlik kriteri

- Normal insan bağırsak mikoflorasından olmalıdır.
- Kesin tanısı yapılmalı, patojen ve toksijenik olmamalıdır.
- Güvenilir olmalıdır, kullanıldığında yan etkisi olmamalıdır.
- Antibiyotik direnç geni taşımamalıdır.

2.4.2 İşlevsellik kriteri

- Antimikrobiyal metabolit üretmelidir.
- Mide asidi ve safra tuzlarına karşı dirençli olmalıdır.
- Karsinojenik ve patojenik bakterileri inhibe edebilmelidir.
- Bağırsak epitel hücrelerine yapışabilmeli ve kolonizasyon sağlayabilmelidir.
- İnsan veya hayvanlarda hastalıklara karşı yararlı etkiler oluşturma kabiliyetinde olmalıdır.
- Kullanılan suş ürün içerisinde uzun süre canlılığını koruyabilmeli, üründe istenmeyen oluşumlara neden olacak maddeler üretmemelidir. Bunun yanı sıra ürettiği bazı metabolitlerle ortamdaki patojen veya kontaminant bakterileri inhibe edebilmelidir.

2.4.3 Teknolojik olma kriteri

- Yüksek miktarlarda üretime uygun ve verimli olmalı,
- Üretim, depolama ve dağıtım sürecinde canlılığını ve özelliklerini koruyabilmelidir (FAO 2002; EFSA 2005; Markowiak ve Ślizewska 2017).

2.5 Probiyotiklerin etki mekanizması

Moleküler ve genetik çalışmalarla probiyotiklerin yararlı etkilerinin temelleri dört mekanizma ile açıklanmıştır (Hennequin ve ark. 2000).

- a. Antimikrobiyal maddelerin üretimi ile patojenlere karşı antagonistik etki,
- b. Besin maddelerine ve epitele yapışmak için patojenlerle rekabet,
- c. Konağın immünomodülasyonu,
- d. Bakteriye toksin üretiminin engellenmesi.

İlk iki mekanizma, probiyotiklerin patojen mikroorganizmalar üzerine etki etmesi ile enfeksiyonların önlenmesinde, tedavisinde ve konağın bağırsak mikrobiyosunun dengesinin korunmasında önemlidir. Probiyotikler çeşitli organik asitler sentezleyip ortamın pH'ını düşürerek mikrosin ve bakteriyosin gibi antimikrobiyal metabolitler üreterek patojen bakteriler üzerinde antagonistik etki gösterirler. Örneğin, *Lactobacillus acidophilus* bağırsak patojenlerine karşı antibakteriyel etki sağlayan hidrojen peroksit, laktik asit, laktosidin, asidolin ve asidofilin üretmektedir (Heczko ve ark. 2006).

Probiyotik suşların hareket mekanizmalarından biri olarak birlikte toplanma kabiliyeti, patojenik bakterilerin epitel doku üzerinde kolonileşmesini önleyerek koruyucu bir bariyer oluşumuna yol açabilir. Probiyotikler, tutunma alanları için patojenlerle rekabete girerek epitel hücrelerine yapışarak patojenlerin epitele tutunma ve yerleşmelerini bloke eder. Ayrıca, probiyotik bakteriler besin rekabetine girerek de patojen mikroorganizmaların üremelerini inhibe ederler. Probiyotik suşlar, sindirim sistemindeki epitel hücreler ile etkileşimi sonucu antikor ve immunoglobulin üretimini arttırarak immünolojik modülasyona yol açar. Bu şekilde mukoza tabakasının bariyer özelliğini ve geçirgenliğini geliştirirerek patojenlerin sindirim sisteminde tutunmalarını engellerler (Servin ve Coconnier 2003).

Probiyotik suşların amin, amonyak indol, gibi toksik maddelerin bağırsaklardan emilimini azalttığı rapor edilmiştir (Guerin-Danan ve ark. 1998).

2.6 Probiyotiklerin İnsan Sağlığı Üzerine Yararlı Etkileri

Fermente ürünler ve probiyotikler hem sağlığı olumlu yönde etkilemektedir hem de çeşitli hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanılan doğal destekleyicilerdir.

Probiyotiklerin insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilerini laktoz intoleransı üzerine etkisi, kronik ishali önlemesi, atopik dermatit ve astım vb. allerjik hastalıklar, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu ve enflamatuvar bağırsak hastalıklarının önlenmesi ve tedavisinde etkisi, sindirim sistemi enfeksiyonlarını engellemesi, iritabl kolon semptomlarını ve kolon kanseri riskini azaltması, kolesterolü düşürmesi ve kalp-damar hastalıklarını engellemesi, sindirim zorluklarını gidermesi, çeşitli vitaminler sentezleyerek besleyiciliği artması ve bağışıklık sistemini iyileştirmesi olarak özetleyebiliriz. Probiyotik bakteriler, tümör oluşumuna sebep olan patojen bakterileri baskılayarak dolaylı yoldan kanser ve tümör riskini azaltmaktadır. Yapılan araştırmalar da fermente süt ürünlerinin tüketimi ile meme ve kolon kanseri gelişimi arasında ters orantı olduğu belirtilmektedir. Probiyotiklerin tümör başlatıcıların ve prekarsinojenlerin aktif karsinojenlere dönüşümünü engellediği, antimutajenik madde salgıladıkları, mutajenleri bağlayıp inaktive ettikleri ve bağırsaklardan emilimini azaltarak intestinal mikroflora üzerinde olumlu etkilere yol açarak bağışıklık sistemini güçlendirdiği bildirilmiştir (Kampman ve ark. 1994; Prasad ve ark. 1999; Saarela 2000; Zuppa ve ark. 2015; George ve ark. 2018).

2.7 Probiyotik Mikroorganizmaların Asit Dirençliliği

Probiyotik olarak kullanılacak bakterilerin sindirim sisteminden geçişinde midenin asidik koşullarına dayanarak hayatta kalması, düşük pH'ya dirençli olma yeteneklerine bağlıdır. Ağız yolu ile alınan probiyotiklerin intestinal sisteme ulaşmadan önce ağız boşluğunda bulunan enzimlerden ve midenin yüksek asit (pH 1.5-3.0) ortamından etkilenmeden canlı olarak bağırsağa ulaşmaları gerekmektedir. Sindirim sırasında mide özsuyu pH değeri 0,9 olmasına rağmen gıda varlığında mide özsuyu pH değeri 3.0'e kadar yükselmekte ve gıda mideden 2-4 saatte ayrılmaktadır. Asit dirençliliği ile ilgili yapılan çalışmalarda pH değeri 2.0 olan ortam çok seçici bir ortam sağlarken pH 3.0 değerinde ise bakterilerin gelişim gösterdiği belirlenmiştir. *Lactobacillus* türlerinin doğasında bu özellik bulunmasına rağmen bazı türlerin ve suşların pH 3.0 ve altında duyarlılıklarının arttığı görülmüştür (Erkkilä ve Petäjä 2000; Pennacchia ve ark. 2004; Ramirez ve Chavarin 2013).

2.8 Probiyotik Mikroorganizmaların Safra Tuzu Direnci

Probiyotik olarak kullanılacak bakterilerin mide asitliği toleransının yanı sıra safra tuzlarına karşı da dirençli olmaları gerekmektedir. Düşük mide asit ortamından canlı olarak geçen bakteriler daha sonra duodenum içinde bulunan safra tuzlarından etkilenmektedir. Karaciğerde kolesterol kullanılarak sentezlenen safra asitleri, safra kesesine iletilir oradanda ihtiyaç duyulduğunda ince bağırsağı salgılanır ve biyolojik deterjan benzeri etkiye sahiptir. Safra tuzları, kolesterolün suda çözünebilen son ürünüdür. Bazı bakteriler safra tuzlarını safra tuzu hidroliz enzimi ile hidrolize ederek canlıklarını sürdürmektedir. Safra tuzu hidroliz aktivitesi birçok bakteride belirlenmiştir. İnsan gastrointestinal sisteminde safra konsantrasyonunun değişmesine rağmen, ortalama bağırsak safra konsantrasyonunun % 0.3 w/v olduğu ve sistemde kalma süresinin 4 saat olduğu bildirilmektedir (Gorbach ve Goldin 1992; Erkkilä ve Petäjä 2000; Begley ve ark. 2006; Gilliland ve ark. 2010).

2.9 Probiyotiklerin Mikroorganizmaların Antibiyotik Direnci

Probiyotik bakteri seçiminde, antibiyotiklere karşı dirençlilik güvenilirlik kriterlerinden birisidir. Direnç; bir mikroorganizmanın, antimikrobiyal bir ajanın öldürücü veya üremeyi durdurucu etkisine karşı koyabilme durumudur. Tedavi süresinin sınırlı olmasına rağmen yüksek antibiyotik konsantrasyonlarında, mikroorganizmanın hayatta kalabilme durumuna “duyarlılık” denilmektedir. Antibiyotik direnci, mikroorganizmanın kendi doğal özelliği olabileceği gibi gen transferi ile de kazanılmış olabilir. Direnç gelişimi gereksiz ve uygunsuz antibiyotik kullanımına bağlanmakla birlikte bakterilerin olumsuz çevre koşullarına adapte olabilmek için geliştirdiği bir savunma mekanizmasıdır (Saarela ve ark. 2000; Ashraf ve Smith 2016).

Probiyotiklerin seçiminde antibiyotik direncinin önemi, bu bakterilerin direnç genlerini transfer etme kapasitelerinin olmasındandır. Probiyotik mikroorganizmaların antibiyotik direnç genlerini taşımaları ve bağırsak florasındaki kommensal veya patojen bakterilere antibiyotik direnç genlerinin aktarılmasına katkıda bulunabilirler. Bu sebeple gıda ve takviye ürünlerde kullanılacak LAB üyelerinin direnç genleri araştırılmalıdır (Hummel ve ark. 2007).

Probiyotik gıda ürünlerinin tüketiminin artması ile probiyotik mikroorganizmalar aracılığıyla patojenlere antibiyotik direnç genlerinin taşınması riski insanlarda ciddi sağlık sorunlarının oluşabileceğini düşündürmektedir (Özteber, 2013).

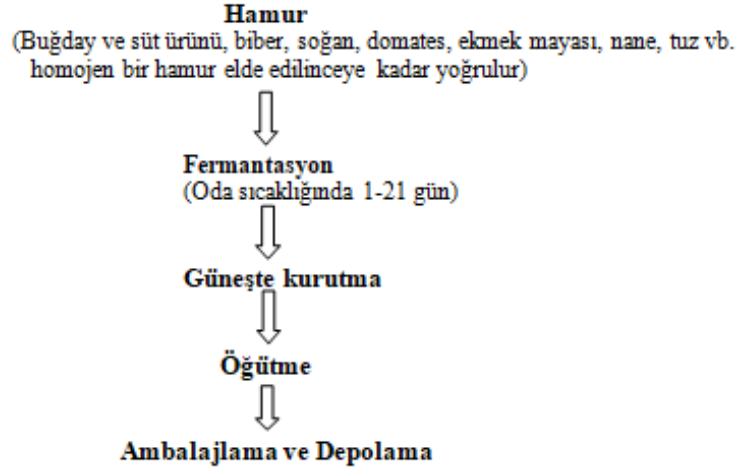
2.10 Probiyotik Mikroorganizmaların Antimikrobiyel Aktivitesi

Probiyotik bakterilerin patojen veya bozulma etmeni mikroorganizmalara karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktivite, çeşitli antimikrobiyal maddeler (laktik asit, asetik asit, hidrojen peroksit, diasetil ve bakteriyosin vb.) üretilmesi ile sağlanmaktadır. Bunun yanı sıra probiyotiklerin kolonizasyon bölgeleri veya besin için patojen bakterilerle yarışarak intestinal mukozaya yapışmalarını önledikleri ve bu şekilde patojenlerin büyümesini engelleme yeteneği gösterdikleri düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda *Lactobacillus* cinsine ait türlerin çeşitli bakteriyel enfeksiyonlara karşı laktik asit, hidrojen peroksit gibi antibakteriyel maddeler üreterek patojenlere karşı antagonistik etki gösterdikleri belirtilmiştir (González ve ark. 2003; Jamalifar ve ark. 2011; Dasari ve ark. 2014).

2.11 Tarhana Tanımı ve Üretimi

İlk kez Orta Asya'dan Türkler ve Moğollarla birlikte Anadolu'ya gelerek Orta Doğu ve Balkan ülkelerine yayıldığı kabul edilen tarhana; ülkemize özgü fermente, tahıl ve yoğurt bazlı bir üründür (Ibanoglu Ş. ve Ibanoglu E.1999; Özçelik ve Özdoğan, 2008). Tarhanaya olan; Yunanistan'da "trahanas", Suriye, Mısır, Filistin, Ürdün ve Lübnan'da "kishk", Irak'ta "kushuk", Macaristan'da "tahonya", Finlandiya'da "talkkuna", Türkistan'da "göce" ve Meksika'da "atole" olarak bilinmektedir (Siyamoglu 1961; Erbaş ve ark.2005).

Ülkemizde tarhana; genellikle önceki kuşaklardan öğrenilen geleneksel yöntemlerle evlerde, son yıllarda ise hazır çorba olarak endüstriyel ölçekte üretilmektedir. Hammadde içeriği ve miktarı yöresel olarak farklılık göstermesine karşın ev yapımı ve endüstriyel tarhana üretimleri genel olarak hamur karıştırma, fermantasyon, kurutma ve öğütme olmak üzere dört ana aşamadan oluşmaktadır (Şekil 1), (Ozdemir ve ark. 2007; Keşkekoglu 2009).



Şekil 2.1 : Geleneksel tarhana üretim akış şeması

Ev yapımı tarhana üretiminde tarhana hamuru; granül ham buğday veya un, süzme yoğurt veya süt, çeşitli sebze (domates, soğan, biber), tuz ve baharatlar (nane, kekik, dereotu, tarhana otu vb.) gibi tat ve aroma verici maddeler, bazen nohut gibi besin değerini artırıcı baklagiller, bazen de ekmek mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) ilavesiyle elde edilir. Bütün bileşenler homojen hale getirilinceye kadar karıştırılıp yoğrulduktan sonra, 30-35°C’de 1-21 gün arasında fermantasyona bırakılır. Fermente edildikten sonra hazırlanan karışım, genellikle güneşte kurutulup, öğütülüp veya küçük parçalara bölünüp, muhafaza edilir. Bazı bölgelerde tarhanaya tam buğday unu, süt mercimek, irmik, mısır unu, yumurta ve soya fasulyesi de katılmaktadır (Daglioglu 2000; Akbaş ve Coşkun 2006; Coşkun ve ark.2014).

LAB üyelerinin ve mayaların aktivitesi ile gerçekleşen tarhana üretiminde, fermantasyon sonucunda laktik asit, etil alkol, karbondioksit oluşmakta ve bu maddeler tarhananın karakteristik kokusunu ve aromasını vermektedir (Ozdemir ve ark. 2007).

Tarhananın temel üretim süreçleri birbirine benzer olmasına rağmen, her yörenin gelenek ve beslenme alışkanlıklarına göre farklı tipte tarhanaların üretimi mevcuttur. Başlıca tarhana çeşitleri Ege, Uşak, Gediz, Maraş, Beyşehir, Kastamonu, Trakya ve Sivas yörelerinde yaş, cips, göçmen, kızılıçık, et, hamur, süt, üzüm, top, ak, pancarlı ve şalgamlı tarhanalar vb. gibidir (Çekal ve Aslan 2017).

TSE 2282 (2004) standardına göre tarhana; Un, Göce, İrmik ve Karışık tarhana olarak 4 grupta sınıflandırılmıştır (Şengün, 2006). Daha çok Ege Bölgesinde üretilmekte olan **Un tarhanası**; çeşitli sebzelerin (domates, soğan, biber) ve tarhana

otunun kaynatılması ile meydana gelen karışımın soğutulup, daha sonra yoğurt ve un ile karıştırıp hamur haline getirilerek farklı sürelerde fermantasyona bırakılması ile elde edilir. Fermantasyon tamamlandıktan sonra küçük parçalara bölünen hamur, güneşte kurutularak un tarhanası elde edilir ve yaklaşık iki sene bozulmadan saklanabilir. **Göce tarhanası** üretiminde, buğday yarması (dövme) çığ veya tuzla birlikte az ısıtılıp soğutulduktan sonra yoğurtla karıştırılıp fermantasyona bırakılmaktadır. Fermantasyon sonucunda elde edilen hamur yöresel farklılıklara göre iri parçalar halinde çarşaf üzerinde kurutulmaktadır (top tarhana) veya kendine özgü bezler üzerine ince bir tabaka halinde serilerek kurutulmaktadır (Cips Tarhana). **İrmik tarhanası** üretiminde buğday ürünü olarak irmik kullanılırken, **Karışık tarhana** üretiminde ise buğday kırması ve unu ve/veya irmik kullanılır (Soyyığıt, 2004).

Tarhananın ticari üretiminde düz (straight) metot ve ekşi hamur (sourdough) metodu olarak adlandırılan iki metot kullanılmaktadır (Daglioglu 2000; Ozdemir ve ark. 2007). Gelişen teknoloji ile tarhananın formülasyonunun, fermantasyon şartlarının ve kurutma metodlarının değiştirilmesiyle kimyasal, fiziksel, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri ile ilgili araştırmalar yapılarak tarhana sanayi ölçekli olarak üretimi başlatılan bir ürün haline gelmiştir. Yapılan değişik çalışmalarla birlikte tarhananın üretim çeşitliliğini artırma, üretimini optimize etme ve besin içeriğini daha da geliştirmeye çalışılmaktadır. Bu amaçla geleneksel olarak üretilen kuru tarhananın yanında; yaş tarhana, cips tarhana, tahıl ve baklagil ilaveli tarhanalar, sprey kurutma, atmosferik kaynatma veya basınçlı kurutma yöntemleriyle elde edilen toz tarhana, ekstrüzyon tarhana, düşük viskoziteli tarhana gibi çeşitli tarhana üretim çalışmaları yapılmaktadır (Gocmen ve ark. 2004; Çakıroğlu 2007).

Günümüzde sağlıklı yaşamayı ve çevreyi korumayı hedefleyen bilinçli tüketici, endüstriyel ürünler yerine doğal ve organik olarak üretilmiş ürünleri tercih etmektedir (DBB. 2015; Bozyığıt ve Doğan 2015). Organik tarım, doğal dengeyi tahrip etmeyen, çevreyi kirletmeden, canlılarda zararlı etki bırakmayan, üretim prosesinden tüketime kadar sertifikalı kontrol edilmiş ve hiçbir sentetik kimyasal kullanmadan temiz ürünler üretmeyi hedefleyen üretim tekniğidir. Doğal ürün ise hiçbir sentetik kimyasal kullanmadan ve çevreye zarar vermeden elde edilen üründür. İki üretim metodu arasındaki temel fark, organik üretimde üretimin her aşamasının denetlenmesi ve üretim sertifikası olmasıdır (Gil ve ark., 2000).

Organik tarhana üretmek için kullanılacak sebzeler ve diğer gıdaların organik tarım tekniği ile üretilmesi gerekmektedir. Organik tarhana, organik sebzeler (domates, biber, nane, soğan, nane, tarhana otu), organik buğday unu, organik yoğurt ve ekşi hamur mayasından hazırlanan hamurun fermantasyondan geçirilerek kurutulması ve öğütülmesi ile elde edilir (Tombuldogal, 2019).

2.12 Tarhananın Besin Değeri ve Mikrobiyolojisi

Tarhana, içeriğindeki probiyotikler, prebiyotikler ve sindirilemeyen besin ögeleri nedeniyle fonksiyonel bir gıda olarak kabul edilir. Tarhana bileşiminde yüksek oranda A-B grubu vitaminleri ile demir, sodyum, potasyum, magnezyum, çinko, kalsiyum, bakır, manganez gibi çeşitli mineral maddeler bulunduran, besin değeri oldukça yüksek, kolay sindirilebilir bir üründür. Ayrıca tarhana, esansiyel amino asitlerden oldukça zengin ve kaliteli bir protein kaynağıdır. Tarhana, besin değerinin yanında iştah açıcı, sindirimi kolaylaştırıcı, bağırsak florasını düzenleyici, düşük glisemik indeksi, diyabet ve kolesterol diyetlerine uygun olması nedeniyle özellikle bebek, çocuk, yaşlı ve hasta beslenmesinde büyük bir önem taşımaktadır (Ibanoğlu ve ark. 1999; Ekinci, 2005; Ozdemir ve ark. 2007; Yıldırım ve Güzeler 2017).

