

**SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN EKZOPOLİSAKKARİT ÜRETİM
YETENEKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Selma PEKTAŞ
Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı
Temmuz-2014

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Selma Pektaş'ın "Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen Laktik asit Bakterilerinin (LAB) Ekzopolisakkarit (EPS) Üretim Yeteneklerinin Araştırılması " başlıklı Genel Biyoloji Anabilim Dalındaki, Yüksek Lisans Tezi2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı) :	Prof. Dr. Merih KIVANÇ
Üye :	Doç. Dr. Meral CANKILIÇ
Üye :	Yard. Doç. Dr. Buket KUNDUHOĞLU

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü



ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN EKZOPOLİSAKKARİT ÜRETİM YETENEKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Selma PEKTAŞ

Anadolu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Merih KIVANÇ

2014, 187 sayfa

Laktik asit bakterileri (LAB); gram-pozitif, fakültatif anaerob, katalaz negatif, hareketsiz, sitokromdan yoksun ve spor oluşturmeyen bakterilerdir. Planlanan çalışmada süt ve süt ürünlerinden izole edilen 163 LAB' sinin ekzopolisakkarit üretme yetenekleri taranarak seçilen izolatlarda optimum EPS üretimi için kültür koşulları belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmamızda izolatların antimikrobiyal aktivitesi Sandvic Overlay Yöntemi ile incelenerek biyokimyasal testlerle özellikleri belirlenmiş ve seçilen izolatlar riboprinter ile tanımlanmıştır. İzolatların antimikrobiyal aktivitelerinin yüksek olduğu bulunmuştur. İzolatların EPS üretimleri mikrotitre plaka yöntemi ve kongo kırmızılı ortamda belirlenmiştir. Son olarak izolatların optimum EPS üretim değerleri optimum azot, karbon kaynakları ve sıcaklıkta cevap-yüzey metodu ile belirlenmiştir. İzolatların EPS değerleri 46,65 mg/L – 53,17 mg/L arasında bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Laktik asit bakterileri, ekzopolisakkarit, biofilm

ABSTRACT

MASTER OF SCIENCE THESIS

MILK AND MILK PRODUCTS ISOLATED FROM LACTIC ACID BACTERIA EKZOPOLISAKKARIT IN THE INVESTIGATION OF PRODUCTION CAPABILITIES

Selma PEKTAŞ

Anadolu University
Graduate School of Sciences
Biology Program

Supervisor: Prof. Dr. Merih KIVANÇ

2014, 187 pages

Lactic acid bacteria (LAB) are gram-positive, facultative anaerobic, catalase-negative, motile, non- cytochrome and non-spore forming bacteria. In this study, 163 strains of LAB were isolated from dairy products and their of the exopolysaccharides capabilities have been investigated and determined culture conditions for EPS production. In our study, the antimicrobial activity of the isolates was examined by a Sandwich Overlay Method and their properties were determined by biochemical tests and selected isolates were identified by RiboPrint. Isolates were found to have high antimicrobial activity. EPS production method of isolates was determined with microtiter plates and including congo red medium. Finally, optimum EPS production values of the isolates were found by response-surface method at optimum temperature, optimum nitrogen and carbon amounts. EPS values of the isolates were found as 46.65 mg / L - 53.17 mg / L.

Key words: Lactic acid bacteria, exopolysaccharides, biofilm

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleşmesi sırasında bilgi, deneyim ve güler yüzünü benden esirgemeyen; çalışmamı yakından takip edip, tecrübeleri ile yol gösteren hocam Prof. Dr. Merih Kıvanç'a, laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımcı olan Uzman Erdoğan Çakır'a, istatistiksel analizlerde yardımcı olan Doç. Dr. Berrin Bozan'a ve aynı çalışma ortamını paylaştığım tüm arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca beni yetiştiren, her zaman, her koşulda maddi ve manevi yönden beni destekleyen, bana güç veren aileme ve daima yanımda olan, bana moral veren kardeşime sonsuz teşekkür ederim.