Tarhana bileşiminin her yörede farklı olması, fermantasyondaki LAB'lerini ve maya çeşitliliğini de doğrudan etkilemekte ve farklı tat ve kokularda tarhana üretilmesine sebep olmaktadır. Tahıl ürünleri fermantasyonunda ekmek mayası (*S. cerevisiae*) ve LAB'leri (*S. thermophilus*, *L. lactis*, *L. diacetylactis*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. casei* ve *L. cremoris*) en önemli fermantatif mikroorganizmalardır. Tarhana fermantasyonu ise genellikle ekmek mayası ve yoğurt bakterileri (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus*) ile sağlanarak tarhananın kendine özgü ekşi ve asitlik tadı kazandırılır (Ozdemir ve ark.2007). Tarhanayı oluşturan besin bileşenleri, fermantasyonla birlikte LAB'lerinin etkisi ile büyük moleküllü bileşikler parçalanarak sindirilebilirliği uygun bir gıda elde edilir. Tarhana fermantasyonu ile pH'nın 3.8 ile 4.2 arasına düşmesi ve kurutulan tarhananın neminin % 6 ile % 9 arasında olması, üründe bozulma etmeni küf ve bakterilerin gelişmesini baskılayacak bir ortam oluşturur. Bu şekilde tarhana bozulmadan 1-2 yıl saklanabilir (Daglioglu, 2000).

2.13 Probiyotiklerle İlgili Yapılan Bazı Araştırmalar

Yılmaz (1994) çalışmasında, laboratuvar ortamında üretilen üç tip tarhanadan LAB izolasyonu yapılmış ve elde edilen isolatlar; *L.fermentum*, *P.pentosaceus*, *S.thermophilus*, *Leu.mesenteroides*, *L.curvatus*, *L.bulgaricus*, *L.cellobiosus*, *L.casei* subsp. *casei*, *L.brevis*, *L.helveticus* olarak rapor etmiştir.

Şimsek ve ark. (2006) tarafından Uşak yöresinden topladıkları ekşi hamur örneklerinden izole ettikleri LAB'leri; *L. acidophilus*, *L.plantarum*, *L. divergens*, *L. viridescens*, *L. delbrueckii*, *L. brevis* subsp. *lindneri* olarak bildirmişlerdir.

Şengün (2006) çalışmasında Ege Bölgesinde üretilen bazı geleneksel tarhana bakteri florasının tanımlanması üzerine çalışmasında; tarhana hamuru, kuru tarhana, yoğurt ve un örneklerinden toplam 256 adet LAB'si izolatu elde etmiştir. Tanımlar sonucunda, bu isolatların 35 adetinin *Streptococcus* (% 13,7) cinsi, çoğunluğu oluşturan 117 adet izolatu *Lactobacillus* cinsi (% 45,7), 74 adet izolatu *Enterococcus* cinsi (% 28,9), 11 izolatu *Pediococcus* cinsi (% 4,3), 345 izolatu *Weissella* cinsi (% 1,2), 5 adet izolatu *Lactococcus* cinsi (% 1,9) ve 4 adet izolatu *Leuconostoc* cinsi olduğunu (% 1,5) rapor etmiştir.

Şengün ve ark. (2009), Türkiyenin 8 değişik bölgesinden toplanan tarhana örneklerinden izole edilen LAB'lerinin moleküler yöntemlerle tanımlaması üzerine çalışmalarında; tarhana, yoğurt ve un örneklerinden toplam 226 adet LAB'si izolatu elde etmişlerdir. İzolatlardan *P. acidilactici*, *S. thermophilus*, *L. fermentum*, *E. faecium*, *P. pentosaceus*, *Leu.pseudomesenteroides*, *W. cibaria*, *L.plantarum*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Leu. citreum*, *L. paraplantarum* ve *L. casei* türleri olarak tanımlamışlardır.

Settanni ve ark. (2011) tarafından yapılan araştırmada, 30 °C ve 40 °C'de fermente edilen iki farklı tarhana hamurunda LAB ve maya florasının gelişimi değerlendirilmişlerdir. Tarhana fermantasyonu esnasında toplam 222 LAB izole edilerek, fenotipik ve polimorfik özelliklerine göre tanımlanmıştır. Buna göre LAB izolatları; *P. acidilactici*, *L. brevis* ve *L. plantarum* olarak belirlenmiştir. 30 °C sıcaklıkta sürdürülen fermantasyonda çoğunlukla Laktobasillerin; 40 °C sıcaklıkta ise Pediokokların baskın florayı oluşturduğunu bildirmiştir.

Özel (2012) tarafından yapılan çalışmada, Uşak yöresinde ev ve işletmelerden temin edilen tarhana hamurlarının LAB ve maya tür çeşitliliğini incelemiştir. Çeşitli

tarhana hamuru örneklerinden izole edilen LAB'leri; *L. plantarum*, *L. brevis*, *Leu. mesenteriodes*, *Leu. pseudomesenteriodes*, *P. acidilactici*, *Lac. lactis*, *L. fobifermentas*, *L. mindensis*, *L. paralimentarius*, *L. alimentarius*, *L. namurensis*, *Leu. citreum*, *L. pentosus*, *L. farciminis* ve *L. casei* olarak tespit edilmiştir.

Tabatabaei-yazdi (2012), İran'da üretilen tarhanaya benzer Tarkhineh fermentasyonunun üçüncü gününde izole edilen 10 LAB izolatını; *L. nagelii*, *L. bifermantas*, *Leu. cremoris*, *L. fructosus*, *L. fermentum*, *L. intestinalis*, *L. acidipiscisi* ve *L. agilis* olarak tanımlamıştır.

Zoral (2013) çalışmasında, insan gaitasından izole edilmiş 25 adet *Lactobacillus* spp. suşlarının; düşük pH direnç ve yüksek safra tuzu toleransı, safra tuzu (kolik asit) hidrolizi, patojenlere karşı antimikrobiyal aktivite, antibiyotik direnç ve kolesterol asimilasyonunu gibi bazı probiyotik özelliklerini belirlemiştir. Değişik pH koşullarında (2.0, 2.5 ve 3.0) asitliğe en dirençli suşlar 3 adet *L. Fermentum* ve 1 adet *L. plantarum* olarak bulmuştur. Değişik safra tuzu konsantrasyonlarına (%0.3, %0.5, %1.0 ve % 1.5) 1 adet *L. delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, 1 adet *L. pentosus*, 2 adet *L. Plantarum* ve 2 adet *L. fermentum* izolatlarını toleranslı olarak ve safra tuzu (kolik asit) hidrolizinde en yüksek değerleri ise *L. pentosus* izolatu olarak belirtmiştir. Suşların genelinin 13 farklı antibiyotiğe karşı duyarlı olduklarını bildirmiştir. *Lactobacillus* spp cinsi izolatların; *E. Coli*, *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae*, *Neisseri* ve *S.epidermidis* türü patojenlere karşı inhibitör etki gösterdiğini rapor etmiştir.

Yiğit (2009) çalışmasında, çeşitli süt ve süt ürünlerinde izole ettiği 209 bakteri arasından yüksek antimikrobiyal aktivite gösteren 73 izolatu tanımlamış ve izolatların %58'i *Enterococcus faecium* diğerlerini *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus durans*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Pediococcus acidilactici* olarak bulmuştur. Tanımlanan izolatların probiyotik özellikleri test edilmiş ve izolatlardan 68'i pH 3.0 te, 60'ı pH 2.0'de, 39'u ise pH 1.0'de gelişim göstermiş olup, 13 izolat ise pH 2.0'de canlılıklarını 24 saat süresince devam ettirmiştir. İzolatlardan 22 tanesi % 0,4 fenolde gelişmiştir. İzolatlardan 11'i kullanılan Siprofloksasin, Penisilin G, Gentamisin, Netilmisin Sülfat ve Sefaklor'a karşı dirençli bulunurken; 7 izolat test edilen antibiyotiklerin tümüne karşı duyarlı olduğunu bildirmiştir.

Akman (2009) tarafından yapılan çalışmada, çeşitli LAB'lerinin probiyotik özelliklerini araştırılmış, test edilen kültürlerinin çoğunluğunun % 0,3 safra tuzunda

canlılığını koruduğu, *L.casei* suşlarının pH 2,5’de 2-4 saatlik inkübasyon sonunda bakteri sayısında azalma olduğunu bildirmiştir. *L.casei*’nin novobiocin, ampicillin, erithromycin, rifampicin, gentamicin, tetracyclinee dirençli iken chloramphenicol, cephalothine genellikle orta derecede hassas ve novobiocine hassas olduğunu belirtip, *L. rhamnosus*’un ise; gentamicin, Penicillin G, tetracycline, vancomycine dirençli iken; chloramphenicol, erithromycin, novobiocine hassas olduğunu belirterek, araştırılan 29 LAB suşundan, 3’ünün probiyotik özelliğe sahip olduğunu bildirmiştir.

Dogan ve Ozpınar (2017), çeşitli fermente gıda ürünlerinin probiyotik özelliklerinin araştırılması ile ilgili yaptıkları çalışmada, gıdalardan izole edilen 144 adet LAB izolatını MALDI-TOF MS kullanarak 127 adet *E. faecium*, 7 adet *L. plantarum*, 5 adet *L.paraplantarum* ve 5 adet *L. brevis* suşları olarak tanımlamışlardır. Bu izolatlardan 35 adeti düşük mide pH 2.5’e ve 8 adeti ise % 0.3 safra tuzuna dirençli çıkmıştır. Antibiyotik duyarlılığı ve antimikrobiyal aktiviteleride test edilen 3 *L. brevis* ve 3 *L.plantarum* suşlarının probiyotik özelliklere sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1 Materyal

Bu tez çalışmasında kullanılan 55 farklı tarhana örneğinden 33 adeti Manisa yöresi (Soma, Musa Hoca, Göktaş, Salihli), 2 adeti Kütahya, 1'er adeti Balıkesir, Sivas, Tekirdağ, Kastamonu, Giresun yörelerinden geleneksel üretim yapan farklı evlerden ve 15 adeti organik üretim yapan ticari ölçekteki 10 farklı işletmeden temin edilmiştir. Tarhana örnekleri, evlerde saklandıkları koşullardan ve ticari olanlar kendi ambalajlarından steril kavonozlara aseptik koşullarda, alınarak laboratuvara getirilmiş ve analiz edilinceye kadar +4°C'de saklanmıştır.

3.2 Metod

3.2.1 Laktik asit bakterilerinin izolasyonu

Tarhana örneklerindeki muhtemel *Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp. ve *Pediococcus* spp. türlerinin izolasyonu için MRS (De Man Rogosa Sharpe) agar, *Lactococcus* spp. ve *Streptococcus* spp. cinslerinin izolasyonu için M17 agar besi ortamlarından yararlanılmıştır.

Tarhana örnekleri aseptik koşullarda 10'ar gram tartılarak 90 ml steril % 0.85 'lik fizyolojik tuzlu su (FTS) ile stomacherde (Seward Medical, London, UK) 1,5 dakika homojenize edilmiştir. Daha sonra örneklerin FTS ile 10⁻²'den 10⁻³ 'e kadar dilüsyonları hazırlanarak steril petrilere 1 ml homojen olarak aktarılmış ve üzerine 45 °C'ye kadar soğutulmuş MRS agar ve M17 agara dökme plak yöntemine göre paralel ekimler yapılmıştır (Kozaki ve ark. 1992).

Besiyerler anaerobik ve aerobik koşullarda 37 °C de etüvde 3 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon tamamlandıktan sonra MRS agar ve M17 agar içeren petrilere tek düşen ve muhtemel laktik asit bakterisi kolonileri steril öze yardımıyla alınarak başka bir petriye çizgi ekim tekniği ile aktarılmıştır. İnkübasyon sonunda elde edilen izolatlar saflaştırılıncaya kadar çizgi ekime devam edilmiştir. Elde edilen izolatların koloni morfolojileri, katalaz ve gram reaksiyonlarına göre ışık

mikroskobunda tespit edilmiştir. Gram pozitif ve katalaz negatif özellikteki kok ve basil koloniler, laktik asit bakterisi olarak gliserol stoklara alınmıştır (Coeuret ve ark. 2003, Mathara ve ark. 2004).

Çizelge 3.1 : Analizlerde kullanılan besiyeri, kimyasal ve kitle

Besiyeri / Kimyasal -Firma	Kullanım Amacı
MRS agar- LabM	LAB izolasyonu
MSR Broth- LabM	İzolatların aktivasyonu
M17 Agar - LabM	LAB izolasyonu
M17 Broth - LabM	İzolatların aktivasyonu
NB Broth -LabM	Patojenlerin aktivasyonu
MHA Agar- LabM	Antimikrobiyal aktivite
Safra tuzu - Oxoid	Safra tuzu toleransı
Antibiyotik disk- Bioanalyse	Antibiyotik Duyarlılık
Boş disk - Bioanalyse	Antimikrobiyal aktivite
0,5 Mc Farland Çözeltisi- Biomeriux	İzolatların yoğunluklarını ayarlama
Safranin -Remel	
Gram Iodine- Remel	
Crystal Violet- Remel	Gram Boyama
Etil Alkol- Teknik Kimya	
H ₂ O ₂ - Teknik Kimya	Katalaz testi
6 N HCl –Teknik Kimya	Mide Asiti toleransı
Gliserol - Merck	İzolatları stokta saklama



Şekil 3.1 : MRS besiyerlerinin aneorabik olarak 37°C 'de inkübasyonu

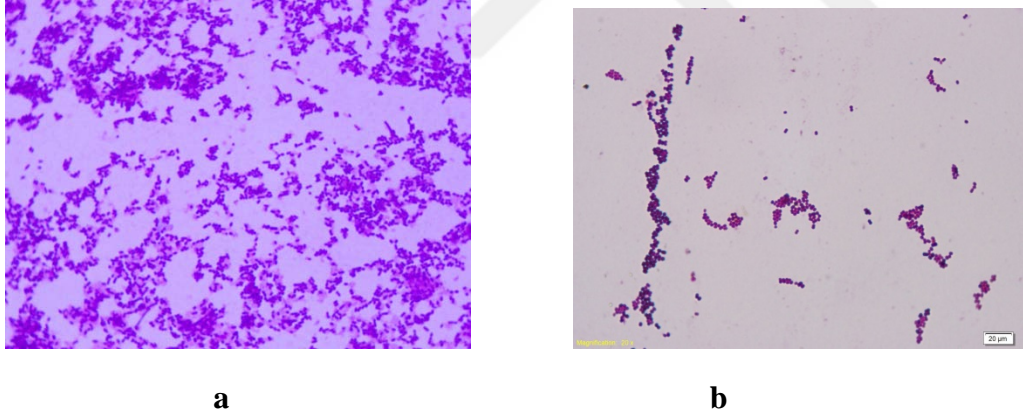
3.2.2 Katalaz testi

Katalaz enzimine sahip olan bakteriler, hidrojen peroksiti (H_2O_2) oksijen ve suya ayrıştırır. Katalaz testi pozitif olan reaksiyonlarda oksijen gazından dolayı kabarcık görülürken, test negatif ise herhangi bir değişim görülmemektedir.

Katalaz testi için MRS ve M17 Broth ortamında aktive edilen bakteri izolatları üzerine % 3'lük hidrojen peroksit damlatılmış ve gaz çıkışı incelenmiştir. Gaz çıkışı gözlenen izolatlar için test pozitif olarak değerlendirilmiştir (Whittenbury 2009).

3.2.3 Gram boyama

MRS ve M17 besiyerlerinde aktive edilen bakteri izolatlarını, biyokimyasal ve morfolojik olarak belirlemek amacıyla gram boyama yapılmış ve ışık mikroskopunda incelenmiştir. İzolatlardan saf olan ve mor renkli görülen bakteriler 'gram pozitif', pembe renkli görülenler de 'gram negatif' olarak belirlenmiştir. Gram pozitif, saf basil veya koklar muhtemel LAB üyesi olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.2 : LAB izolatlarının mikroskop görüntüleri; a) *L. fermentum* 205, b) *P. pentosaceus* D212

3.2.4 Stok Kültür Hazırlama

İleriki testlerde kullanılmak üzere izolatların stokları hazırlanıp saklanmıştır. Elde edilen Gram pozitif ve katalaz negatif saf kültürler, MRS ve M17 Broth içerisinde geliştirildikten sonra % 20 (v/v) steril gliserol ortamında $-80^{\circ}C$ 'de stoklanmıştır (Yavuzdurmaz, 2007).

3.2.5 Stoktaki İzolatların Aktifleştirilmesi

Gliserol-Broth karışımında -18 °C’de saklanan LAB kültürleri, MRS ve M17 sıvı besiyerlerinde 37°C’de 18 saat süre ile aktifleştirilme için inkübasyona bırakılmıştır. İlk inkübasyondan sonra sıvı besiyerinde gelişen izolatlar, tekrar aynı koşullarda inkübe edilmiştir. Sıvı besiyerlerinde iki kez aktive edilen izolatlar MRS ve M17 agar besiyerlerine çizgi ekim yöntemiyle aktararak LAB kolonileri aktifleştirilmiştir.

3.2.6 İzolatlarının Tanımlanması

MALDI-TOF MS (Matriks aracılı lazer desorpsiyon iyonlaştırma uçuş zamanı kütle spektrometresi), diyagnostik amaçlı klinik ve mikrobiyolojik çalışmalarda yaygın şekilde kullanılan hızlı, ucuz, doğru sonuç veren yeni yöntemlerden birisidir (Seng ve ark. 2009; Wieser ve ark. 2012).

MALDI-TOF yönteminde, tanımlanacak mikroorganizmalara ait biyolojik moleküllerin (protein, peptid, şeker), kütle spektrometresinin lazer ışınıyla parçalanıp dağılmaya eğilimli olan organik moleküllerin (polimer vb) iyonizasyonundan sonra elektrik veya manyetik alandan geçirilerek hücre yapılarında bulunan protein profili çıkılmaktadır. Elde edilen protein profil spektrumlarının, sistemde kayıtlı referans veri tabanına uyumuna göre mikroorganizmalar tanımlanmaktadır (Dubois ve ark. 2012).

Bu tez çalışması kapsamında, LAB izolatlarını tanımlamak için VITEK® MS (bioMerieux, Marcy l’Etoile/Fransa) cihazı kullanılmıştır. Cihaz için geliştirilmiş slaytın üzerindeki pozitif kontrol kuyucuğuna referans suşu olan *Escherichia coli* ve diğer kuyucuklara ise 1µL’lik steril plastik öze yardımıyla MRS ve M17 agarda oluşan aktif kolonilerden bir ya da iki koloni olacak şekilde suşlar inoküle edilmiştir. Bu işlemi takiben kuyucuklara, 1 µl matriks solüsyonu CHCA (α-cyano-4-hydroxycinnamic acid in 50 acetonitrile / %2.5 trifluoroacetic acid, Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) eklenmiş ve oda koşullarında 1-2 dk beklenerek kuruma sağlanmıştır. Hazırlanan slaytların barkodları okutulmuş ve örneklerin olduğu kuyucuklar işaretlenmiştir. Slayt VITEK MS cihazına yüklenerek analiz başlatılmış daha sonra sonuç alınmıştır. Yazılım ana menü girişinden “VITEK®MS Review” fonksiyonu ile sonuçlar

gözden geçirilmiş ve identifikasyonu yüksek skorda (>%99) gerçekleştirilenler onaylanmıştır (VITEK® MS, 2019).

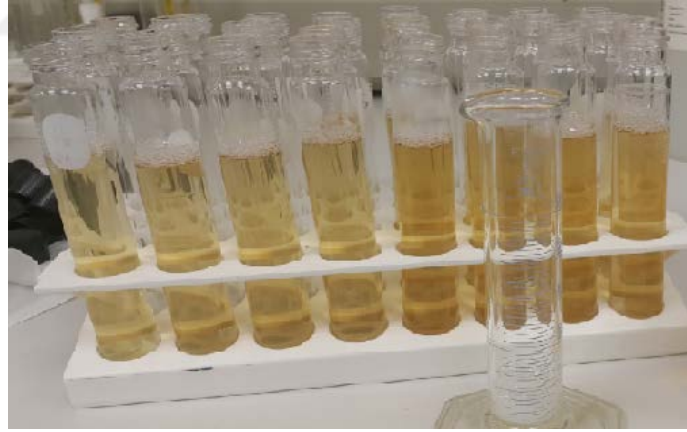
3.2.7 LAB izolatlarının asit toleransı

LAB izolatlarının mide asitliğine toleranslarının belirlenmesi için, 1N hidroklorik asit (HCl) ile MRS Broth pH değeri 3.0'a ayarlanmıştır. 37°C'de, 18 saat boyunca aktive edilen LAB izolatları, 6000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda elde edilen pellet, pH değeri 3.0 olan MRS Broth'a inoküle edilmiştir. Daha sonra her bir örneğin, 620nm'de 0- 4 saat arası optik yoğunluğu spektrofotometrede (Jenway 6300 Spektrofotometer) ölçülerek, canlılıkları takip edilmiştir. Analizler ikişer kez kontrol grubuyla (MRS pH: 5,7) birlikte tekrarlanmıştır. LAB suşlarının düşük pH'da yüzde canlılıkları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Chung ve ark.1999; Yavuzdurmaz, 2007; Collado ve ark. 2008).

% Gelişim (canlılık) Oranı = $[(OD_1 - OD_2 / OD_1) \times 100]$,

OD₁: İlk optikal yoğunluk,

OD₂: 30 dakika sonraki optikal yoğunluk



Şekil 3.3 : LAB suşlarının asit direnç analizi

3.2.8 LAB İzolatlarının Safra Tuzu Toleransı

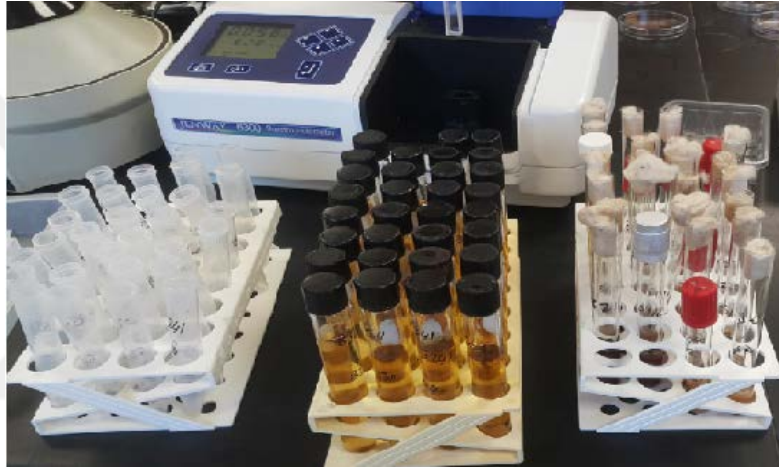
LAB İzolatların safra tuzu toleransı için % 0,3 safra tuzu (Oxoid Bile Salts) ile zenginleştirilmiş MRS Broth kullanılmıştır. 37°C'de, 18saat boyunca aktive edilen LAB izolatları, 6000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda elde edilen pellet, %0,3 Ovgall içeren MRS Broth'a inoküle edilmiştir.

Daha sonra her bir örneğin, 620 nm’de 0- 4 saat arası optik yoğunluğu spektrofotometrede (Jenway 6300 Spektrofotometer) ölçülerek, canlılıkları takip edilmiştir. Analizler ikişer kez kontrol grubuyla (safra tuzu içermeyen besiyeri) birlikte tekrarlanmıştır. LAB suşlarının safra tuzundaki yüzde canlılıkları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Chung ve ark.1999; Yavuzdurmaz, 2007; Collado ve ark. 2008).

$$\% \text{ Gelişim (canlılık) Oranı} = [(OD_1 - OD_2 / OD_1) \times 100],$$

OD₁: İlk optikal yoğunluk,

OD₂: 30 dakika sonraki optikal yoğunluk



Şekil 3.4 : LAB suşlarının safra tuzu direnç analizi

3.2.9 LAB İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılığı

LAB İzolatların antibiyotik duyarlılığı, Kirby-Bauer tarafından yarı-kantitatif olarak geliştirilen antibiyotik disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bu yöntem çerçevesinde MRS ve M17 agar içeren petrilere 100 µl, 10⁶-10⁷ kob/g aktif kültürler yayılmış ve petrilerdeki agar, donması için yaklaşık 15 dk. oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra petriler üzerine, Penicillin G (P), Vancomycin (VA), Cephalothin (KF), Chloramphenicol (C), Amoxicillin (AX) içeren antibiyotik diskleri yerleştirilerek inkübasyona (37°C/24saat) bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda inhibisyon zonları kumpas yardımı ile ölçülmüştür. İzolatların antibiyotik duyarlılık düzeyleri CLSI kılavuzuna göre değerlendirilmiştir (Çizelge 3.2.) (Barry ve ark. 1979; Charteris ve ark. 1998a; Ashraf ve Smith 2016; CLSI 2016)

Çizelge 3.2 : Antibiyotik disklerde görülen zonların antibiyotik direnç karşılıkları; dirençli (R), orta dereceli duyarlı (MS) ve duyarlı (S)

Antibiyotik Adı	Disk kodu - Kons. (µg)	İnhibisyon zon çap(mm)		
		S	MS	R
Amoxicillin	AX-20	≥18	14-17	≤13
Cephalothin	KF- 30	≥18	15-17	≤14
Cloramphenicol	C-30	≥18	13-17	≤12
Penicillin G	P-10U	≥28	20-27	≤19
Vancomycin	VA-30	≥12	10-11.	≤9

3.2.10 LAB izolatlarının antimikrobiyal aktivitesi

LAB izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık düzeylerinin belirlenmesinde Hamadan ve ark (1974) ve Apella ve ark. (1992) tarafından önerilen antibiyotik disk difüzyon yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır. İndikatör patojen bakteri olarak İstanbul Aydın Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Kültür Koleksiyonu'ndan temin edilen *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Escherichia coli* ATCC25922, *Salmonella* Typhimurium ATCC14028 kullanılmıştır. Bu yöntem çerçevesinde, indikatör bakterileri Nutrient Broth'ta 37 °C'de 24 saat aktifleştirilmiş ve hücre yoğunlukları 0,5 nolu McFarland standartına göre ayarlanmıştır. Daha sonra, 15 ml Muller Hinton Agar (MHA) içeren petrilere 100 µl indikatör bakteriler yayılmıştır. İnhibisyon zonlarının incelenmesi için, MRS, M17 Broth'larda 37°C'de 18 saat geliştirilen test edilecek LAB suşları, 6mm çapındaki steril kağıt disklerle emdirilerek, MHA agar yüzeyine yerleştirilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (Resim 3.5). Antimikrobiyal aktivite testi iki defa tekrarlanarak oluşan zonların çapları ölçülmüştür. (CLSI 2012; Matuschek ve ark. 2014; Karimi ve ark. 2018).



Şekil 3.5 : LAB suşlarının antimikrobiyal aktivite analizi

3.2.11 İstatistiksel analiz

LAB İzolatlarının antibiyotik duyarlılık düzeyleri ve antimikrobiyal aktiviteleri yönünden türler arasındaki benzerlik “Primer v6” programında Bray-Curtis benzerlik indeksi $[(\log(x+1))]$ kullanılarak hesaplanmıştır (Clarke ve Warwick 2001).

Bu çalışmada, elde edilen deney sonuçları arasında anlamlı bir farklılığın olup olmadığı tek yönlü varyans analizi ile (ANOVA) test edilmiştir.

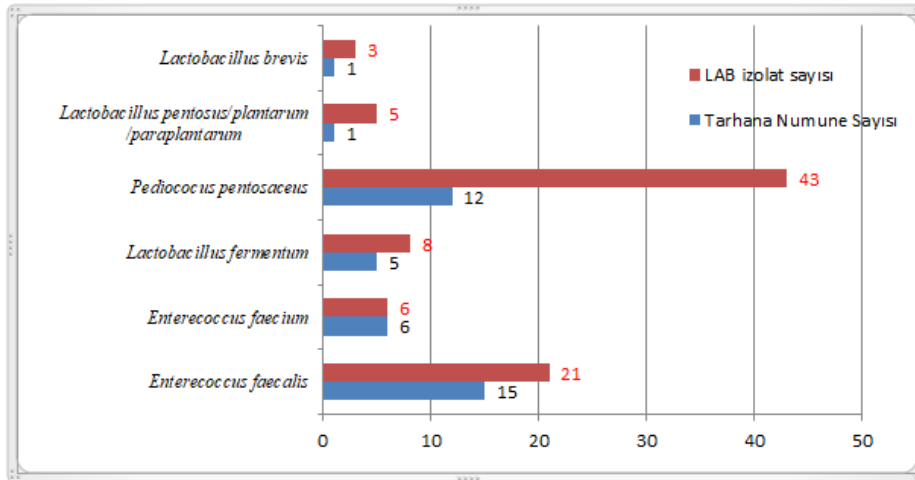
4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Muhtemel LAB İzolasyon Bulguları

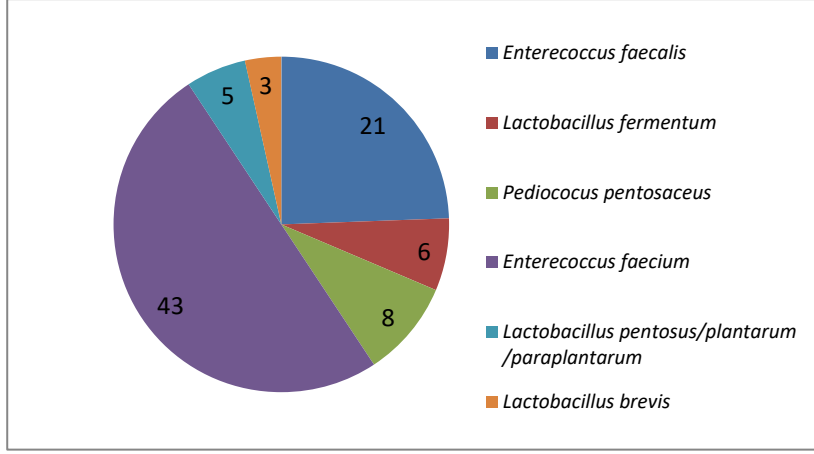
Bu tez çalışmasında, 33 adet Manisa, 2 adet Kütahya, 1'er adet Balıkesir, Sivas, Tekirdağ, Kastamonu ve Giresun yörelerinden geleneksel yöntemlerle üretilmiş ev yapımı, 15 adet ticari ölçekteki 10 farklı işletmeden temin edilen toplam 55 farklı tarhana örneğinden laktik asit bakteri izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.1). Laktik asit bakterileri için seçici özelliğe sahip MRS agar ve M17 agar üzerine yayma yöntemi ile ekim yapılmış ve 48 saat inkübasyon süresinden sonra agar üzerinde oluşan küçük, mat, krem rengi ya da beyaz renkteki olası laktik asit bakterisi kolonileri saflaştırılarak izole edilmiştir. Saflaştırılan izolatlar üzerinde uygulanan gram boyama ve katalaz aktivitesi test sonuçlarına bakılarak, toplamda 210 adet izolat muhtemel laktik asit bakterisi olarak belirlenmiştir.

4.2 LAB İzolatlarının Tanımlama Bulguları

Bu çalışmada, çeşitli tarhana numunelerinden elde edilen muhtemel LAB izolatları, MALTI-TOF kütle spektrometrisi ile, yüksek skorda (> % 99) tanımlanmıştır (Şekil 4.1 ve 4.2).



Şekil 4.1 : Kütle Spektrometrisi ile tanımlanan LAB izolatlarının dağılımı



Şekil 4.2 : Tanımlanan LAB izolatlarının türlere göre dağılımı

Tanımlanan 86 adet LAB izolatından; % 50'si *Pediococcus pentosaceus*, % 24,4'ü *Enterococcus faecalis*, % 6,98'i *Enterococcus faecium*, % 9,3'ü *Lactobacillus fermentum*, % 3,4'ü *Lactobacillus brevis* suşlarıdır. Ayrıca % 5,81'i *Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum* (*Lactobacillus* spp.) suşları olarak tanımlanmıştır.

Geleneksel ev tipi ve ticari üretim yapan firmalardan elde edilen tarhana numunelerinin LAB dağılımı Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

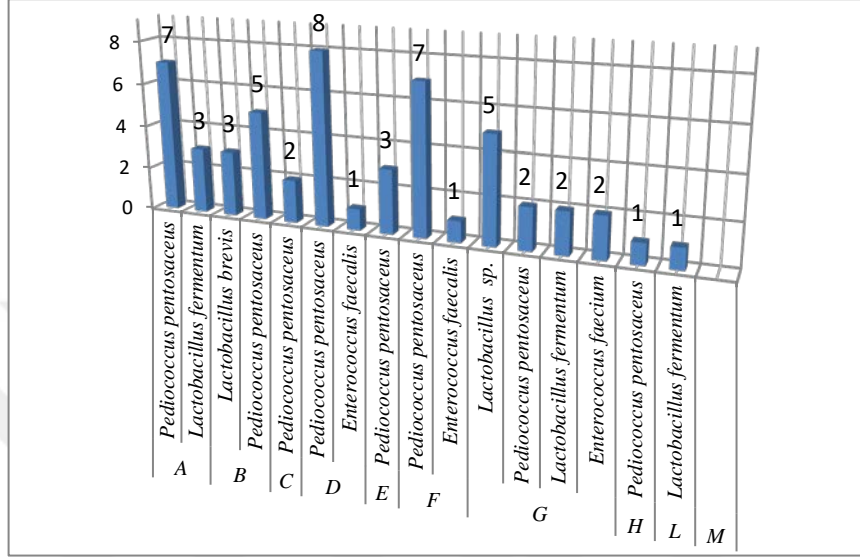
Çizelge 4.1 : Tarhana örneklerinden tanımlanan LAB'lerin dağılımı

Tarhana Numune si alınan yer	Tarhana Üretim Şekli	Tarhana Numune	Tanımlanan LAB'lerinin adı ve adedi						Toplam LAB İZOLAT
			<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Lactobacillus pentosus/plantarum /paraplantarum</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	
İstanbul Organik Pazar	Organik	15	2	6	37	1	5	3	54
Manisa yöresi	Ev tipi	33	19	1	2	2			24
Sivas yöresi		1			1				1
Tekirdağ		1		1		1			2
Balıkesir		1				1			1
Kütahya yöresi		2			4				4
Kastamonu yöresi		1							0
Giresun yöresi		1							0
Toplam			55	21	8	43	6	5	3

Elde edilen bulgulara göre, tanımlanan LAB izolatlarından % 63'ü ticari firmalardan temin edilen tarhanalardan, geriye kalan % 37 izolat ise geleneksel üretim yapan ev

yapımı tarhana örneklerinden izole edilmiştir. Geleneksel ev tipi yöntemlerle üretilmiş, 18 adet Manisa, 1'er adet Kastamonu ve Giresun yörelerinden elde edilen toplam 20 tarhana örneğinden LAB izalasyonu yapılamamıştır.

Ticari olarak üretilen tarhana numunelerinden tanımlanan LAB izolatlarının firmalara göre dağılımı Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.3: LAB izolatlarının ticari firmalara göre dağılımı; Ticari firma kodları: A, B, C, D, E, F, G, H, L, M

Ticari firmalardan temin edilen tarhana örneklerinden izole edilen 53 adet LAB izolatından % 66'sı *Pediococcus pentosaceus* ve % 26'sı *Lactobacillus spp.*'dir. G firmasına ait ürünün LAB tür çeşitliği diğerlerine göre daha fazladır. M firmasına ait üründen LAB izole edilememiştir.

4.3 Probiyotik Özellikleri Araştırılan İzolatlar

Tanımlanan 86 adet potansiyel probiyotik LAB izolatı arasından, farklı numune ve türe göre 28 adeti rastgele seçilerek bunların mide asiti ve safra tuzu toleransları, antibiyotik duyarlılıkları, antimikrobiyal aktiviteleri gibi bazı probiyotik özellikleri analiz edilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 : Probiyotik özellikleri araştırılan suşlar

Tarhana üretim şekli	İzolat kodu	Probiyotik özellikleri araştırılan LAB suşları
Organik	A112	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
	A211	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
	B11	<i>Lactobacillus brevis</i>
	B21	<i>Lactobacillus brevis</i>
	B32	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
	C112	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
	C111	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
	D212	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
	D15	<i>Enterococcus faecalis</i>
	E11	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
	E12	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
	F32	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
	F11	<i>Enterococcus faecalis</i>
	G1	<i>Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum</i>
	G24	<i>Lactobacillus pentosus/plantarum/paraplantarum</i>
	G31	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
	H31	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
	201	<i>Lactobacillus fermentum</i>
	203	<i>Lactobacillus fermentum</i>
	205	<i>Lactobacillus fermentum</i>
208	<i>Lactobacillus fermentum</i>	
Ev Tipi	K222	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
	K212	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
	191	<i>Enterococcus faecalis</i>
	41	<i>Enterococcus faecalis</i>
	125	<i>Enterococcus faecium</i>
	29	<i>Enterococcus faecium</i>
	1M	<i>Pediococcus pentosaceus</i>

Bu çalışmada, bakterilerin bazı probiyotik özelliklerini araştırmak için 14 adet *P. pentosaceus*, 2'şer adet *L. brevis* ve *Lactobacillus* spp. (*L.pentos/plantum/paraplantum*), 4 adet *L. fermentum* , 4 adet *E. faecalis* ve 2 adet *E. faecium* suşları seçilmiştir.

4.3.1 Asit Toleransı Bulguları

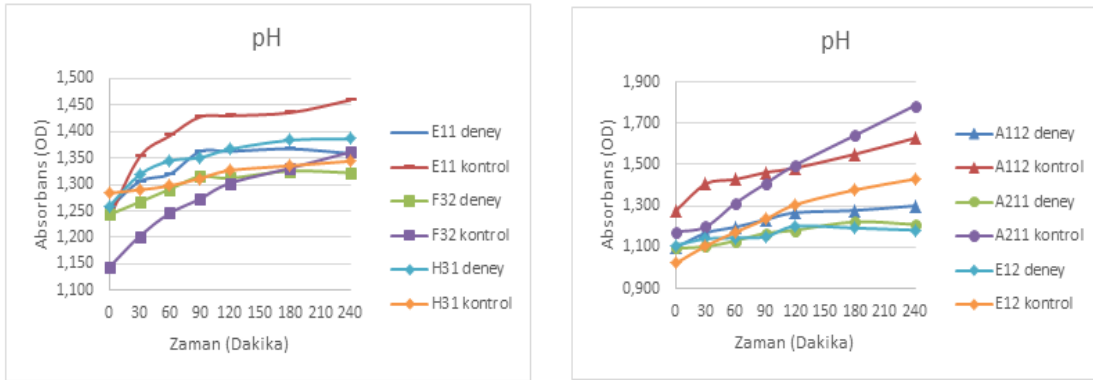
Probiyotik özellikteki bakterilerin seçiminde kullanılan ölçütlerden birisi de suşların asidik ortamda gelişebilmeleridir. LAB üyeleri arasından mide asitliğine dirençli suşların seçiminin yapılabilmesi için, oda sıcaklığında ortam asitliği pH 3.0'e ayarlanmış MRS Broth içerisinde suşlar kültüre alınmıştır. İzolatların pH 3.0'e dirençli olup olmadıklarını tespit etmek için 4 saat boyunca, her 30 dakika aralıkla OD₆₂₀ ölçümleri yapılarak, suşların yüzde canlılıkları hesaplanmıştır (Çizelge 4.3). Ayrıca deney sonuçları verilerin değerlendirilmesi amacıyla, kontrol gruplarıyla birlikte grafikler halinde gösterilmiştir (Şekil 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8).