Selma PEKTAŞ

Temmuz – 2014

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi

1.GİRİŞ	1
1.1. Laktik Asit Bakterileri ve Genel Özellikleri.....	2
1.2.Laktik Asit Bakterilerinin Gıdalarda Kullanımı	4
1.3.Laktik Asit Bakterilerinin Sağlık Alanında Kullanımı	7
1.4.Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Metabolik Ürünler	8
1.5.Ekstraselüler Polisakkarit (EPS) Üretimi	11
1.6. Ekstraselüler Polisakkaritin (EPS) Bileşimi ve Yapısı	16
1.7. Ekstraselüler Polisakkaritin (EPS) Biyosentezi	19
1.8. Ekstraselüler Polisakkaritin (EPS) Gıda Endüstrisinde Kullanımı.....	23
1.8.1.Yoğurt üretimindeki fonksiyonları	25
1.8.2.Kefir üretimindeki fonksiyonları	27
1.8.3.Peynir üretimindeki fonksiyonları	28
1.8.4.Et üretimindeki fonksiyonları	29
1.8.5.Diğer ürünlerde fonksiyonları	29
1.9. EPS'nin Sağlık Alanında Uygulamaları	31
1.10. Kolon Sağlığı İçin Polisakkaritler	34
2. MATERYAL VE METOD	36
2.1. MATERYAL	36
2.1.1. Süt ve süt ürünü örneklerinden izole edilen örneklerin temini ve laboratuvara getirilmesi	36
2.1.2. Test mikroorganizmaları	36



2.1.3. Besi ortamları	37
2.1.3.1. Beyin kalp infusion (BHI) yumuşak agar	37
2.1.3.2. Beyin kalp infusion (BHI) yumuşakagar %1 sükröz ve %10 Konsantre kongo kırmızısı	37
2.1.3.3. Mueller hinton agar	37
2.1.3.4. MRS agar	38
2.1.3.5. MRS agar % 6,0 tuz ilaveli	38
2.1.3.6. MRS agar %7,5 tuz ilaveli	38
2.1.3.7. MRS agar %10 tuz ilaveli	39
2.1.3.8. MRS agar laktoz ilaveli	39
2.1.3.9. MRS agar fruktoz ilaveli	39
2.1.3.10. MRS agar sükröz ilaveli	39
2.1.3.11. MRS Broth	39
2.1.3.12. Patates dekstroz agar	40
2.1.3.13. Nutrient broth	40
2.1.3.14. Nutrient agar	40
2.1.3.15. Arjinin dihidrolaz broth	41
2.1.3.16. Tryptone soya yeast extract agar	41
2.1.3.17. Malt extract agar	41
2.1.3.18. M-MRS broth	42
2.1.3.19. M-MRS broth % 0,5 tuz ilaveli	42
2.1.3.20. M-MRS broth % 1 tuz ilaveli	42
2.1.3.21. M-MRS broth % 2 tuz ilaveli	42
2.1.3.22. M-MRS broth % 3 tuz ilaveli	43
2.1.3.23. M-MRS broth % 4 tuz ilaveli	43
2.1.3.24. M-MRS broth % 2 pepton ve %10 glikoz ilaveli	43
2.1.3.25. M-MRS broth % 2 pepton ve %10 laktoz ilaveli	43
2.1.3.26. M-MRS broth %2 et ekstraktı ve %10 glikoz ilaveli	43
2.1.3.27. M-MRS broth % 2 et ekstraktı ve	

2.2.3.6. Glikozdan gaz oluşumu	52
2.2.3.7. Arjininden NH ₃ oluşumu	52
2.2.3.8. İzolatların riboprinter sistem ile tanımlanması	53
2.2.3.9. İzolatların viskozitelerinin ölçülmesi	54
2.2.4. İzolatların stoklanması	54
2.2.5. Ekstraselüler polisakkarit (EPS) üretimi.....	55
2.2.5.1. Laktik asit bakterilerinin ekzopolisakkarit üretiminin belirlenmesi	55
2.2.5.1.1.Mikrotitre plaka yöntemi ile ekzopolisakkarit üretiminin belirlenmesi.....	55
2.2.5.1.2.Kongo kırmızılı ortamda ekzopolisakkarit üretiminin belirlenmesi.....	56
2.2.5.2.Ekstraselüler polisakkarit üretimine karbon kaynaklarının etkisi	56
2.2.5.3. Ekstraselüler polisakkarit üretimine azot kaynaklarının etkisi	57
2.2.6. Ekstraselüler polisakkarit (EPS) izolasyonu	58
2.2.6.1. Fenol –sülfirik asit yöntemi	58
2.2.7. Cevap - yüzey metodu ile EPS üretimi	59
2.2.7.1. Deneysel modelin validasyonu	61