Çizelge 4.3 : LAB İzolatlarının pH 3 değerindeki yüzde canlılıkları

LAB Suşları	İzolatların pH 3'de % gelişim oranları					
	30 dk	60 dk	90 dk	120 dk	180 dk	240 dk
<i>P. pentosaceus</i> A112	6,37	9,01	12,24	15,34	16,34	18,39
<i>P. pentosaceus</i> A211	0,68	3,33	6,62	7,99	11,69	10,50
<i>L. brevis</i> B11	8,27	13,08	18,95	20,11	31,14	28,47
<i>L. brevis</i> B21	1,44	5,39	6,06	10,30	13,28	13,76
<i>P. pentosaceus</i> B32	2,95	6,48	9,08	10,78	12,57	14,00
<i>P. pentosaceus</i> C112	3,74	4,66	6,67	8,34	9,61	10,36
<i>P. pentosaceus</i> C111	4,71	9,34	13,06	17,43	18,09	17,96
<i>P. pentosaceus</i> D212	2,81	5,25	7,58	8,15	8,06	7,89
<i>E. faecalis</i> D15	5,89	7,72	6,86	7,50	10,40	9,54
<i>P. pentosaceus</i> E11	3,98	5,10	8,48	8,52	8,88	8,20
<i>P. pentosaceus</i> E12	2,79	3,20	3,65	8,25	7,48	6,58
<i>P. pentosaceus</i> F32	1,89	3,86	5,79	5,55	6,63	6,32
<i>E. faecalis</i> F11	3,19	5,38	8,76	8,96	10,76	10,36
<i>Lactobacillus</i> spp. G1	0,71	2,49	2,85	3,65	4,81	11,04
<i>Lactobacillus</i> spp. G24	5,75	9,14	13,42	16,27	20,34	20,98
<i>P. pentosaceus</i> G31	6,54	9,23	13,74	15,67	18,36	18,55
<i>P. pentosaceus</i> H31	4,77	6,83	7,31	8,58	9,93	10,13
<i>P. pentosaceus</i> K222	4,93	7,91	9,19	10,59	11,93	14,12
<i>P. pentosaceus</i> K212	4,73	6,39	6,85	9,15	10,60	12,39
<i>E. faecalis</i> 191	3,18	6,69	1,23	0,26	0,91	1,17
<i>E. faecalis</i> 41	3,34	4,68	6,90	6,79	6,46	6,90
<i>E. faecium</i> 125	3,28	5,47	6,30	8,21	9,49	11,22
<i>E. faecium</i> 29	6,31	6,67	6,81	8,39	9,82	9,75
<i>P. pentosaceus</i> 1M	0,18	2,71	5,06	7,47	9,70	11,08
<i>L. fermentum</i> 201	1,32	4,28	3,46	3,40	5,35	3,84
<i>L. fermentum</i> 203	2,32	0,82	2,51	3,52	3,58	2,58
<i>L. fermentum</i> 205	2,53	4,20	4,33	3,40	4,33	4,86
<i>L. fermentum</i> 208	2,31	3,08	2,25	2,55	3,08	1,48

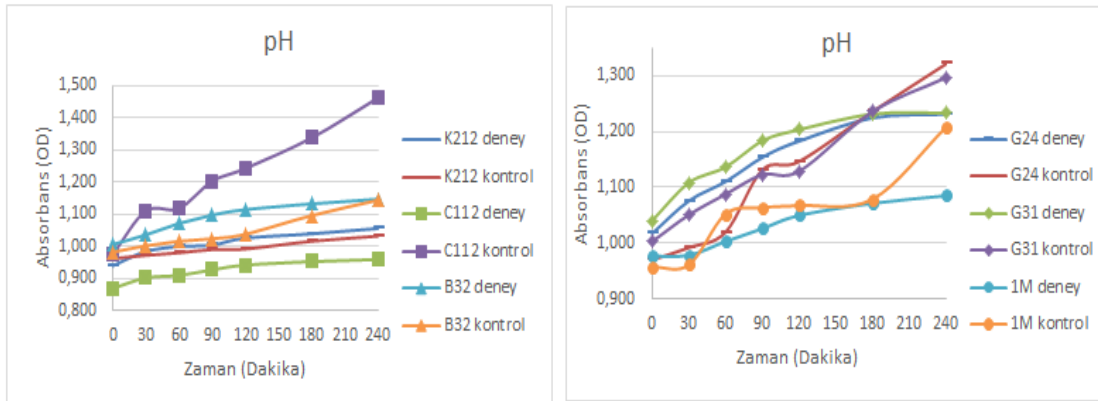
LAB bakterilerin pH 3'de yüzde canlılık oranı 4 saat boyunca % 0,18 ile % 28,47 arasında bulunmuştur.

H31 ve A112 izolatları pH 3.0'de zamanla canlılıklarını koruyarak gelişmiş ve asit toleransı göstermişlerdir. Bu durum izolatların pH 3'de hayatta kalabileceği anlamına gelmektedir. Ancak E11, F32, A211 ve E12 suşları düşük pH'da gelişmemiş veya canlılıkları zamanla artmamış olup, bu izolatlar pH 3.0'e duyarlı olarak kabul edilmiştir (Şekil 4.4 ve Çizelge 4.3).



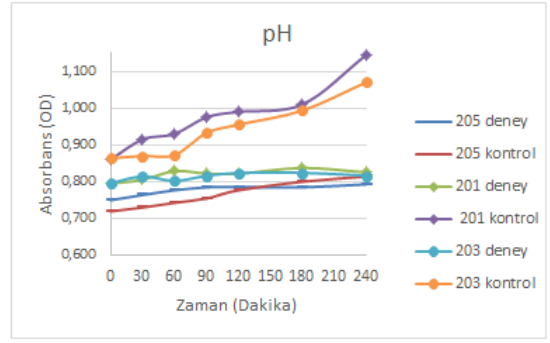
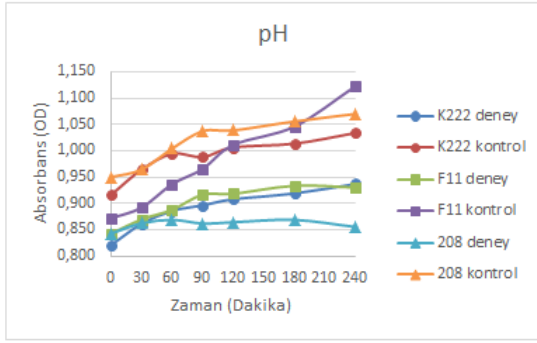
Şekil 4.4 : LAB suşlarının pH 3.0 toleransları; E11, F32, H31, A112, A211, E12

K212, C112, B32, G24, G31 ve 1M izolatları pH 3.0'de canlılıklarını sürdürerek, yüzde gelişim oranları zamanla artmış ve düşük pH'ya tolerans göstermişlerdir (Şekil 4.5 ve Çizelge 4.3).



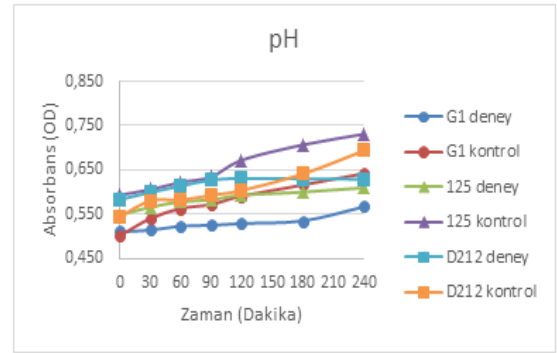
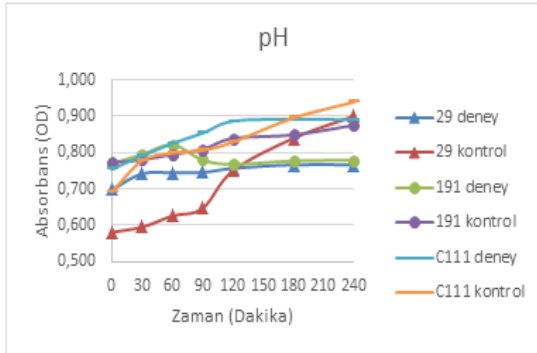
Şekil 4.5 : LAB suşlarının pH 3.0 toleransları; K212, C112, B32, G24, G31, 1M

K222 izolatı pH 3.0'de canlılığını koruyup gelişimini sürdürürerek düşük pH'ya tolerans gösterirken F11, 208, 205, 201 ve 203 yüzde gelişim oranları zamanla artmamış olup düşük pH'ya duyarlılık göstermişlerdir (Şekil 4.6 ve Çizelge 4.3).



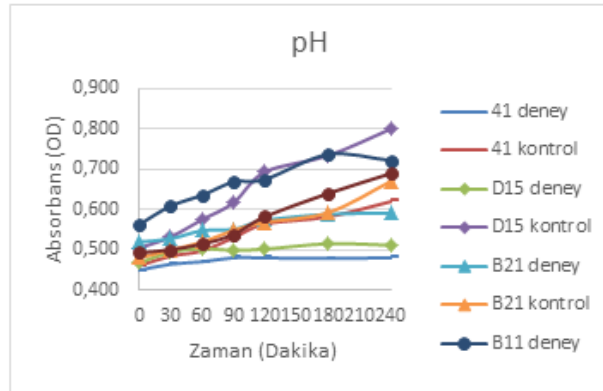
Şekil 4.6 : LAB suşlarının pH 3.0 toleransları; K222, F11, 208, 205, 201, 203

C111, G1 ve 125 izolatları pH 3.0'de canlılıklarını sürdürürken 29, 191 ve D212 izolatlarının yüzde gelişimleri zamanla artmamış olup düşük pH'ya duyarlılık göstermişlerdir (Şekil 4.7 ve Çizelge 4.3).



Şekil 4.7 : LAB suşlarının pH 3.0 toleransları; 29, 191, C111, G1, 125, D212

B21 ve B11 izolatları pH 3.0'de canlılıklarını sürdürerek, düşük pH'ya tolerans göstermişlerdir. Ancak 41 ve D15 suşlarının canlılıkları sabit kalmış ve gelişimlerini sürdüremeyerek pH'ya duyarlılık göstermişlerdir (Şekil 4.8 ve Çizelge 4.3).



Şekil 4.8 : LAB suşlarının pH 3.0 toleransları; 41, D15, B21, B11

4.3.2 Safra Tuzu Toleransı Bulguları

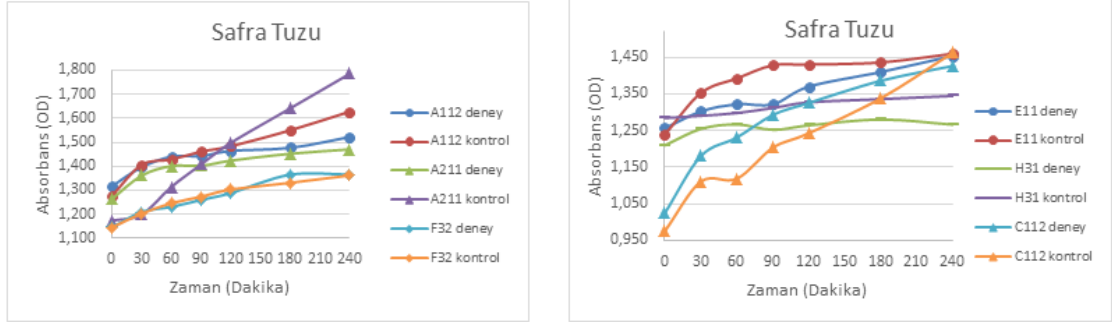
LAB izolatlarının safra tuzunu tolere edebilme yeteneklerini tespit etmek için % 0,3 safra tuzu ile zenginleştirilmiş MRS Broth içinde, 4 saat boyunca her 30 dakika aralıkla OD₆₂₀ ölçümleri yapılarak, suşların yüzde canlılıkları hesaplanmıştır (Çizelge 4.4). Ayrıca deney sonuçları verilerin değerlendirilmesi amacıyla, kontrol gruplarıyla birlikte grafikler halinde gösterilmiştir (Şekil 4.9, 4.10, 4.11, 4.12, 4.13).

Çizelge 4.4 : LAB İzolatlarının % 0,3 safra tuzu değerindeki yüzde canlılıkları

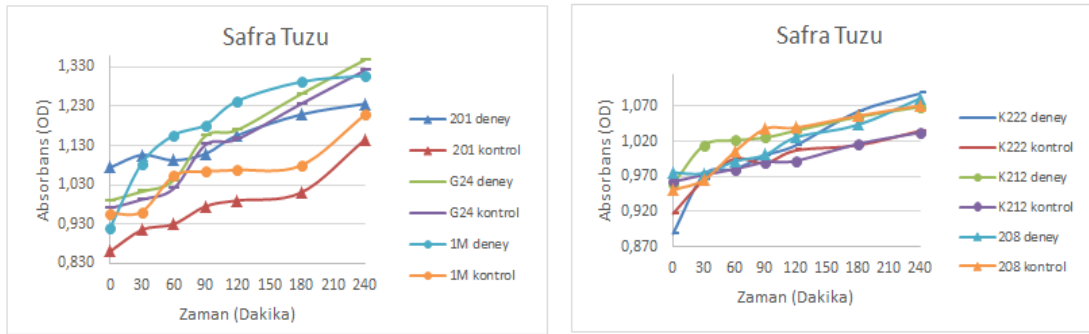
LAB Suşları	İzolatların % 0.3 Safra tuzunda % gelişim oranları					
	30 dk	60 dk	90 dk	120 dk	180 dk	240 dk
<i>P. pentosaceus</i> A112	6,00	9,34	9,57	12,15	12,68	15,57
<i>P. pentosaceus</i> A211	7,72	10,88	10,96	12,66	14,96	16,38
<i>L. brevis</i> B11	0,93	4,19	5,58	17,21	32,09	39,53
<i>L. brevis</i> B21	6,69	12,10	19,00	27,28	32,27	37,26
<i>P. pentosaceus</i> B32	11,81	20,53	23,82	31,40	34,18	37,27
<i>P. pentosaceus</i> C112	15,18	20,16	26,16	29,38	35,29	39,24
<i>P. pentosaceus</i> C111	5,84	10,55	17,12	25,48	32,55	36,87
<i>P. pentosaceus</i> D212	2,74	8,68	16,91	26,97	33,09	37,20
<i>E. faecalis</i> D15	5,05	10,40	15,76	20,20	24,24	27,88
<i>P. pentosaceus</i> E11	3,66	5,25	5,21	9,08	12,26	15,76
<i>P. pentosaceus</i> E12	3,26	5,74	8,95	15,46	20,53	28,44
<i>P. pentosaceus</i> F32	5,54	7,46	9,95	12,48	19,16	19,21
<i>E. faecalis</i> F11	3,18	3,24	7,13	15,78	25,97	34,75
<i>Lactobacillus</i> spp. G1	7,71	20,44	25,00	26,29	33,76	36,45
<i>Lactobacillus</i> spp. G24	2,27	5,15	16,67	18,18	27,42	36,21
<i>P. pentosaceus</i> G31	25,79	31,52	32,61	35,74	38,71	39,44
<i>P. pentosaceus</i> H31	3,72	4,71	3,51	4,51	5,83	4,67
<i>P. pentosaceus</i> K222	9,42	10,33	12,56	14,18	19,55	22,44
<i>P. pentosaceus</i> K212	5,79	6,52	6,94	7,98	10,02	11,48
<i>E. faecalis</i> 191	2,31	4,43	2,58	0,07	2,05	2,18
<i>E. faecalis</i> 41	0,61	1,52	16,31	24,02	34,32	41,05
<i>E. faecium</i> 125	4,03	4,95	9,18	15,65	21,53	28,80
<i>E. faecium</i> 29	2,04	9,39	19,33	28,62	34,57	40,43
<i>P. pentosaceus</i> 1M	17,91	25,76	28,61	35,27	40,57	42,27
<i>L. fermentum</i> 201	2,98	1,72	3,26	7,64	12,57	15,13
<i>L. fermentum</i> 203	3,73	5,05	4,13	5,68	6,83	7,29
<i>L. fermentum</i> 205	0,40	1,75	2,02	1,89	3,10	3,10
<i>L. fermentum</i> 208	0,10	1,64	2,62	5,18	6,97	10,82

LAB suşlarının % 0.3 safra tuzunda 4 saat boyunca yüzde canlılık oranı % 0,10 ile % 41,05 arasında bulunmuştur.

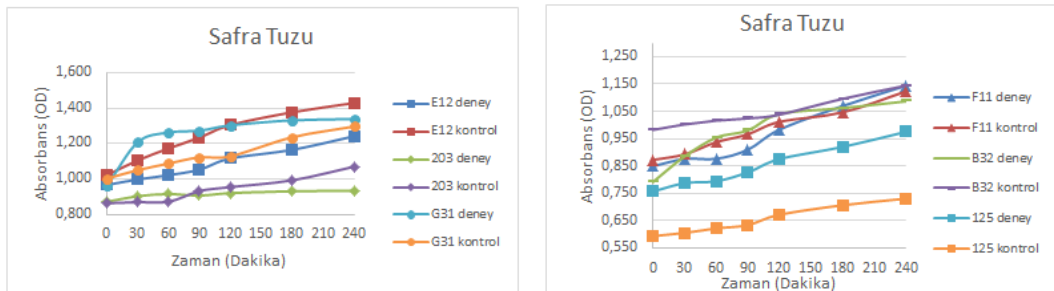
A112, A211, F32, E11 ve C112 izolatları 4 saat boyunca % 0,3 safra tuzunda canlılıklarını koruyarak gelişimlerini sürdürmüşler ortam değişkenine karşı tolerans göstermişlerdir. Fakat H31 suşu, safra tuzuna duyarlı davranmış ve gelişme gösterememiştir (Şekil 4.9 ve Çizelge 4.4).



Şekil 4.9 : LAB suşlarının safra tuzu toleransları; A112, A211, F32, E11, H31, C112 201, G24, 1M, K222, K212 ve 208 suşları % 0,3 safra tuzuna tolerans göstermişlerdir (Şekil 4.10 ve Çizelge 4.4)

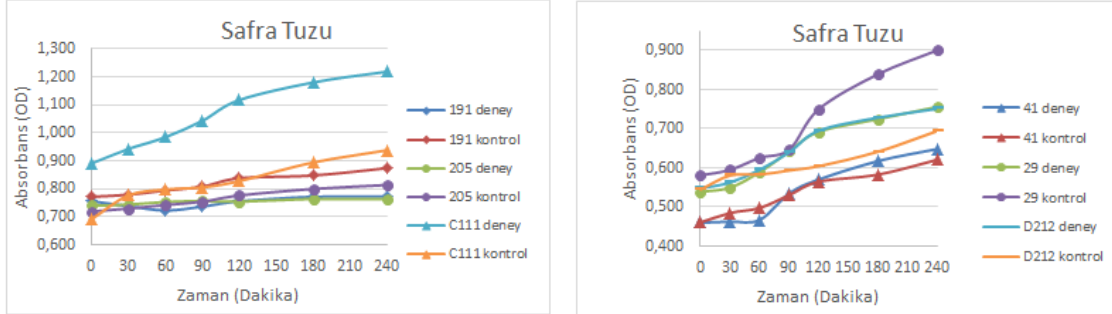


Şekil 4.10 : LAB suşlarının safra tuzu toleransları; 201, G24, 1M, K222, K212, 208 E12, G31, F11, B32, 125 suşları % 0,3 safra tuzunda canlılıklarını sürdürerek, safra tuzuna tolerans göstermişlerdir. Fakat 203 suşu, safra tuzuna duyarlı davranmış ve gelişme gösterememiştir (Şekil 4.11 ve Çizelge 4.4).



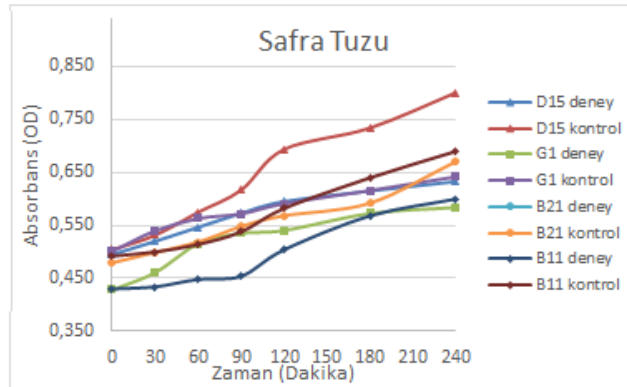
Şekil 4.11 : LAB suşlarının safra tuzu toleransları; E12, 203, G31, F11, B32, 125

C111, 29, 41 ve D212 suşları % 0,3'lük safra tuzuna tolerans göstererek gelişimlerini artırmışlardır. Fakat 191 ve 205 suşları 4 saat boyunca safra tuzunda kontrol gruplarına göre gelişme gösterememiş ve duyarlı davranmışlardır (Şekil 4.12 ve Çizelge 4.4).



Şekil 4.12 : LAB suşlarının safra tuzu toleransları; 191, 205, C111, 41, 29, D212

D15, G1, B21 ve B11 suşları 4 saat boyunca % 0,3 safra tuzunda canlılıklarını sürdürerek, safra tuzuna tolerans göstermişlerdir (Şekil 4.13 ve Çizelge 4.4).



Şekil 4.13 : LAB suşlarının safra tuzu toleransları; D15, G1, B21, B11

4.3.3 Antibiyotik Duyarlılık Bulguları

Probiyotik özelliği araştırılan LAB izolatların antibiyotik duyarlılık analizleri iki tekrarlı olarak 5 farklı antibiyotik kullanılarak test edilmiş, test sonuçları ortalama ve standart sapma cinsinden Çizelge 4.5'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.5 : LAB izolatlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçları (mm); NA: ulaşılamadı, R: Dirençli, MS: orta dereceli duyarlı, S: duyarlı, NA: ulaşılamadı, P: Penicillin G, VA: Vancomycin, KF: Cephalothin, C: Chloramphenicol, AX: Amoxicillin.

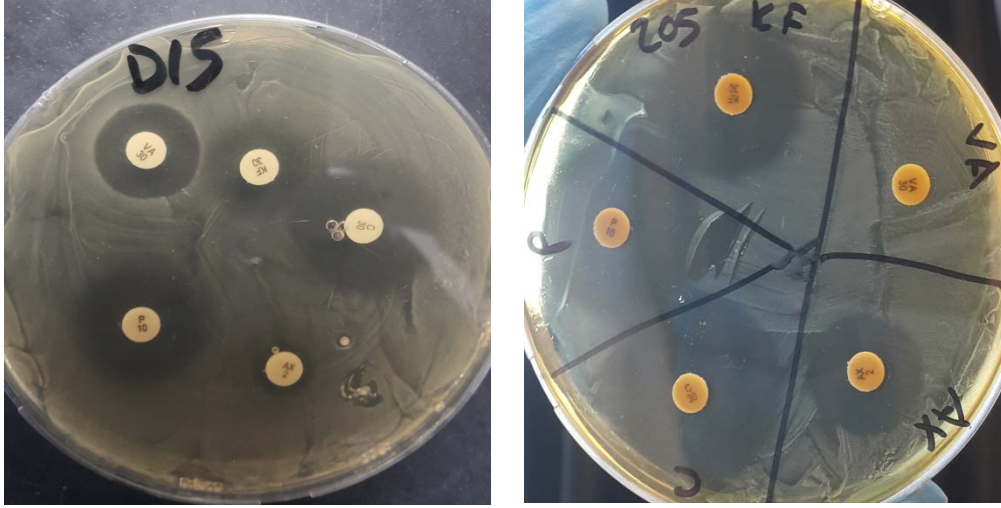
LAB Suşları	Antibiyotikler, inhibasyon zon çapı(mm)				
	P	VA	KF	C	AX
<i>P. pentosaceus</i> A112	25,75±5,56	0	23,00±2,16	26,25±4,11	0
<i>P. pentosaceus</i> A211	22,00±1,63	0	22,50±1,73	27,00±1,63	0
<i>L. brevis</i> B11	NA*	NA	NA	NA	NA
<i>L. brevis</i> B21	28,50±2,38	0	19,70±0,58	27,50±2,89	18,00±2,45
<i>P. pentosaceus</i> B32	27,5±3,11	7,00±0,0	25,50±0,58	28,75±1,50	14,50±0,71
<i>P. pentosaceus</i> C112	28,25±7,89	0	22,75±1,50	28,25±5,38	9,00±0,00
<i>P. pentosaceus</i> C111	20,50±0,71	0	23,00±1,41	22,00±8,72	12,00±0,00
<i>P. pentosaceus</i> D212	22,50±0,71	0	23,00±4,24	24,5±0,71	8,00±0,00
<i>E. faecalis</i> D15	23,50±2,38	18,75±2,75	20,00±3,16	24,75±1,26	12,75±3,77
<i>P. pentosaceus</i> E11	24,50±2,65	10,00±0,00	20,25±6,70	27,00±4,69	0
<i>P. pentosaceus</i> E12	25,50±2,65	15,00±0,00	21,00±4,62	25,75±2,99	9,50±0,71
<i>P. pentosaceus</i> F32	23,50±1,91	0	22,50±3,11	25,25±0,96	0
<i>E. faecalis</i> F11	21,00±0,82	17,75±3,59	19,00±3,46	23,25±2,75	14,50±0,71
<i>Lactobacillus</i> spp. G1	33,00±4,24	10,00±0,00	22,00±5,66	26,00±5,66	11,00±1,41
<i>Lactobacillus</i> spp. G24	27,00±7,07	0	19,50±6,36	21,00±8,49	10,00±0,00
<i>P. pentosaceus</i> G31	30,00±5,77	10,00±0,00	28,25±2,06	27,75±2,63	10,50±0,71
<i>P. pentosaceus</i> H31	28,50±4,04	11,00±0,00	24,75±3,40	30,25±1,71	11,00±1,41
<i>P. pentosaceus</i> K222	24,00±4,55	17,00±4,24	20,25±6,99	24,00±4,55	13,50±2,12
<i>P. pentosaceus</i> K212	24,50±1,73	0	24,25±0,96	29,50±3,70	0
<i>E. faecalis</i> 191	29,00±4,76	22,00±0,00	25,25±0,50	26,75±2,22	20,00±0,82
<i>E. faecalis</i> 41	24,75±1,71	21,00±2,16	19,75±2,63	25,25±1,71	14,75±1,50
<i>E. faecium</i> 125	29,25±5,68	19,25±2,06	25,00±2,16	25,25±2,99	19,75±3,20
<i>E. faecium</i> 29	21,50±0,71	20,00±0,00	14,00±5,66	24,00±2,83	12,00±0,00
<i>P. pentosaceus</i> 1M	23,25±7,80	0	23,75±4,50	25,50±7,23	0
<i>L. fermentum</i> 201	32,00±5,23	10,50±0,71	28,00±4,62	29,00±5,77	23,00±1,15
<i>L. fermentum</i> 203	37,75±7,85	10,00±0,00	27,75±3,10	32,75±5,12	21,50±3,00
<i>L. fermentum</i> 205	31,50±2,38	0	24,25±0,96	30,00±3,56	20,00±0,82
<i>L. fermentum</i> 208	26,50±2,38	20,50±0,00	18,00±3,36	25,25±0,50	20,50±4,80

LAB izolatları en yüksek zon çaplarını (mm); Penicillin G, Cephalothin ve Chloramphenicol antibiyotiklerine karşı oluştururken en düşükleri ise Vancomycin ve Amoxicillin'e karşı oluşturmuşlardır. LAB izolatlarının 5 farklı antibiyotiğe karşı duyarlılık düzeyleri CLSI kılavuzuna göre'de değerlendirilmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6 : LAB izolatlarının antibiyotiklere karşı duyarlılık düzeyleri; NA: ulaşılamadı, R: Dirençli, MS: orta dereceli duyarlı, S: duyarlı, NA: ulaşılamadı, P: Penicillin G, VA: Vancomycin, KF: Cephalothin, C: Chloramphenicol, AX: Amoxicillin.

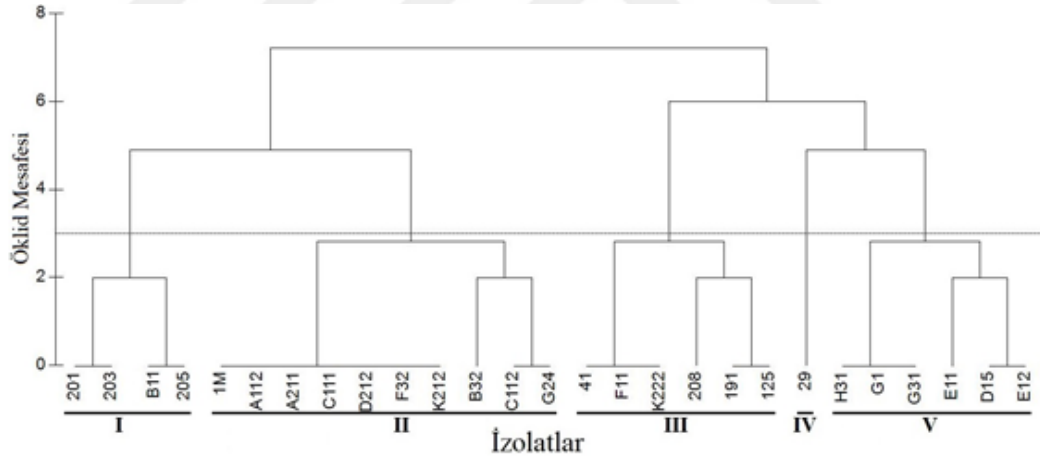
LAB Suşları	Antibiyotikler				
	P	VA	KF	C	AX
<i>P. pentosaceus</i> A112	MS	R	S	S	R
<i>P. pentosaceus</i> A211	MS	R	S	S	R
<i>L. brevis</i> B11	NA	NA	NA	NA	NA
<i>L. brevis</i> B21	S	R	S	S	S
<i>P. pentosaceus</i> B32	S	R	S	S	MS
<i>P. pentosaceus</i> C112	S	R	S	S	R
<i>P. pentosaceus</i> C111	MS	R	S	S	R
<i>P. pentosaceus</i> D212	MS	R	S	S	R
<i>E. faecalis</i> D15	MS	S	S	S	R
<i>P. pentosaceus</i> E11	MS	MS	S	S	R
<i>P. pentosaceus</i> E12	MS	S	S	S	R
<i>P. pentosaceus</i> F32	MS	R	S	S	R
<i>E. faecalis</i> F11	MS	S	S	S	MS
<i>Lactobacillus</i> spp. G1	S	MS	S	S	R
<i>Lactobacillus</i> spp. G24	S	R	S	S	R
<i>P. pentosaceus</i> G31	S	MS	S	S	R
<i>P. pentosaceus</i> H31	S	MS	S	S	R
<i>P. pentosaceus</i> K222	MS	S	S	S	MS
<i>P. pentosaceus</i> K212	MS	R	S	S	R
<i>E. faecalis</i> 191	S	S	S	S	S
<i>E. faecalis</i> 41	MS	S	S	S	MS
<i>E. faecium</i> 125	S	S	S	S	S
<i>E. faecium</i> 29	MS	S	R	S	R
<i>P. pentosaceus</i> 1M	MS	R	S	S	R
<i>L. fermentum</i> 201	S	MS	S	S	S
<i>L. fermentum</i> 203	S	MS	S	S	S
<i>L. fermentum</i> 205	S	R	S	S	S
<i>L. fermentum</i> 208	MS	S	S	S	S

LAB izolatlarının antibiyotik duyarlılığı analizi sonucunda izolatların antibiyotik dirençlilik ve duyarlılıkları kültürden kültüre değişmekte olup tüm izolatların P ve C'ye ve 29 kodlu izolat hariç diğer izolatların KF'ye karşı **duyarlı** ve/veya **yarı duyarlı** oldukları tespit edilmiştir (Şekil 4.14)



Şekil 4.14 : LAB suşlarının antibiyotik duyarlılık petri görünümü; D15 ve 205 suşları

LAB izolatlarının antibiyotik duyarlılığı analizinden elde sonuçlar üzerinden benzerlik seviyelerini belirlemek için Öklid mesafesine dayalı benzerlik analizi uygulanmış ve sonuçta öklid mesafesi 3,5 olan 5 grup elde edilmiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15 : LAB suşlarının antibiyotik duyarlılık benzerlik dendrogramı

I nolu grupta kümelenen 201, 203, B11 ve 205 izolatları P,VA, C ve AX'e karşı **duyarlı** iken 201 ve 203 izolatları VA'ya karşı **yarı duyarlı**, B11 ve 205 izolatları VA'ya **dirençlidir**.

II nolu grupta kümelenen 1M, A112, A211, C111, D212, F32, K212, C112 ve G24 izolatları P, KF ve C'ye karşı **yarı duyarlı** ve/veya **duyarlı** ve VA ve AX'e karşı **dirençlidir**. B32 izolatu P, KF, C ve VA'ya karşı **yarı duyarlı** ve/veya **duyarlı** iken AX'e karşı **dirençlidir**.

III. nolu grupta kümelenen 41, F11, K222, 208, 191, 125 izolatları kullanılan tüm antibiyotiklere karşı **duyarlı** ve/veya **yarı duyarlıdır**.

IV. nolu grupta kümelenen 29 izolatu ise P, VA, C'ye duyarlı ve/veya **yarı duyarlı**, KF ve AX'e **dirençlidir**.

V. grupta kümelenen H31, G1, G31, E11, D15 ve E12 izolatları P,VA, KF ve C antibiyotiklerine karşı **duyarlı** ve/veya **yarı duyarlı** iken AX'e **dirençlidir**.

4.3.4 Antimikrobiyal aktivite bulguları

LAB izolatlarının, indikatör patojen bakteriler olan *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Escherichia coli* ATCC25922, *Salmonella* Typhimurium ATCC14028'ne karşı antimikrobiyal duyarlılık düzeyleri için disk etarfinda oluşan zonların çapları İki farklı paralelin ortalama sonuçları ve standart sapma (mm) olarak Çizelge 4.7 de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7: LAB izolatlarının patojen bakteriler üzerine oluşturduğu inhibisyon zon çap değerleri (mm)

LAB Suşları	İndikatör patojenler, inhibisyon zon çapı(mm)		
	S.Typ. ATTC14028	E. coli ATTC25922	S. aureus ATTC25923
<i>P. pentosaceus</i> A112	7,00±0,00	10,00±0,00	10,00±1,73
<i>P. pentosaceus</i> A211	8,00±0,00	0	10,50±0,71
<i>L. brevis</i> B11	7,00±0,00	10,00±0,00	10,50±0,71
<i>L. brevis</i> B21	0	0	0
<i>P. pentosaceus</i> B32	0	0	0
<i>P. pentosaceus</i> C112	9,67±1,15	0	11,00±0,00
<i>P. pentosaceus</i> C111	0	0	0
<i>P. pentosaceus</i> D212	7,00±0,00	8,50±2,12	10,33±2,08
<i>E. faecalis</i> D15	0	7,00±0,00	0
<i>P. pentosaceus</i> E11	7,50±0,71	10,00±0,00	10,50±0,71
<i>P. pentosaceus</i> E12	7,00±0,00	8,50±2,12	7,00±0,00
<i>P. pentosaceus</i> F32	0	0	7,00±0,00
<i>E. faecalis</i> F11	0	0	0
<i>Lactobacillus</i> spp. G1	7,00±0,00	8,00±1,00	9,50±2,12
<i>Lactobacillus</i> spp. G24	7,00±0,00	0	0
<i>P. pentosaceus</i> G31	0	0	7,50±0,71
<i>P. pentosaceus</i> H31	10,00±0,00	0	10,00±0,00
<i>P. pentosaceus</i> K222	7,00±0,00	0	10,00±1,41
<i>P. pentosaceus</i> K212	8,00±1,41	7,67±1,15	0
<i>E. faecalis</i> 191	7,00±0,00	7,50±0,71	11,00±1,00
<i>E. faecalis</i> 41	7,67±0,58	8,00±1,41	0
<i>E. faecium</i> 125	8,33±1,15	0	7,00±0,00
<i>E. faecium</i> 29	7,00±0,00	9,00±1,41	9,00±0,00
<i>P. pentosaceus</i> 1M	7,00±0,00	0	0
<i>L. fermentum</i> 201	8,00±1,41	7,00±0,00	10,00±1,41
<i>L. fermentum</i> 203	7,00±0,00	0	10,00±0,00
<i>L. fermentum</i> 205	8,00±1,41	9,00±2,82	9,50±2,12
<i>L. fermentum</i> 208	7,00±0,00	10,00±1,41	7,00±0,00

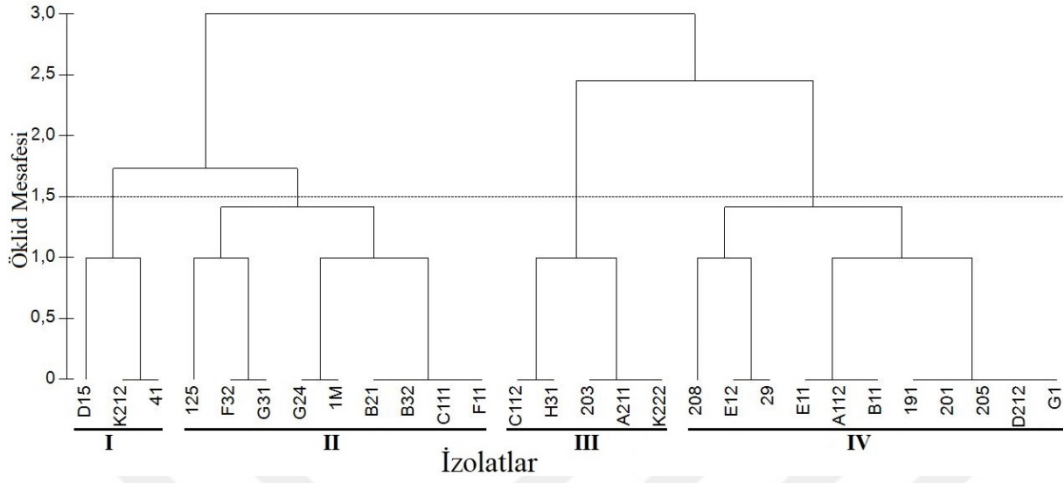
S. aureus, *E.coli*'ye ve *S. Typ.* patojenlerine karşı en iyi inhibasyon zonlarını A112, B11, 205 izolatları verirken B21, B32, F11 ve G31 suşları inhibasyon zonu oluşturmamıştır.

LAB izolatlarının indikatör bakterilere karşı antimikrobiyal duyarlılık düzeyleri Çizelge 4.8'de gösterilmiştir (Siraj ve ark. 2017).

Çizelge 4.8 : LAB izolatlarının patojen bakteriler üzerine antimikrobiyal etki düzeyleri, ; Antimikrobiyal inhibasyon zon çapı : (-) dirençli/etkisiz, (+) düşük etkili (6 – 9 mm), (++) orta dereceli duyarlı (10 – 13 mm), (+++) duyarlı (14 – 16 mm)

LAB Suşları	İndikatör patojenler		
	<i>S.Typ.</i> ATTC14028	<i>E. coli</i> ATTC25922	<i>S. aureus</i> ATTC25923
<i>P. pentosaceus</i> A112	+	++	++
<i>P. pentosaceus</i> A211	+	-	++
<i>L. brevis</i> B11	+	++	++
<i>L. brevis</i> B21	-	-	-
<i>P. pentosaceus</i> B32	-	-	-
<i>P. pentosaceus</i> C112	++	-	++
<i>P. pentosaceus</i> C111	-	-	-
<i>P. pentosaceus</i> D212	+	+	++
<i>E. faecalis</i> D15	-	+	-
<i>P. pentosaceus</i> E11	+	++	++
<i>P. pentosaceus</i> E12	+	+	+
<i>P. pentosaceus</i> F32	-	-	+
<i>E. faecalis</i> F11	-	-	-
<i>Lactobacillus</i> spp. G1	+	+	++
<i>Lactobacillus</i> spp. G24	+	-	-
<i>P. pentosaceus</i> G31	-	-	+
<i>P. pentosaceus</i> H31	++	-	++
<i>P. pentosaceus</i> K222	+	-	++
<i>P. pentosaceus</i> K212	+	+	-
<i>E. faecalis</i> 191	+	+	++
<i>E. faecalis</i> 41	+	+	-
<i>E. faecium</i> 125	+	-	+
<i>E. faecium</i> 29	+	+	+
<i>P. pentosaceus</i> 1M	+	-	-
<i>L. fermentum</i> 201	+	+	++
<i>L. fermentum</i> 203	+	-	++
<i>L. fermentum</i> 205	+	+	++
<i>L. fermentum</i> 208	+	++	+

LAB izolatlarının antimikrobiyal aktivitelerine dayalı kümeleme analizinde öklid mesafesi benzerliği 3,5 olan 4 grup elde edilmiştir (Şekil 4.16).



Şekil 4.16 : LAB suşlarının antimikrobiyal aktivite benzerlik dendrogramı

LAB izolatlarının patojenler üzerinde gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteye dayalı benzerlik analizi sonucunda en fazla suş altıncı grupta yer alırken, en az suş D15, K212 ve 41 birinci grubu oluşturmuşlardır. Birinci ve ikinci gruba *S. aureus*, *E.coli*'ye ve *S. Typ.*'e karşı karşı **dirençli** olan LAB izolatları toplanmıştır. Üçüncü gruba *S. aureus* ve *S. Typ.*'e karşı **düşük ve orta etkili duyarlı** olan ve *E. coli*'ye karşı **dirençli** olan LAB izolatları toplanmıştır. Dördüncü gruba ise *S. aureus*, *E. coli*'ye ve *S. Typ.*'e karşı **düşük ve orta etkili duyarlı** olan LAB izolatları toplanmıştır.

I nolu grupta kümelenen K212, 41 ve D15 izolatları *S.Typ.* ve *E.coli* ve *S. aureus* patojenlerine karşı **etkisiz** ve/veya **düşük etkili duyarlı** davranmıştır.

II nolu grupta kümelenen 125, F32, G31, G24 ve 1M izolatları *S. Typ.*, *E.coli* ve *S.aureus*'e karşı **etkisiz** ve/veya **düşük etkili duyarlı** iken B21, B32, C111 ve F11 kodlu izolatlar kullanılan tüm patojenlere karşı **dirençli** olup antimikrobiyal aktivite göstermemişlerdir.

III nolu grupta kümelenen C112 ve H31 izolatları *S. Typ.* ve *S.aureus*'e karşı **orta dereceli duyarlı**, ve *E.coli*'ye karşı **etkisiz** ve 203, A211 ve K222 kodlu izolatlar *S.Typ.* ve *E.coli*'ye karşı **etkisiz** ve/veya **düşük etkili duyarlı** iken *S.aureus*'e karşı **orta dereceli duyarlı** davrandıkları tespit edilmiştir.