3. BULGULAR 62

3.1. Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Canlandırılması	62
3.2. İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Tespitinin Sonuçları	62
3.3. Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin İdentifikasyon Test Sonuçları	69
3.4. Laktik Asit Bakteri İzolatlarının Riboprinter Sistem İle Tanımlanması	84
3.5. Laktik Asit Bakteri İzolatlarının Ekzopolisakkarit	



Üretiminin Belirlenmesi	90
3.6. Laktik Asit Bakterilerinin Ekstraselüler Polisakkarit Üretimine Karbon ve Azot Kaynaklarının Etkisi	95
3.7. Cevap-Yüzey Metodu İle EPS Üretiminin Optimizasyonu	116
3.7.1. Deneysel modelin validasyonu	146
4. TARTISMA VE SONUÇ	149
KAYNAKLAR	161

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Fermente süt ürünlerinden <i>Lactococcus lactis subsp. cremonis</i> suşu tarafından EPS üretimi	14
Şekil 1.2.	<i>Lactobacillus sp.</i> tarafından üretilen homopolisakkaritlerin sınıflandırılması	17
Şekil 1.3.	<i>Lactobacillus sp.</i> tarafından üretilen heteropolisakkaritlerin sınıflandırılması	18
Şekil 1.4.	Laktoz, galaktoz ve glikozun EPS' ye dönüşümü ve LAB' lerin de glikolizin genel şeması	20
Şekil 1.5.	Heteropolisakkarit biyosentezi	22
Şekil 2.1.	EPS miktarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik	60
Şekil 3.1.	Peynir örneklerine ait riboprinter sisteminden elde edilen bant profilleri ile iki türe ait standart bant profilleri	85
Şekil 3.2.	Süt örneklerine ait riboprinter sisteminden elde edilen bant profilleri ile dört türe ait standart bant profilleri	84
Şekil 3.3.	G36 (<i>Enterococcus faecium</i>), izolatının ışık mikroskobunda görüntüsü.....	86
Şekil 3.4.	G37 (<i>Enterococcus faecium</i>), izolatının ışık mikroskobunda görüntüsü.....	87
Şekil 3.5.	G38 (<i>Enterococcus faecium</i>), izolatının ışık mikroskobunda görüntüsü.....	87
Şekil 3.6.	M78 (<i>Enterococcus faecium</i>), izolatının ışık mikroskobunda görüntüsü.....	87
Şekil 3.7.	M96.2 (<i>Enterococcus faecium</i>), izolatının ışık mikroskobunda görüntüsü.....	88
Şekil 3.8.	B31 (<i>Pediococcus acidilactici</i>), izolatının ışık mikroskobunda görüntüsü	88
Şekil 3.9.	B26 (<i>Lactobacillus reuteri</i>), izolatının ışık mikroskobunda görüntüsü	88
Şekil 3.10.	E60 (<i>Lactobacillus reuteri</i>), izolatının ışık mikroskobunda görüntüsü	89