IV nolu grupta kümelenen E12 ve 29 izolatları kullanılan tüm patojenlere karşı **düşük etkili duyarlı**, 208 izolatı ise kullanılan patojenlere karşı **düşük etkili ve/veya orta dereceli duyarlıdır**. E11, A112 ve B11 izolatları *S.Typ*'e karşı **düşük etkili duyarlı** *E. coli* ve *S.aureus* karşı **orta dereceli duyarlı** aktivite gösterirken 191, 201, 205, D212 ve G1 suşları *S. Typ.*'e ve *E.coli*'ye karşı **düşük etkili duyarlı**, *S.aureus* karşı **orta dereceli duyarlı** aktivite göstermişlerdir.





5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında ağırlıklı olarak Manisa yöresinden ve ticari firmalardan temin edilen geleneksel ev tipi ve organik olarak işletmelerde üretilen tarhana örneklerinden laktik asit bakterileri izole edilmiştir. Bu bakterilerin probiyotik karakterizasyonu için izolatların asit ve safra toleransları, antibiyotik dirençlilik ve antimikrobiyal aktiviteleri analiz edilmiştir. Analizler sonucunda belirli probiyotik özellik gösteren ve ticari probiyotiklere alternatif olabilecek suşlar belirlenmeye çalışılmıştır.

Probiyotik özellikteki bakteriler sindirim sisteminde ilk olarak yüksek asidite gösteren mide özsuyu ile karşılaşmaktadırlar. Düşük pH'lı mide özsuyu bakterilerin protein yapılarını bozarak inaktive olmalarına neden olmaktadır. Yüksek mide asitliğini tolere ederek sindirim sisteminden geçen bakterilerin bağırsakta aktive gösterebilmeleri için safra tuzlarına karşı da dirençli olmaları ve bağırsakta koloni oluşturmaları gerekmektedir. Ayrıca probiyotik bakterilerin gıda güvenliği ile ilgili olarak, antibiyotiklere dirençli olma ve direnç genlerini transfer etme olasılıklarının belirlenmesi gerekmektedir. Probiyotik bakterilerin bir diğer özelliği de ürettikleri metabolitler ile patojen mikroorganizmaların gelişmesini engelleyerek antimikrobiyal aktivite göstermeleridir. Bu özelliklere sahip probiyotik bakteriler, probiyotik kültür olarak veya gıdalarda antimikrobiyal metabolitler üreterek, gıdaların bozulmasını engelleyen koruyucu kültür olarak da görev yaparlar.

Ekonomik ve hızlı mikrobiyal tayin imkanı sunan MALDI-TOF MS analizi, biyokimyasal reaksiyonlara dayalı fenotipik ve diğer moleküler tanımlama yöntemlerine göre zaman ve maliyet açısından daha avantajlıdır (O'Connor ve ark. 2014). Bu tez çalışmasında MALDI-TOF MS kullanılarak cins ve tür bazında tarhana izolatların teşhisleri yapılmıştır. Tanımlanan 86 LAB izolatından % 50'si *Pediococcus pentosaceus*, % 21'i *Enterococ faecalis*, % 9'u *Lactobacillus fermentum* ve % 20'lik kısım *Enterococ faecium*, *Lactobacillus brevis*, *Lacobacillus spp.* suşlarıdır. Garcia ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada çeşitli meyvelerin yan ürünlerinden izole edilen 50 adet LAB izolatının tanımlamasında kullanılan MALDI-

TOF MS yöntemi % 86 ve 16S rRNA yöntemi % 100 verimlilik göstererek *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. pentosus*, *L. lactis* ve *L. mesenteroides* izolatların % 100 uyumluk ile tanımlandığını rapor etmişlerdir. Yapılan bir diğer çalışmada fermente lahanadan izole edilen LAB'leri; MALDI-TOF MS ve 16S rRNA gen dizilimi yöntemleri kullanılarak tanımlanmış ve *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus. Paraplantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus Curvatus*, *Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus acidilactici*, *Leuconostoc mesenteroides* ve *Lactococcus lactis* türleri olarak aynı sonuçlar elde edilmiştir (Michalak ve ark. 2018).

Bu tez çalışmasında çeşitli tarhana örneklerinden izole edilen LAB türleri ve çeşitliliği ile ilgili elde edilen sonuçlar, önceki çalışmalar ile paralellik göstermiştir. Funda (2009) çalışmasında ticari ve ev yapımı tarhanalardan izole edilen LAB'lerini *L. brevis*, *L. plantarum*, *P. pentosaceus*, *L. paracasei* subsp. *paracasei*, *L. pentosus* olarak tanımlamıştır. Ege Bölgesinde yapılan bir diğer çalışmada (Şengün, 2006) ise üretilen bazı geleneksel tarhana hamuru, kuru tarhana, yoğurt ve un örneklerinden izole edilen LAB'lerinin; *Streptococcus* cinsi, *Lactobacillus* cinsi, *Enterococcus* cinsi, *Pediococcus* cinsi, *Weissella* cinsi, *Lactococcus* cinsi ve *Leuconostoc* cinsi olduğu bildirmiştir. Ayrıca farklı yörelere ait tarhana numunelerindeki LAB türlerinin çeşitliliğinin; yörelere göre değişim gösterdiğini, tarhana bileşimindeki hammadelere, tarhana hamuruna fermentasyon boyunca yapılan işlemlere, tarhananın yapıldığı yere ve yapan kişiye bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir. Settanni ve ark. (2011), tarhanadan *P. acidilactici*, *L. plantarum* and *L. brevis* izole etmişler ve fermantasyon sıcaklık derecelerinin 40 °C'de *Pediococcus* spp ve 30 °C'de ise *Lactobacillus* spp. suşlarının üremelerini desteklediğini bildirmişlerdir. Uşak yöresinde ev ve işletmelerde üretilen tarhana hamurlarından fermantasyon süresince izole edilen LAB türlerinden en baskın olarak *L. plantarum* ve *L. brevis* olduğu bildirilmiştir (Özel, 2012). Tarhanadan izole edilen LAB'leri tarafından üretilen ekzopolisakkaritlerin karakterizasyonu çalışmasında (Zehir, 2017) 1044 tarhana izolatlarından 16S rDNA dizi analizi sonucunda 8 adedi *L. plantarum*, 3 adedi *L. brevis* olarak tanımlamıştır.

Daglioglu ve ark., (2002) fermantasyon ve kurutma yöntemlerinin patojen aşılansız tarhana numuneleri üzerindeki etkisi ile ilgili çalışmalarında, etüvde kurutmanın tarhana numunelerinin nem miktarını düşürmede daha etkili olduğunu, maya, küf ve LAB sayısında anlamlı düşüşün görüldüğünü belirtmişlerdir. Ayrıca tarhananın

mikroalgada kurutulmasının patojenlerin yok edilmesinde daha etkili olduğu ve sonuç olarak tarhana üretiminde mikroalga kurutmanın geleneksel tarhana üretimindeki kurutmalara alternatif olabileceğini bildirmişlerdir. Gocmen ve ark. (2004) çalışmalarında, modern kurutma metodları ile elde edilen tarhanalarda, geleneksel veya güneşte kurutmaya göre daha fazla aroma bileşiklerinin korunduğunu bildirmişlerdir. Tarhana fermentasyonu sırasında LAB sayısını 4.0×10^6 - 3.8×10^7 kob/g ve tarhananın kurutulması ve öğütülmesi ile LAB sayısının, 720-1500 kob/g'a düştüğü rapor edilmiştir (Ibanoglu, 1999a). Yaş ve kuru tarhanayla ilgili bir diğer çalışmada (Erbaş ve ark. (2005); yaş tarhananın fermentasyonun ilk günlerinde *Lactobacillus* spp., TAMB sayısının yükseldiği fakat fermentasyon sonucunda artan asitle birlikte sayılarının düştüğü, ayrıca maya ve küflerin de sayılarının düştüğünü ifade etmişlerdir. Buna neden olan durumun ise fermentasyon süresince üretilen organik asit, hidrojen peroksit, karbondioksit, etanol ve bakteriyosin gibi metabolitlerin mikroorganizmaları inhibe etmiş olabileceğini bildirilmiştir. Bu tez çalışmasında, ev yapımı ve ticari firmalarda üretilen bazı tarhana örneklerinden LAB izole edilememiştir. Bunun nedeni olarak tarhananın üretilirken kurutma işlemi sırasında düşen su aktivitesinin LAB'sinin gelişmesini yavaşlattığı veya engellemiş olabileceği düşünülmektedir.

Gastrointestinal sistemde çok sayıda türü bulunan *Enterococcus* spp. türlerinden *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* ticari probiyotik gıdalarda kullanılmakla birlikte *Enterococcus faecalis* endokartidis gibi klinik enfeksiyonlara neden olmakta ve bu türler sularda fekal kontaminasyonun göstergesi olarak değerlendirilmektedir (Leclerc ve ark. 1996). Fermente süt ürünlerinde ve çok değişik ortamlarda yaygın olarak bulunan *Enterococcus* spp. türlerin probiyotik olarak kullanılacak suşlarının tanılanması ve insan sağlığı üzerine olumsuz etkilerinin olmadığı kesin olarak tespit edilmiş olmalıdır (Çakır, 2003). Gıdalarda doğal olarak bulunan *Enterococcus* spp. türleri; gıdaların korunması için mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyen, gıdaların raf ömrünü uzatan enterocin bakteriyosinini üretir ve çeşitli gıdalarda koruyucu kültür olarak da kullanılır (Jaouani ve ark. 2015). Bu çalışmada 21 adet *Enterococcus Faecalis* ve 6 adet *Enterococcus faecium* suşlarının % 89'u ev yapımı tarhana örneklerinden izole edilmiştir. Ev yapımı tarhana örneklerindeki *Enterococcus faecalis* varlığı fekal bulaşmaya işaret etmekte ve örneklerin hijyenik kurallara uygun şekillerde

üretilmemiş olduğunu göstermektedir. Funda (2009) çalışmasında tarhana numunelerinde sadece *Enterococcus durans* suşu tespit etmiş ve toplam *Enterococcus* spp. sayısının, Soyyiğit (2004) ün bulduğu sonuca benzer şekilde, 10 cfu/g'dan daha düşük olarak bildirmiştir.

Probiyotik bakterilerin gastrointestinal sistemde yararlı etkilerini göstermek için öncelikle mide özusunun asit ortamından canlı olarak geçmeleri gerekmektedir. Bu nedenle Probiyotik suşların ince bağırsağa gelene kadar yüksek mide asitliğine tolerans göstermeleri en önemli seçim kriterlerinden birisidir (Soccol ve ark., 2010). Bu tez çalışmasında probiyotik özelliği araştırılan, *Pediococcus pentosaceus* suşlarının % 64'ü (A112, B32, C111, C112, G31, H31, K222, K212, 1M kodlu izolatlar), *Lactobacillus brevis* B11 ve B21 ve *Lactobacillus* spp. G1 ve G24 suşlarının tamamı ve *Enterococcus faecium* suşlarının % 50'si (125 kodlu izolat) düşük pH 'ya direnç göstermiş ancak 4'er adet *Lactobacillus fermentum* ve *Enterococcus faecalis* suşlarının gelişemedikleri tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre en iyi asit direncine *Pediococcus* spp. ve en zayıf suşlar *Enterococcus* spp. türlerinin sahip olduğu tespit edilmiştir.

LAB üyelerinin düşük pH'ya dirençleri ile ilgili elde edilen sonuçlar, önceki çalışmalar ile paralellik göstermiştir. Prasad ve ark. (1999) tarafından süt ürünlerinden izole ettikleri *Lactobacillus* spp. izolatlarının 3 saat boyunca pH 3.0'de gelişimlerini inceledikleri çalışmalarında, izolatların % 80 oranında canlılıklarını koruduklarını rapor etmişlerdir. *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus curvatus* ve *Pediococcus pentosaceus* suşlarının pH 3,0 en fazla asit toleransı olduğu bildirilmiştir (Erkkilä ve Petäjä, 2000). Jamaly ve ark (2011) Fas'a özgü süt ürünlerinden izole edilen 18 *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus paracasei* suşlarının pH 2.0 ve 3.0 toleranslı olduğunu rapor etmişlerdir. Yadav ve ark. (2016) tarafından tahıl fermente ürünlerinden izole edilen 54 adet *Lactobacillus plantarum* izolatından % 44'i 2 saat boyunca pH 2.0'de canlılıklarını sürdürdüğü bildirilmiştir. Bir başka çalışmada 274 adet LAB izolatının gastroinsestinal ortama gösterdikleri direnç, 4 saat boyunca pH 3,0'de yalnızca 10 adet izolat canlılıklarını % 50 sürdürmüştür (Wanhlem ve ark. 2010).

Bu çalışmada LAB izolatlarının yüksek mide asitliğine (pH 3.0) dirençlilik analizinde, bakterilerin farklı zaman aralıklarında (0-240 dakika) gösterdikleri asit dirençlilikleri arasında anlamlı bir farklılık ($P>0.05$) bulunmamıştır. Yang ve ark.

(2015) tarafından yapılan çalışmada, farklı LAB türlerinin hatta aynı türe ait suşların düşük pH toleranslarının farklılık göstermesinin, mikroorganizmaların üreme fazlarının farklılığı olarak ifade etmişlerdir. Burgain ve ark., (2011), düşük mide asitinde canlılığı devam etmeyen probiyotik mikroorganizmaların mideden zarar görmeden geçebilmesi için mikroenkapsilasyon yöntemi ile toz forma getirilen probiyotik suşların uygun malzeme ile kaplanarak düşük mide pH'sından etkilenmeden çıkabileceklerini ifade etmişlerdir.

LAB üyelerinin probiyotik bakteri olarak seçiminde diğer önemli kriter olan safra tuzu toleransı, mide asitliğinden geçebilen bakterilerin bağırsak sistemine ulaştıklarında safra tuzuna dirençli olmalarıdır (Çakır 2003). Bu çalışmada, elde edilen LAB suşlarının % 0,3'lük safra tuzunda optik yoğunlukları ölçülerek safra tuzlarına direnç testi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre LAB izolatlarının % 85,7'si safra tuzuna direnç göstermiştir. Yalnızca *Pediococcus pentosaceus* H31, *Lactobacillus fermentum* 203 ve 205, *Enterococcus faecalis* 191 suşları safra tuzunda canlılıklarını devam ettirememişlerdir.

Bu tez çalışmasında izolatlarının % 0,3 safra tuzu dirençlilik istatistik analizinde, bakterilerin farklı zaman aralıklarında (0-240 dakika) gösterdikleri safra tuzu dirençlilikleri arasında önemli farklılık ($P<0.05$) bulunmuştur.

LAB üyelerinin safra tuzu dirençleri ile ilgili elde edilen sonuçlar, önceki yapılan çalışmalar ile paralellik göstermiştir. Yapılan bir çalışmada, süt ve süt ürünlerinden izole edilen 4 adet *Lactobacillus* spp. izolatları düşük pH'a toleranslı davranırken, değişik safra konsantrasyonlarında (% 0.4, 0.8, 1.0) % 80 oranında canlılıklarını ve gelişimleri sürdürdükleri bildirilmiştir (Prasad ve ark. (1999). Başka bir çalışmada fermente salatalıktan izole edilen ve probiyotik özellikleri araştırılan *Pediococcus pentosaceus* CRAG3 suşunun mide pH 3.0'üne; % 58 oranında ve 0.3 %'lük safra tuzuna; % 73 oranında dirençlik gösterdiği bildirilmiştir (Shukla ve Goyal 2014). Eryılmaz (2011) vajinal sekresyondan izole edilen *Lactobacillus brevis* suşunda 4 saat boyunca safra tuzu % 0.3'de canlılığını % 95.98 olarak tespit etmiştir. Jamaly ve ark (2011) tarafından geleneksel Fas süt ürünlerinden izole edilen *Lactobacillus* suşlarının *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus paracasei* suşları 24 saat boyunca % 0.2, % 0.3 safra tuzunda gelişim gösterirken % 1 safra tuzunda canlılıkları azalmıştır. Banwo ve ark (2013), inek sütünden izole edilen *Enterococcus faecium* suşlarının % 0.3 safra tuzundaki dayanım oranlarını sırasıyla %

79 ve % 74 şekilde bularak, izolatların güçlü safra tuzu toleransı olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada, izolatlardan optik yoğunlukları açısından hem asit ortam hem de safra tuzuna en dirençli suşlar 8 adet *P. pentosaceus* A112, B32, C111, C112, G31, K222, K212 ve 1M, 2 adet *L. brevis* B11 ve B21, 2 adet *Lactobacillus* spp. G1 ve G24 ve 1 adet *E. faecium* 125 türleridir. Bu bulgulara göre, test edilen izolatların % 50'si düşük pH'a direnç gösterirken, safra tuzunda gelişim gösterenlerin oranın % 85.7 ile çok daha yüksek olması yukardaki çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Fermente gıdaların antibiyotik direnç genlerinin kaynağı olabileceği ve probiyotik mikroorganizmaların antibiyotik direnç genlerini taşımaları ve sindirim sistemindeki patojen bakterilere aktarmaları durumunda ciddi sağlık sorunlarının yaşanabileceği bildirilmiştir (Hummel ve ark. 2007). Bu çalışmada, insanların tedavi amacıyla kullandıkları antibiyotiklerin gastrointestinal sistemde bulunan probiyotik bakterilere yaptığı etkinin değerlendirilmesi için 28 adet LAB izolatının antibiyotik duyarlılık analizleri yapılmıştır. LAB izolatlarının antibiyotik duyarlılık analizinde, bakterilerin gösterdikleri antibiyotik duyarlılıkları arasında önemli farklılık ($P<0.05$) bulunmuştur.

Antibiyotik testi analiz sonuçlarına göre, izolatların % 59'u Amoxicillin'e dirençli, % 44'ünün Vancomycin'e dirençli ve % 4'ünün Cephalothin'e dirençli bulunmuştur. *Lactobacillus* spp. türleri arasında plazmid bağlantılı antibiyotik direnci çok yaygın olmamasına rağmen, güvenlik önlemleri alınmalıdır (Charteris ve ark., 1998; Gögebakan, 2003). Bu çalışmada, antibiyotiklere karşı dirençli tespit edilen suşların direnç profilleri araştırılmalıdır.

Bu tez çalışmasında, tüm izolatların Penicillin G, Chloramphenicol ve izolatların % 96'sının Cephalothin'e yarı duyarlı ve/veya duyarlı oldukları tespit edilmiştir. *Lactobacillus* spp. G1 ve G24 suşları; Penicillin G, Cephalothin ve Chloramphenicol'a karşı duyarlı iken Amoxicillin karşı dirençli, G1 izolatı Vancomycin'e karşı yarı duyarlı G24 izolatı ise dirençlidir. Yapılan çalışmalarda *Lactobacillus* spp. türlerinin genelde Penicillin G ve Chloramphenicol'e karşı duyarlı olarak bildirilmiştir (Coppola, ve ark. 2005; Özteber 2013). Elde edilen bulgulara göre; *P. pentosaceus* 112, C111, C112, K212 ve 1M suşları, Penicillin G, Cephalothin ve Chloramphenicol'a karşı duyarlı iken, Amoxicillin ve Vancomycin'e karşı dirençlidir. *L. brevis* B11 suşu ve *L. fermentum* 205 suşu sadece Vancomycin'e dirençli iken diğer antibiyotiklere duyarlıdır. *Pediococcus pentosaceus* B32 ve G31

suşları sadece Amoxicillin'e karşı dirençli iken diğer antibiyotiklere karşı duyarlıdır. Benzer çalışmalarda *Lactobacillus* spp., *Pediococcus* spp., ve *Leuconostoc* spp. türlerinin doğal yüksek oranda Vankomisin direnci olduğu bildirilmiştir (Curragh ve Collins, 1992; Çelik ve ark. 2016). Temmerman ve ark. (2003) tarafından probiyotik ürünlerden elde edilen 187 izolatın antibiyotik duyarlılıkları testinde izolatların % 65'nin vankomisine dirençli olduklarını bildirmişlerdir. Tatlı (2009) tarafından yoğurt numunelerinden izole edilen LAB'lerinin % 52'sinin Vankomisin'e dirençli olduğunu, peynir örneklerinden izole edilen 23 LAB'lerinin ise % 53'ünün Vankomisin'e, % 3'ünün Chloramphenicol'a dirençli olduğunu raporlamıştır. Başka bir çalışmada farklı beyaz peynir numunelerinden izole edilen LAB'lerinin antibiyotik duyarlılıklarını araştırmışlar ve izolatların Vankomisin, Penicillin G ve Chloramphenicol'e duyarlı olduklarını bildirilmiştir (Başyigit ve Kılıç 2014). Benzer şekilde bir diğer çalışmada (Lim ve Im, 2009), Kore fermente gıdalarından izole edilen LAB suşlarından 7'sinin; Vancomycin, Streptomycin sulfat veya Amoxicillin'in 20µg/ml konsantrasyonunda yüksek direnç fakat aynı antibiyotiklerin 2 µg / ml konsantrasyonlarında duyarlı bulunmuştur.

Bu çalışmada *E. faecalis* D15, F11, 41 ve 191 ve *E. faecium* 125 ve 29 suşları, Vankomisin'e karşı duyarlılık göstermişlerdir. Ayrıca 191, 41, 25 ve F11 izolatları kullanılan tüm antibiyotiklere duyarlı, D15 izolatı Amoxicillin'e dirençli ve 29 izolatı ise Amoxicillin ve Cephalothin'e dirençli oldukları tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara önceki yapılan çalışmalar benzerlik göstermektedir. Gıdalara bulunan *Enterococcus* spp. türlerinin Vankomisin ve Ampisilin'e duyarlı davranışlar bile, bazen yüksek oranda çoklu direnç gösterdikleri görülmüştür (Giraffa, 2002).

Enterococcus spp. türlerinin, diğer LAB üyeleri gibi geleneksel gıdalarda önemli yer tutmalarına rağmen fırsatçı patojen özellikleri bildirilmiştir (Al Atya ve ark. 2015). Beyaz peynir örneklerindeki *Enterococcus* spp. türleri ve antibiyotik dirençleriyle ilgili yapılan başka bir çalışmada (Çitak ve ark., 2004) *E. faecalis* izolatlarının % 96,8'nin ve *E. faecium* izolatlarının ise % 76'sının Vankomisin'e dirençli olarak bulunmuş ve bu durumun peyz peynir üretim ve işleme sırasındaki kötü sağlık koşullarının tüketicilerde sağlık riski oluşturduğu belirtilmiştir. Bu tez çalışmasında *Enterococcus* spp. türlerinin %83'ü Vankomisin'e duyarlı çıkararak, Frazzon ve ark. (2010)'nın gıda örneklerinden izole ettikleri *Enterococcus* spp. türlerinin Vankomisin'e duyarlılık sonuçlarıyla benzerlik göstermiştir.

Probiyotik mikroorganizmaların seçim ölçütlerinden biri de patojenlerin baskılanması açısından önemli olan antimikrobiyal aktivitedir. Probiyotik bakteriler; antimikrobiyal metabolitlerin (laktik asit, asetik asit, H₂O₂, diasetil ve bakteriyosin vb.) ve kolonizasyon bölgeleri için patojenlerle yarışarak antimikrobiyal etki göstermelerinin yanında gıdaların mikrobiyolojik dengelerini koruyan “koruyucu kültür” görevini de yerine getirir (Chih Tsai ve ark. 2016; Kaya 2013).

Bu çalışmada 28 adet LAB izolatının antimikrobiyal aktivite test sonuçlarına göre *P. pentosaceus* A112, *L. brevis* B11 ve *Lactobacillus* spp. G1 suşları *E. coli*, *S. aureus* ve *S. Typ.* patojenlerine karşı karşı düşük ve/veya orta düzeyde antagonistik etki göstererek araştırılan bazı probiyotik özellikleri sergilemişlerdir. Elde edilen diğer sonuçlar ise; *P. pentosaceus* C112, A211 ve K222 suşları, *S. Typ.* ve *S. aureus* patojenlerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterirken *E. coli*'ye karşı etkisiz kalmıştır. *E. faecium* 125 suşu, *S. Typ.* ve *S. aureus* patojenlerine karşı düşük antimikrobiyal aktivite gösterirken *E. coli*'ye karşı etkisiz kalmıştır. *L. brevis* B21, *P. pentosaceus* B32 ve C111 izolatları kullanılan tüm patojenlere karşı dirençli olup antimikrobiyal aktivite tespit edilememiştir. Düşük pH'ya dirençlilik göstermeyen fakat safra tuzuna direnç gösteren E11, E12, 29, D212, 201 ve 208 izolatları kullanılan tüm patojenlere karşı antimikrobiyal etkiye sahiptirler.

LAB üyelerinin patojenler üzerine antimikrobiyal duyarlılık analizinde, bakterilerin gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteler arasında anlamlı bir farklılık (P<0.05) bulunmuştur. Elde ettiğimiz bulgular, önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir. Kaya (2013), tarhanadan izole edilen *Pediococcus acidilactici* ve *Lactococcus lactis* suşlarının *S. aureus* ve *B. cereus* patojenlerine karşı antimikrobiyal aktive gösterdiğini ve *Lactococcus* spp. ve *Pediococcus* spp. türlerinin iyi birer bakteriyosin üretici oldukları için antimikrobiyal etkinliklerinin yüksek olarak bildirmiştir. Dogan ve Ozpınar (2017), fermente gıdalardan izole edilen *L. brevis*, *E. faecium*, *L. paraplantarum* ve *L. plantarum* suşlarının patojen *C. albicans*, *S. aureus* ve *E. coli*, suşlarına karşı inhibisyon etkilerini bildirmişlerdir. Psoni ve ark. (2006) tarafından yapılan başka bir çalışmada peynirden izole edilen *Enterococcus* suşlarının *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* ve *E. Coli* patojenlerine karşı antagonistik etki gösterdikleri belirtilmiştir. Karimi ve ark. (2018) tarafından geleneksel süt ürünleri ve farklı sebzelerden izole edilen 5 adet *Lactobacillus* spp. izolatının, 4 farklı *E. coli* patojen tipine karşı antimikrobiyal etkisini belirlemek için yapılan çalışmada disk

difüzyon ve kuyu difüzyon testleri olmak üzere iki yöntem kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde ettikleri sonuçlara göre her iki yöntemde de 5 probiyotik suşun *E. coli* patojen tiplerine karşı inhibisyonu etkilerini belirtmişlerdir. Benzer şekilde (Boris ve ark. 2001), süt ürünlerinden izole edilmiş *Lactobacillus* spp. izolatlarının bir dizi patojene karşı inhibe edici etkileri olduğunu rapor etmişlerdir. Shafighi ve ark. (2012) , zeytinden izole ettikleri 28 adet *Lactobacillus* spp. ve *Lactococcus* spp. suşularının *P. aeruginosa* ve *S. aureus* patojenleri üzerine antimikrobiyal aktivitelerini disk ve kuyu difüzyonu yöntemleri ile test ettikleri çalışmalarında 5 suş *P. aeruginosa* ve *S. aureus* karşı antimikrobiyal etki gösterirken diğer 23 suş bu patojenlere etkili olmadığını ve iki yöntemin sonuçlarının birbirlerini doğruladığını bildirmişlerdir.

Funda (2009) çalışmasında endüstriyel olarak üretilen tarhana numunelerindeki LAB sayısının ($0 - 5.1 \times 10^2$ kob/g) ev tipi numunelerdeki LAB sayısından ($1.1 \times 10^1 - 3.6 \times 10^2$ kob/g) daha fazla olduğunu bildirmiştir. Uşak tarhanasının ev ve ticari çaptaki üretiminin fermantasyonda mikrobiyolojik ve kimyasal değişimlerin karşılaştırıldığı çalışmada (Şimşek ve ark., 2012) ticari çapta üretilen tarhana hamurlarındaki LAB'leri ve mayaların, evlerde geleneksel olarak üretilen tarhana hamurlarına göre daha yüksek ve çeşitli olduğu belirtilmiştir. Bu durumun tarhana bileşiminin ve işletmedeki kontrollü üretim prosesinin doğal floradaki mikroorganizmaların gelişimini sağladığı sonucuna varıldığını belirtmişlerdir. Bu tez çalışmasında ticari ölçekteki firmalardan temin edilen organik tarhanalardaki LAB çeşitliğinin ve sayısının, geleneksel ev tipi üretilen tarhanalara göre yüksek çıkması sözü konusu çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Böylece ticari işletmelerde üretilen organik tarhanaların LAB üyesi içeriğinden ve organik yapısından dolayı güvenilir olarak tüketilebileceğini önermekteyiz.

Son yıllarda probiyotik bakterilerin insan sağlığı ve hastalıkların önlenmesinde olumlu ve faydalı rolleri ilgili çalışmalar artmış ve ürün güvenliğinin sağlanması için gıdalarda kullanılması yaygınlaşmıştır. Bu tez çalışmasında elde edilen; *Pediococcus pentosaceus* A112, *Lactobacillus brevis* B11, *Lactobacillus* spp. G1 suşları, mide asitliğine ve safra tuzuna dayanıklılık, seçilen antibiyotiklere duyarlı ve bazı patojenlere karşı düşük ve/veya orta dereceli duyarlı aktivite gibi iyi fonksiyonel özellikler göstermişlerdir. Bu nedenle bu suşların daha fazla araştırılmak üzere,

probiyotik kültür adayı veya başta tarhana olmak üzere başka fermente gıdalar için starter veya koruyucu kültür adayları olarak tespit edilmiştir.

Sarantinopoulos ve ark. (2002), *E. Faecalis* ve *E. faecium* suşlarının süt ve peynirlerde bakteriyosin üretebildiklerini ve bu suşların, *L. monocytogenes* patojeninin Camembert gibi peynirlerin üretim ve olgunlaşma koşullarında hayatta kalabildiği için, peynir üretiminde starter veya koruyucu kültür olarak kullanılmasının büyük teknolojik öneme sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasında, kurutulmuş toz tarhanadan izole edilen ve zor koşullarda hayatta kalabilme yetenekleri olan bazı probiyotik özelliklere sahip *E. faecium* 125 ile probiyotik özellik göstermeyen fakat patojenlere karşı antagonistik etki gösteren *E. faecium* 29 suşlarının, gıdalarda koruyucu kültür olarak kullanılabileceği değerlendirilmiştir.

Özetle, bu tez çalışması sonucunda elde edilen verilere göre bazı probiyotik özellikler gösteren organik tarhananın iyi bir LAB kaynağı olduğu tespit edilmiştir. Diğer yandan, organik ürünlerden elde edilen izolatların, endüstriyel olarak üretilen probiyotikler yerine seçenek olup olamayacağının daha detaylı olarak araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Akbaş, Ş. ve Coşkun, H.** (2006). Tarhana Üretimi ve Özellikleri Üzerine bir Değerlendirme. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, (24-26 Mayıs), 703–706.
- Akman E.** (2009). Bazı laktik asit bakterilerinin probiyotik özelliklerinin incelenmesi. *Yüksek lisans tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul.*
- Al Atya, A. K., Drider-Hadiouche, K., Ravallec, R., Silvain, A., Vachee, A. ve Drider, D.** (2015). Probiotic potential of Enterococcus faecalis strains isolated from meconium. *Frontiers in Microbiology*, 6(APR).
- Arihara, K.** (2006). Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Science*, 74(1), 219–229.
- Ashraf, R. ve Smith, S. C.** (2016). Commercial lactic acid bacteria and probiotic strains- tolerance to bile, pepsin and antibiotics. *International Food Research Journal*, 23(2), 777–789.
- Bağdatlı Budak, A. ve Kundakçı, A.** (2013). Fermente et ürünlerinde probiyotik mikroorganizmaların kullanımı. *C.B.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 1, 31–37.
- Banwo, K., Sanni, A. ve Tan, H.** (2013). Technological properties and probiotic potential of Enterococcus faecium strains isolated from cow milk. *Journal of Applied Microbiology*, 114(1), 229–241.
- Barry, A. L., Coyle, M. B., Thornsberry, C., Gerlach, E. H. ve Hawkinson, R. W.** (1979). Methods of measuring zones of inhibition with the Bauer-Kirby disk susceptibility test. *Journal of clinical microbiology*, 10(6), 885–9.
- Başığit Kılıç.** (2014). Farklı peynir çeşitlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin tanımlanması ve süt endüstrisinde kullanımının araştırılması, *TAGEM-11/ARGE/05 (2011-2013)*, Proje Raporu (basılmamış).
- Boris, S., Jiménez-Díaz, R., Caso, J. L. ve Barbés, C.** (2001). Partial characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* UO004, an intestinal isolate with probiotic potential. *Journal of Applied Microbiology*, 91(2), 328–333.
- Bozyiğit, S. & Doğan, G. K.** (2015). Türkiye'deki doğal ve organik ürün üreticilerinin yaşadığı pazarlama sorunları: keşifsel bir araştırma, *AKÜ İİBF Dergisi-17(2): 33-47*
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M. ve Scher, J.** (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 104(4), 467–483.
- Charteris, W. P., Kelly, P. M., Morelli, L. ve Collins, J. K.** (1998). Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. *Journal of food protection*, 61(12), 1636–1643.

- Chih Tsai, C. ve Chou, L. C.** (2016). An in vitro investigation of the antagonistic effects of multiple strains of lactobacillales on *Salmonella enterica* serovar *choleraesuis*. *Applied Microbiology: open access*, 2(1), 1–7.
- Clarke ve Warwick.** (2001). Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation, 2nd ed. PRIMER-E, Plymouth.
- CLSI,** (2012) Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, approved standard, 7th ed., *CLSI document M02-A11. Clinical and Laboratory Standards Institute*, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania.
- CLSI,** (2016). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing 26th ed., *CLSI supplement M100S. Clinical and Laboratory Standards Institute*, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania.
- Coşkun, F.** (2014). Tarhananın tarihi ve Türkiye’de tarhana çeşitleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 9(3), 69-79.
- Coeuret V., Dubernet S., Bernardeau M., Gueguen M. ve Vernoux J.P.** (2003) Isolation, characterization and identification of lactobacilli focusing mainly on cheeses and other dairy products. *Lait* 83:269-306.
- Coppola, R., Succi, M., Tremonte, P., Reale, A., Salzano, G. ve Sorrentino, E.** (2005). Antibiotic susceptibility of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese. *Lait*, 85: 193- 204.
- Curragh, H. J. ve Collins, M. A.** (1992). High levels of spontaneous drug resistance in *Lactobacillus*. *Journal of Applied Bacteriology*, 73(1), 31–36.
- Çakır, İ.** (2003). *Laktobacillus* ve bifidobakterilerde bazı probiyotik özelliklerin belirlenmesi - *Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi.*
- Çakıroğlu, F. B.** (2007). Geleneksel tarhananın modern yolculuğu, *ICANAS 38. Uluslararası Asya ve Kuzey Afrika Çalışmaları Kongresi*, 10-15 Eylül, Ankara., 349–360.
- Çekal, N ve Aslan, B.** (2017). Gastronomik bir değer olarak tarhana ve coğrafi işaretlemeye tarhananın yeri ve önemi. *Güncel Turizm Araştırmaları Dergisi*, 1(2), 124–135.
- Çelik, H., Durak, Y. ve Uysal, A.** (2016). Bazı ticari ve ev yapımı yoğurtlardan izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik duyarlılıkları *Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 42(2), 149–160, *Selçuk Üniversitesi.*
- Çitak, S., Yucel, N. ve Orhan, S.** (2004). Antibiotic resistance and incidence of *Enterococcus* species in Turkish white cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 57(1), 27–31.
- Daglioglu, O.** (2000). Tarhana as a traditional Turkish fermented cereal food. *Nahrung* 44, Nr. 2, S. 85 – 88
- Daglioglu, Orhan, Arici, M., Konyali, M. ve Gumus, T.** (2002). Effects of tarhana fermentation and drying methods on the fate of *Escherichia coli* 0157:H7 and *Staphylococcus aureus*. *European Food Research and Technology*, 215(6), 515–519.

- Dasari, S., Shouri, R. N. D., Wudayagiri, R. ve Valluru, L.** (2014). Antimicrobial activity of *Lactobacillus* against microbial flora of cervicovaginal infections. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(1), 18–24.
- DBB.** (2015). Doğal besin bilinçli beslenme işletmeleri, DBB ürünleri ve üreticileri, <https://dogalbilincliBeslenme.wordpress.com/dbb-ureticileri/>, (Erişim: 20.05.2019)
- Dogan, M. ve Ozpınar, H.** (2017). Investigation of probiotic features of bacteria isolated from some food products. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 23(4), 555–562.
- Dubois, D., Grare, M., Prere, M. F., Segonds, C., Marty, N. ve Oswald, E.** (2012). Performances of the Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system for rapid identification of bacteria in routine clinical microbiology. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(8), 2568–2576.
- Dunne, C.** (2001). Adaptation of bacteria to the intestinal niche : Probiotics and gut disorder summary of its role in health. *Inflammatory Bowel Diseases*, 7(2), 136–145.
- Ekinci, R.** (2005). The effect of fermentation and drying on the water-soluble vitamin content of tarhana, a traditional Turkish cereal food. *Food Chemistry*, 90(1–2), 127–132.
- Erbaş, M., Certel, M. ve Uslu, M.K.** (2005). Microbiological and chemical properties of tarhana during fermentation and storage as wet - sensorial properties of tarhana soup. *LWT - Food Science and Technology*, 38(4), 409–416.
- Erkkilä, S. ve Petäjä, E.** (2000). Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use. *Meat Science*, 55(3), 297–300.
- Eryılmaz, F.** (2011). Vajinal sekresyondan izole edilen laktik asit bakterilerine ait bazı suşların potansiyel probiyotik özelliklerin belirlenmesi. *Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü. Doktora Tezi.* 95 Sayfa. Ankara.
- Fanaro, S., Chierici, R., Guerrini, P. ve Vigi, V.** (2003). Intestinal microflora in early infancy: composition and development, *Acta Paediatr Suppl*, 441: 48–55
- FAO/WHO,** (2002). Food and Agriculture Organization / World Health Organization. Guidelines for the evaluation of probiotics in foods, *joint Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food London, Ontario, Canada, April 30 and May 1,*
- Frazzon, A. P. G., Gama, B. A., Hermes, V., Bierhals, C. G., Pereira, R. I., Guedes, A. G., ... Frazzon, J.** (2010). Prevalence of antimicrobial resistance and molecular characterization of tetracycline resistance mediated by tet(M) and tet(L) genes in *Enterococcus* spp. isolated from food in Southern Brazil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(2), 365–370.
- Funda, E.G.** (2009). Ülkemizde tüketilen tarhanaların mikrobiyolojik ve bazı kimyasal özelliklerinin analizi. *Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir.*

- Garcia E.F, Luciano W.A., Xavier, D.E., da Costa, W.C.A., de Sousa Oliveira K., Franco O.L., de Moraes Júnior M.A., Lucena B.T.L., Picão R.C., Magnani M., Saarela M. ve de Souza E.L.** (2016). Identification of lactic acid bacteria in fruit pulp processing by products and potential probiotic properties of selected *Lactobacillus* strains. *Frontiers in Microbiology*. 7:1371.
- George, R., Kumar, J., Gouda, S., Park, Y., Shin, H. ve Das, G.** (2018). ScienceDirect Benefaction of probiotics for human health : A review. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(3), 927–939.
- Gil, J., A. Gracia. ve M. Sánchez.** (2000). Market segmentation and willingness to pay for organic products in Spain. *International Food and Agribusiness Management Review* 2: 207-26
- Gilliland, S. E., Staley, T. E. ve Bush, L. J.** (2010). Importance of bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus* used as a dietary adjunct. *Journal of Dairy Science*, 67(12), 3045–3051.
- Giraffa G.** (2002). Enterococci from foods. *FEMS Microbiology Reviews*, 26, 163–171.
- Gocmen, D., Gurbuz, O., Rouseff, R. L., Smoot, J. M. ve Dagdelen, A. F.** (2004). Gas chromatographic-olfactometric characterization of aroma active compounds in sun-dried and vacuum-dried tarhana. *European Food Research and Technology*, 218(6), 573–578.
- González, C. J., Encinas, J. P., García-López, M. L. ve Otero, A.** (2003). Isolation and molecular characterization of lactic acid bacteria from cheese. *Food Microbiology*, 17(4), 383–391.
- Gorbach, S. L. ve Goldin, B. R.** (1992). Nutrition and the Gastrointestinal Microflora. *Nutrition Reviews*, 50(12), 378–381.
- Grigoroff, S.** (1905). "Étude sur un lait fermenté comestible. Le "Kisselo-mleko" de Bulgarie". *Revue médicale de la Suisse Romande*, vol. 25, pp. 714-720.
- Guarner, F. ve Malagelada J.R.** (2003) Gut flora in health and disease. *Lancet*. 2003 Feb 8;361(9356):512-9.
- Guarner, F. ve Schaafsma, G.J.** (1998). Short communication Probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 39, 237–238.
- Guerin-Danan, C., Chabanet, C., Pedone, C., Popot, F., Vaissade, P., Bouley, C., ... Andrieux, C.** (1998). Milk fermented with yogurt cultures and *Lactobacillus casei* compared with yogurt and gelled milk: Influence on intestinal microflora in healthy infants. *American Journal of Clinical Nutrition*, 67(1), 111–117.
- Havenaar, R. ve Huis In't Veld, J. H. J.** (1992). Probiotics: A general view. Vol. 1, pp. 151-170, In: *The Lactic Acid Bacteria*. Editor B. J. B. Wood, Elsevier, London.
- Heczko, P. B., Strus, M. ve Kochan, P.** (2006). Critical evaluation of probiotic activity of lactic acid bacteria and their effects. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 57(SUPPL. 9), 5–12.
- Hennequin, C., Kauffmann-Lacroix, C., Jobert, A** (2000). Possible role of catheters in *Saccharomyces boulardii* fungemia. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 19(1), 16–20.