Şekil 3.11.	M80 (<i>Lactobacillus reuteri</i>), izolatının ışık mikroskopunda görüntüsü	89
Şekil 3.12.	109.1 (<i>Lactobacillus farciminis</i>), izolatının ışık mikroskopunda görüntüsü	89
Şekil 3.13.	CRA metoduna göre LAB gelişimleri	90
Şekil 3.14.	<i>L.reuteri</i> -E60 izolatının Cevap Yüzey (Response Surface) Grafiği	118
Şekil 3.15.	<i>E.faecium</i> -M96.2 izolatının Cevap Yüzey (Response Surface) Grafiği	121
Şekil 3.16.	<i>E.faecium</i> -G37 izolatının Cevap Yüzey (Response Surface) Grafiği	124
Şekil 3.17.	<i>L.farciminis</i> -109.1 izolatının Cevap Yüzey (Response Surface) Grafiği	127
Şekil 3.18.	<i>L.reuteri</i> -M80 izolatının Cevap Yüzey (Response Surface) Grafiği	130
Şekil 3.19.	<i>E.faecium</i> -G36 izolatının Cevap Yüzey (Response Surface) Grafiği	133
Şekil 3.20.	<i>L.reuteri</i> -B26 izolatının Cevap Yüzey (Response Surface) Grafiği	136
Şekil 3.21.	<i>P.acidilactici</i> -B31 izolatının Cevap Yüzey (Response Surface) Grafiği	139
Şekil 3.22.	<i>E.faecium</i> -G38 izolatının Cevap Yüzey (Response Surface) Grafiği	142
Şekil 3.23.	<i>E.faecium</i> -M78 izolatının Cevap Yüzey (Response Surface) Grafiği	145

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1.	Bakteriyel EPS'nin Bileşenleri, Özellikleri ve Uygulamaları	14
Çizelge 1.2.	Ekzopolisakkarit Üretme Yeteneğine Sahip LAB	15
Çizelge 1.3.	Gıdada Kullanılan Ekzopolisakkaritlerin Özellikleri	24
Çizelge 1.4.	EPS üreten LAB'leri, Bifidobakteri ve Propionibakteri İçeren Bazı Süt Ürünleri	25
Çizelge 1.5.	LAB ve Bifidobakteriler Tarafından Üretilen EPS'nin İmmunomodulatör Etkisini Raporlama Çalışmaları	32
Çizelge 2.1.	Antimikrobiyal Aktivitelerde Kullanılan Test Mikroorganizmaları	36
Çizelge 2.2.	Şeker Standartlarının Hazırlanması	59
Çizelge 2.3.	Üç Bağımsız Değişkenin CYY' de Kullanılan Farklı Değerleri ..	60
Çizelge 2.4.	Cevap – Yüzey Metodu Deney Koşulları	60
Çizelge 3.1.	Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	64
Çizelge 3.2.	Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin İdentifikasyon Test Sonuçları.....	70
Çizelge 3.3.	EPS Üretimi İçin Seçilen İzolatların Viskoziteleri	76
Çizelge 3.4.	Laktik Asit Bakteri İzolatlarının Riboprinter Sistem İle Tanımlanması	86
Çizelge 3.5.	Laktik Asit Bakteri İzolatlarının EPS Üretim Aktivitesinin Belirlenmesi	91
Çizelge 3.6.	<i>L.reuteri</i> -E60 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi	96
Çizelge 3.7.	<i>L. reuteri</i> -B26 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi	98
Çizelge 3.8.	<i>L. reuteri</i> -M80 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi	100
Çizelge 3.9 .	<i>E. faecium</i> -M96.2 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi	102
Çizelge 3.10 .	<i>E. faecium</i> -G37 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı	



Belirlenmesi	104
Çizelge 3.11 . <i>E. faecium</i> -G36 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı	
Belirlenmesi	106
Çizelge 3.12. <i>E. faecium</i> -G38 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı	
Belirlenmesi	108
Çizelge 3.13. <i>E. faecium</i> -M78 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı	
Belirlenmesi	110
Çizelge 3.14. <i>L. farciminis</i> -109.1 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı	
Belirlenmesi	112
Çizelge 3.15. <i>P. acidilactici</i> -B31 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı	
Belirlenmesi	114
Çizelge 3.16. Et-Glikoz Besi Yeri İle <i>L.reuteri</i> -E60 Bakterisinin	
Optimizasyon Sonuçları	117
Çizelge 3.16.1. <i>L.reuteri</i> -E60 İzolatının EPS Üretimi Optimizasyonunun	
Varyans (Anova) Analizi	119
Çizelge 3.17. Maya-Laktoz Besi Yeri İle <i>E.faecium</i> -M96.2 Bakterisinin	
Optimizasyon Sonuçları	120
Çizelge 3.17.1. <i>E.faecium</i> -M96.2 İzolatının EPS Üretimi Optimizasyonunun	
Varyans (Anova) Analizi	122
Çizelge 3.18. Maya-Laktoz Besi Yeri İle <i>E.faecium</i> -G37 Bakterisinin	
Optimizasyon Sonuçları	123
Çizelge 3.18.1. <i>E.faecium</i> -G37 İzolatının EPS Üretimi Optimizasyonunun	
Varyans (Anova) Analizi	125
Çizelge 3.19. Et-Glikoz Besi Yeri İle <i>L.farciminis</i> -109.1bakterisinin	
Optimizasyon Sonuçları.....	126
Çizelge 3.19.1. <i>L.farciminis</i> -109.1 İzolatının EPS Üretimi Optimizasyonunun	
Varyans (Anova) Analizi	128
Çizelge 3.20. Et-Laktoz Besi Yeri İle <i>L.reuteri</i> -M80 Bakterisinin	
Optimizasyon Sonuçları.....	129
Çizelge 3.20.1. <i>L.reuteri</i> -M80 İzolatının EPS Üretimi Optimizasyonunun	
Varyans (Anova) Analizi	131

Çizelge 3.21. Pepton-Laktoz Besi Yeri İle <i>E.faecium</i> -G36 Bakterisinin Optimizasyon Sonuçları	132
Çizelge 3.21.1. <i>E.faecium</i> -G36 İzolatının EPS Üretimi Optimizasyonunun Varyans (Anova) Analizi	134
Çizelge 3.22. Et-Laktoz Besi Yeri İle <i>L.reuteri</i> -B26 Bakterisinin Optimizasyon Sonuçları	135
Çizelge 3.22.1. <i>L.reuteri</i> -B26 İzolatının EPS Üretimi Optimizasyonunun Varyans (Anova) Analizi	137
Çizelge 3.23. Pepton-Glikoz Besi Yeri İle <i>P.acidilactici</i> -B31 Bakterisinin Optimizasyon Sonuçları	138
Çizelge 3.23.1. <i>P.acidilactici</i> -B31 İzolatının EPS Üretimi Optimizasyonunun Varyans (ANOVA) Analizi	140
Çizelge 3.24. Maya-Laktoz Besi Yeri İle <i>E.faecium</i> -G38 Bakterisinin Optimizasyon Sonuçları	141
Çizelge 3.24.1. <i>E.faecium</i> -G38 İzolatının EPS Üretimi Optimizasyonunun Varyans (ANOVA) Analizi	143
Çizelge 3.25. Maya-Laktoz Besi Yeri İle <i>E.faecium</i> -M78 Bakterisinin Optimizasyon Sonuçları	144
Çizelge 3.25.1. <i>E.faecium</i> -M78 İzolatının EPS Üretimi Optimizasyonunun Varyans (ANOVA) Analizi	146
Çizelge 3.26. Çalışmada Kullanılan İzolatların Cevap-Yüzey Yöntemi ve Validasyon Deneyi İle EPS Üretim Değerleri	147

1. GİRİŞ

Laktik asit bakterileri (LAB) ilk kez 19. yüzyıl sonlarında sütte fermantasyona ve koagülasyona yol açan bakteriler olarak isimlendirilmiş ve daha sonraki yıllarda *Lactobacillaceae* familyası içinde sınıflandırılmışlardır. Tüm üyeler; gram-pozitif, fakültatif anaerob, katalaz negatif, hareketsiz, sitokromdan yoksun ve spor oluşturmeyen bakterilerdir (Hofvendahl ve ark., 2000). LAB'leri, tabiatta yaygın oluşları, çeşitli gıda maddelerinde sıkça rastlanılan bozulmalara neden olmaları ve bazı gıdaların üretim ve olgunlaştırılmasında önemli rol oynamaları nedeni ile gıda teknolojisinde büyük önem taşımaktadırlar. LAB'leri organik asit, hidrojen peroksit, formik asit, probiyonik asit, diasetil, asetoin, reuterin, antifungal peptitler, bakteriyosinler ve ekzopolisakkarit (EPS) gibi çok çeşitli antimikrobiyal bileşikler üretebilmektedirler (Brull ve ark., 1999). Bu bağlamda ürettikleri antimikrobiyal bileşikler ve fermantasyonda kullanılabilir özellikleri ile LAB'lerine karşı olan ilgi de artmıştır. Günümüzde özellikle fermantasyonda starter kültür olarak LAB'lerinin kullanılması, LAB'lerinin ürettikleri bakteriyosinlerin eldesi ve tanımlanması pek çok araştırmacının çalışmalarına konu olmuştur. Özellikle son 20 yıl içerisinde LAB'lerinin antimikrobiyal aktiviteleri geniş çapta araştırılmıştır (Zhu ve ark., 2000; Kurt ve ark., 2005).