- Hill, C., Gahan, C. G. M. ve Begley, M.** (2006). Bile salt hydrolase activity in probiotics. *Applied and environmental microbiology*, 72(3), 1729–38.
- Horvath, P., Coûté-Monvoisin, A. C., Romero, D. A., Boyaval, P., Fremaux, C. ve Barrangou, R.** (2009). Comparative analysis of CRISPR loci in lactic acid bacteria genomes. *International Journal of Food Microbiology*, 131(1), 62–70.
- Hummel, A. S., Hertel, C., Holzappel, W. H. ve Franz, C. M. A. P.** (2007). Antibiotic resistances of starter and probiotic strains of lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(3), 730–739.
- İbanoğlu, Ş. ve İbanoğlu, E.** (1999). Rheological Properties of Cooked Tarhana, a Cereal-Based Soup, *Food Research International*, 32(1): 29-33.
- Ibanoğlu, Ş., İbanoğlu, E. ve Ainsworth, P.** (1999). Effect of different ingredients on the fermentation activity in tarhana. *Food Chemistry*, 64(1), 103–106.
- Jamalifar, H., Rahimi, H. R., Samadi, N., Shaverdi, A. R., Sharifian, Z., Hosseini, F., ... Fazeli, M. R.** (2011). Antimicrobial activity of different Lactobacillus species against multi-drug resistant clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. *Iranian Journal of Microbiology*, 3(1), 21–25.
- Jamaly, N.** (2011). Probiotic Potential of Lactobacillus strains Isolated from Known Popular Traditional Moroccan Dairy Products. *British Microbiology Research Journal*, 1(4), 79–94.
- Jaouani, I., Abbassi, M. S., Ribeiro, S. C., Khemiri, M., Mansouri, R., Messadi, L. ve Silva, C. C. G.** (2015). Safety and technological properties of bacteriocinogenic enterococci isolates from Tunisia. *Journal of Applied Microbiology*, 119(4), 1089–1100.
- Journal, T. E.** (2005). Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA related to a generic approach to the safety assessment by EFSA of microorganisms used in food/feed and the production of food/feed additives. *EFSA Journal*, 3(6), 226.
- Kampman, E., Goldbohm, R.A., van den Brandt, P.A. ve van 't Veer, P.** (1994). Fermented dairy products, calcium, and colorectal cancer in the Netherlands cohort study. *Cancer Research*, 54(12), 3186–3190.
- Kandler, O. & Weiss, N.** (1986). Genus Lactobacillus Beijerinck 1901, 212AL. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 2, pp. 1209–1234. Edited by P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe & J. G. Holt. Baltimore: Williams & Wilkins.
- Karimi, S., Rashidian, E., Birjandi, M. ve Mahmoodnia, L.** (2018). Antagonistic effect of isolated probiotic bacteria from natural sources against intestinal Escherichia coli pathotypes. *Electronic Physician*, 10(3), 6534–6539.
- Kaur, I. P., Chopra, K. ve Saini, A.** (2002). Probiotics: Potential pharmaceutical applications. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15(1), 1–9.
- Kaya, H. İ.** (2013). Tarhana izolati bazı laktik asit bakterilerinin bakteriyosinleri ve fermantasyonda patojen bakteriler üzerine etkisi. *Yüksek Lisans Tezi. Gıda Mühendisliği Bölümü, Fen Bilimleri Enstitüsü, Pamukkale Üniversitesi*

- Keşkekoğlu, H.** (2009). Tarhana üretimi ve depolanması süresince biyojen amin oluşumunun araştırılması tarhana üretimi ve depolanması süresince biyojen amin oluşumunun araştırılması. *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. Bornova, İZMİR*,
- Klaenhammer, T. R., Barrangou, R., Buck, B. L., Azcarate-Peril, M. A. ve Altermann, E.** (2005). Genomic features of lactic acid bacteria effecting bioprocessing and health. *FEMS microbiology reviews*, 29(3), 393–409.
- Kozaki M., Uchimura T. ve Okada S.** (1992). Experimental manual of lactic acid bacteria. Tokyo, Japan: *Asakurasyoten*; pp. 34–37
- Leclerc, V., Tassan, J. P., O’Farrell, P. H., Nigg, E. A. ve Leopold, P.** (1996). Drosophila Cdk8, a kinase partner of cyclin C that interacts with the large subunit of RNA polymerase II. *Molecular Biology of the Cell*, 7(4), 505–513.
- Lim, S. M. ve Im, D. S.** (2009). Screening and characterization of probiotic lactic acid bacteria isolated from Korean fermented foods. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19(2), 178–186.
- Lindgren, S.** (2002). Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS Microbiology Letters*, 87(1–2), 149–163.
- Liu, B.** (2003). *Lactobacillus pantheris* sp. nov., isolated from faeces of a jaguar. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(5), 1745–1748.
- Makarova K, Slesarev A, Wolf Y, Sorokin A, Mirkin B ve ark.** (2006) Comparative genomics of the lactic acid bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103: 15611–15616.
- Markowiak, P. ve Ślizewska, K.** (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, 9(9), 1021
- Mathara, J. M., Schillinger, U., Kutima, P. M., Mbugua, S. K. ve Holzapfel, W. H.** (2004). Isolation, identification and characterisation of the dominant microorganisms of kule naoto: The Maasai traditional fermented milk in Kenya. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 269–278.
- Matuschek, E., Brown, D. F. J. ve Kahlmeter, G.** (2014). Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(4), O255–O266.
- Metchnikoff, I. I.** (2004). (1907). The prolongation of life: Optimistic studies (reprinted edition 1907). New York, NY, USA: Springer.
- Michalak, M., Gustaw, K., Waśko, A. ve Polak-Berecka, M.** (2018). Composition of lactic acid bacteria during spontaneous curly kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*) fermentation. *Microbiological Research*, 206, 121–130.
- Min, M., Bunt, C. R., Mason, S. L. ve Hussain, M. A.** (2018). Non-dairy probiotic food products: An emerging group of functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 0(0), 1–16.
- O’Connor, C., Fitzgibbon, M., Powell, J., Barron, D., O’Mahony, J., Power, L., Dunne, C.** (2014). A commentary on the role of molecular technology and automation in clinical diagnostics. *Bioengineered*, 5(3), 37–41.

- Orla-Jensen, S.** (1919). The Lactic acid bacteria. Andr. Fred. Host and Son, Copenhagen.
- Ouwehand, A. C., Salminen, S. ve Isolauri, E.** (2002). Probiotics: an overview of beneficial effects. Antonie van Leeuwenhoek, *International Journal of General and Molecular Microbiology*, 82(1–4), 279–289.
- Özçelik, Ö. A. ve Özdoğan, Y.** (2008). Tarhananın Türk beslenme kültüründeki yeri ve önemi. 38. *ICANAS Uluslararası Asya ve Kuzey Afrika Çalışmaları Kongresi*, 1025–1040.
- Özdemir, S., Gocmen, D. ve Kumral, A. Y.** (2007). A traditional Turkish fermented cereal food: Tarhana. *Food Reviews International*, 23(2), 107–121.
- Özel, S.** (2012). Tarhana hamuru fermentasyonunun mikrobiyal taksonomik yapısının ve populasyon dinamiğinin belirlenmesi. *Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Denizli*, 138s.
- Özteber, M.** (2013). Fermente süt ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliklerinin fenotipik ve genotipik yöntemlerle belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Aydın*.
- Pennacchia, C., Ercolini, D., Blaiotta, G., Pepe, O., Mauriello, G. ve Villani, F.** (2004). Selection of Lactobacillus strains from fermented sausages for their potential use as probiotics. *Meat Science*, 67(2), 309–317.
- Prasad, J., Gill, H., Smart, J. ve Gopal, P. K.** (1999). Selection and characterisation of Lactobacillus and Bifidobacterium strains for use as probiotics. *International Dairy Journal*, 8(12), 993–1002.
- Psoni, L., Kotzamanides, C., Andrighetto, C., Lombardi, A., Tzanetakis, N. ve Litopoulou-Tzanetaki, E.** (2006). Genotypic and phenotypic heterogeneity in Enterococcus isolates from Batzos, a raw goat milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 109(1–2), 109–120.
- Quinto, E. J., Jiménez, P., Caro, I., Tejero, J., Mateo, J. ve Gírbés, T.** (2014). Probiotic lactic acid bacteria: a review. *Food and Nutrition Sciences*, 05(18), 1765–1775.
- R. Fuller.** (1989). Probiotics in man and animals. *The Journal of Applied Bacteriology.*, 66 (5): 3, 365–378.
- Ramirez-Chavarin, M. L., Wachter, C., Eslava-Campos, C. A. ve Perez-Chabela, M. L.** (2013). Probiotic potential of thermotolerant lactic acid bacteria strains isolated from cooked meat products. *International Food Research Journal*, 20(2), 991–1000.
- Rolfe, R. D.** (2000). Symposium : Probiotic bacteria : Implications for human health the role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health 1. Department of Microbiology and Immunology, Texas Tech University Health Sciences Center, Lubbock, TX 79430, (February), 396–402.
- Saarela, M.** (2000). Probiotic bacteria: Safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology*, 84(3), 197–215.

- Sarantinopoulos, P., Leroy, F., Leontopoulou, E., Georgalaki, M. D., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E. ve Vuyst, L. De.** (2002). Bacteriocin production by *Enterococcus faecium* FAIR-E 198 in view of its application as adjunct starter in Greek Feta cheese making. *International Journal of Food Microbiology*, 72(1–2), 125–136.
- Schrezenmeir, J., and de Vrese, M.** (2001). Probiotics, prebiotics, and synbiotics – approaching a definition. *Am. J. Clin. Nutr.* 73(2):361S–364S (Suppl. S).
- Seng, P., Drancourt, M., Gouriet, F., La Scola, B., Fournier, P., Rolain, J. M. ve Raoult, D.** (2009). Ongoing Revolution in Bacteriology: Routine Identification of Bacteria by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Clinical Infectious Diseases*, 49(4), 543–551.
- Sengun, I. Y., Nielsen, D. S., Karapinar, M. ve Jakobsen, M.** (2009). Identification of lactic acid bacteria isolated from tarhana, a traditional Turkish fermented food. *International Journal of Food Microbiology*, 135(2), 105–111.
- Şengün, İ.Y.** (2006). Ege Bölgesinin bazı yörelerinde yapılan geleneksel tarhana ve bileşenlerinin bakteri florasının tanımlanması. *Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir*, 18(33), 90–97.
- Servin, A. L. ve Coconnier, M. H.** (2003). Adhesion of probiotic strains to the intestinal mucosa and interaction with pathogens. *Bailliere's Best Practice and Research Clinical Gastroenterology* 17, 741–754
- Settanni, L., Tanguler, H., Moschetti, G., Reale, S., Gargano, V. ve Erten, H.** (2011). Evolution of fermenting microbiota in tarhana produced under controlled technological conditions. *Food Microbiology*, 28(7), 1367–1373.
- Shafiqhi, M., Emami, Z., Shahsanaei, M. ve Khaliliyan, E.** (2012). Antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from table olives against skin pathogens, *World Academy of Science, Engineering and Technology* 61, 930–933.
- Shukla, R. ve Goyal, A.** (2014). Probiotic Potential of *Pediococcus pentosaceus* CRAG3: a new isolate from fermented cucumber. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 6(1), 11–21.
- Şimşek, Ö., Çon, A. H. ve Tulumoğlu, Ş.** (2006). Isolating lactic starter cultures with antimicrobial activity for sourdough processes. *Food Control*, 17(4), 263–270.
- Şimşek, Ö., Özel, S. ve Çon, A. H.** (2012). Ev ve işletme tipi Uşak tarhanası hamurlarında fermantasyon sürecine ait mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerin karşılaştırılması, *Gıda*, 37 (6): 341-348.
- Siyamoglu, B.** (1961). Türk tarhanalarının yapımı ve terkibi üzerine araştırma. *Ege University Faculty of Agriculture publications, No.44, I İzmir*.
- Socol, C. R., Vandenberghe, L. P. de S., Spier, M. R., Medeiros, A. B. P., Yamaguishi, C. T., De Dea Lindner, J., ... Thomaz-Socol, V.** (2010). The potential of probiotics: A review. *Food Technology and Biotechnology*, 48(4), 413–434.
- Soyyigit, H.** (2004). Isparta ve yöresinde üretilen ev yapımı tarhanaların mikrobiyolojik ve teknolojik özellikleri. *Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta*.

- Stanton, R.** (2001). Handbook of Probiotics. *International Journal of Food Science and Technology* (C. 36).
- Stefan D., Elena, B.G., Gabriella I. ve Otles. S.** (2014). Probiotics And Prebiotics In Food- Nutrition and Health Sources- Production and microencapsulation of probiotics Taylor & Francis Group chap. 2/25.
- Tabatabaei-Yazdi, F.** (2012). Identification of lactic acid bacteria isolated from Tarkhineh, a traditional Iranian fermented food, *Scientific Journal of Microbiology*, 1(7), 152-159
- Timmerman, H. M., Koning, C. J. M., Mulder, L., Rombouts, F. M. ve Beynen, A. C.** (2004). Monostrain, multistain and multispecies probiotics, a comparison of functionality and efficacy. *International journal of food microbiology*, 96(3), 219-33.
- Tombuldogal,** (2019). Tombul doğal organik ürünler,
<http://www.tombuldogal.com/organik-tarhanauretimi-nasil-yapilmaktadir.html>. (Erişim: 03.6.2019)
- TSE 2282,** (2004). Tarhana Standardı, *Türk Standartları Enstitüsü, Ankara*
- Vasiljevic, T. ve Shah, N. P.** (2008). Probiotics-From Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, 18(7), 714–728.
- VITEK® MS,** (2019). <https://www.biomerieux.com.tr/urun/vitekr-ms> (Erişim: 13.05.2019)
- Von Wright, A. and Axelsson, L.** (2011) Lactic acid bacteria: an introduction. In: Lahtinen, S., Ouwehand, A.C., Salminen, S. and Von Wright, A., Eds., lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects, *Fourth Edition. CRC Press, Boca Raton*, 1-15.
- Whittenbury, R. (2009).** Hydrogen peroxide formation and catalase activity in the lactic acid bacteria. *Journal of General Microbiology*, 35(1), 13–26.
- Wieser, A., Schneider, L., Jung, J. ve Schubert, S.** (2012). MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics-identification of microorganisms and beyond (mini review). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93(3), 965–974.
- Yadav, R., Puniya, A. K. ve Shukla, P.** (2016). Probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* RYPR1 from an indigenous fermented beverage Raabadi. *Frontiers in Microbiology*, 7(OCT), 1–9.
- Yang, X., Hang, X., Zhang, M., Liu, X. ve Yang, H.** (2015). Relationship between acid tolerance and cell membrane in *Bifidobacterium*, revealed by comparative analysis of acid-resistant derivatives and their parental strains grown in medium with and without Tween 80. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(12), 5227–5236.
- Yavuzdurmaz, H.** (2007). Isolation, characterization, determination of probiotic properties of lactic acid bacteria from human milk, *Thesis Of Master Of Science, School Of Engineering And Sciences Of İzmir Institute Of Technology*
- Yiğit, T.** (2009). Süt ve süt ürünlerinden probiyotik bakterilerden izolasyonu, *Anadolu Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir*.

- Yildirim, Ç. ve Güzeler, N.** (2017). Tarhana cipsi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 1–1.
- Yilmazer, A.N.** (1994). Tarhana üretiminde kullanılabilecek uygun bir laktik asit starter kombinasyonunun geliştirilmesi. *Hacettepe üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi. Ankara.*
- Zacharof, M. P., Lovitt, R. W., Cleveland, J., Montville, T. J., Nes, I. F., Chikindas, M. L., ... Oliveira, R. P. de S.** (2011). Caracterização De Fatores Interferentes Na Produção De Bacteriocinas Por Bactérias Ácido Lácticas Isoladas De Leite Cru E Queijo. *International Journal of Food Microbiology*, 2(1), 90.
- Zehir, D.** (2017). Tarhanadan izole edilen bazı laktik asit bakterileri tarafından üretilen ekzopolisakaritlerin karakterizasyonu, *Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Fen Bilimleri Enstitüsü, 19 Mayıs Üniversitesi.*
- Zoral, S.** (2013). İnsan kaynaklı *Lactobacillus* spp. suşlarının probiyotik özelliklerinin belirlenmesi, *Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ahi Evran Üniversitesi.*
- Zuppa, A. A., Alighieri, G., Scorrano, A. ve Catenazzi, P.** (2015). Prebiotics and Probiotics in Infant Nutrition. Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics: *Bioactive Foods in Health Promotion*, 101–134.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

- İsim / Soyisim : **KUDRET ATEŞ**
- Doğum Yeri : Sivas
- Doğum Tarihi : 01.01.1980
- Uyruğu : T.C.
- Medeni Durumu : Bekâr
- Askerlik Durumu: : Tamamlandı
- Ehliyet : B Sınıfı
- Telefon No : 0542 396 54 14
- E-Mail : kudretates@hotmail.com
- Ev Adresi : Fetihtepe mah. Özgül sok. No:33/1
34445, Beyoğlu, İSTANBUL



Öğrenim Durumu

- 1995, İstanbul Kasımpaşa Lisesi
- 2002, Bolu, Abant İzzet Baysal Üniv. KİMYA(İngilizce) Bölümü
- 2014- Devam, İstanbul Aydın Üniv Gıda Müh. Tezli Yüksek Lisans Programı

İş Tecrübeleri

- 2002 - 2003, İngilizce Öğretmenliği, Tülin Manço İlköğretim Okulu, İstanbul
- 2004, Laboratuar Analisti- Mefar İlaç Sanayi A.Ş, İstanbul
- 2004 - 2008, Folyoterm Ambalaj, Kalite ve Üretim Müdürü
- 2008 - 2010, Turan Ambalaj Plastik Ltd- Matbaa Üretim/ Kalite Müdürü
- 2010 Eylül - 2011 Şubat, Cömertler Matbaa, Kalite Güvence Müdürü
- 2011 Mart- 2011 Ağustos, Betebe Mozaik, İş Güvenliği Uzmanı

- 2011 Eylül - Devam, İst. Amerikan Robert Lisesi, Fen Laboratuvar Asistanı

Yabancı Dil ve Düzeyi

- İngilizce – Advanced

Bilgisayar Becerileri

- MS Word, Excel, Powerpoint

Kurs, Proje ve Sertifikalar

- 2001, İngilizce Öğretmenliği Sertifikası, A.İ.B.Ünv. Eğitim Bilimleri Fak, Bolu
- 2002, Abant İzzet Baysal Ünv. Kimya Bitirme Projesi- Havaya Karşı Hassas Organometalik Bileşiklerin Sentezi Ve Spektroskopik Yapı İncelenmesi (IR, NMR)
- 2004, ISO 9001 Kalite Eğitimi, HACCP Eğitimi, Kalite Teknik Danışmanlık
- 2005, ISO 9001 Kalite ve İş Güvenliği Eğitimleri, Kimya Müh. Odası
- 2010, ISO 14001 Çevre Yönetim Sistemi ve İç Denetim, Çevre Müh. Odası
- 2010, C sınıfı, İş Güvenliği Uzmanlığı Sertifikası, Çalışma ve Sos. Güv. Bk.
- 2014, A sınıfı, İş Güvenliği Uzmanlığı Sertifikası, Çalışma ve Sos. Güv. Bk.
- 2014, Fen Laboratuvar Asistan Eğitimi, Londra, İngiltere
- 2016, Conference of Caretakers of the Enviorenment International, Denmark
- 2016, Think Pink Kişisel Gelişim Semineri, Masters Int.
- 2016, Tiyatro Eğitimi- Kadıköy Halk eğitim Merkezi
- 2017, Ates K. ve Zengin H., Oral Presentation - Characterization Of Lactic Acid Bacteria From Tarhana A Traditional Turkish Fermented Food 4. International Conference On Microbial Diversity, Bari, İtalya
- 2017, Dogan, M., Ates K. Investigation of Probiotic Features of Bacteria Isolated from Some Food Products.4.International Conference On Microbial Diversity 2017, Bari, Italy.
- 2018, İlk Yardım Belgesi, İl Sağlık Müdürlüğü
- 2019, Doğayla Tasarım Kursu, Belentepe Permakültür Çiftliği, Bursa
- 2019, Çalışma Ortamında Şiddesiz İletişim Semineri, İstanbul

Hobiler

- Atletizm, Permakültür, Tiyatro