Süt endüstrisinde kullanılan starter kültürlerin büyük çoğunluğunu LAB'leri oluşturmaktadır. LAB'leri süt, et ve sebze gibi çeşitli ürünlerin besin değerlerini, duysal özelliklerini ve korunmasını arttırmak için dünya çapında kullanılmaktadır. Bakterilerin gelişmesi sırasında laktozun fermentasyonu sütün asitleşmesine neden olmakta ve böylece bu koruma bozucu mikroorganizmaların ve patojenlerin çoğalmasına karşı sütü korumaktadır. Asidifikasyonun diğer bir etkisi ise koagülasyon ile sonuçlanan, süt proteinleri üzerindeki negatif yüklerin nötrleştirilmesidir. Bu bakterilerin bir kısmı süt yağı ve proteinleri parçalayarak çeşitli maddelerin oluşmasına ve böylece ürünün kendine has tat, aroma, görünüş ve yapısının meydana gelmesine yardım etmektedir (Yaygın ve Kılıç, 1993). LAB'leri de diğer birçok bakteri gibi polisakkaritlerinin hücredeki konumlarına göre sınıflandırılmıştır. Hücre duvarının dışında bulunanlarına EPS ismi

verilmektedir. Bunların yapışkan bir tabaka oluşturanlarına ise kapsüller polisakkaritler olarak adlandırılmaktadır (Cerning, 1994) ve içinde bulunduğu ortama salgılananlara ise mukoz EPS denilmiştir (Petersen ve ark., 2000). Bakteriyel EPS' ler, üretici mikroorganizma tarafından enerji kaynağı olarak kullanılmazlar. Muhtemelen doğal ortamda protozoa ve faj ataklarına, antibiyotikler veya toksik bileşiklere ve ozmotik stres tarafından kurumaya, fagositoz ve predasyona karşı koruyucu bir işlevi vardır. Günümüzde fermente süt ürünlerinin yapımında asitlik, aroma oluşumu, proteolitik aktivite ve probiotik özelliklerinin yanında EPS üreten LAB' lerinin kullanımına büyük önem verilmektedir. EPS' ler mikroorganizmalar tarafından katabolize edilemedikleri için enerji kaynağı olarak kullanılamazlar. Bunlar, buldukları ortamda koruyuculuk görevi yapmaktadırlar. Hücrenin yüzeye tutunmasına ve koloni oluşturmaya yardımcı olmakta, mikroorganizmayı veya ortamı kurumaya karşı korumaktadır (Ruas-Madiedo ve ark., 2002a). Gıda endüstrisinde LAB' leri tarafından üretilen EPS' lerin ilgi çekmesi fermente ürünlerin yapısını geliştiren rheological özelliklerinden (örneğin yoğurtlarda yapı gelişimini sağlama, peynirlerde pıhtılaşma riskini azaltma) ve genel olarak güvenli bulunmalarından (GRAS) kaynaklanmaktadır.

LAB' lerinin gıda sektöründeki önemi, bu bakterilerin süt ve süt ürünlerinde doğal koşullarda yaygın olarak bulunması ve antimikrobiyal özellik göstermesi, süt ürünlerinden izole edilen laktik bakterilerinin EPS üretme potansiyellerinin yüksek olması gibi sebepler göz önüne alınarak mevcut çalışmada süt ve süt ürünlerinden izole edilen LAB' lerinin EPS üretim yetenekleri taranarak, yüksek oranda EPS üreten LAB' nin tanımlanmasının yapılması ve yüksek EPS üretiminde etkili azot ve karbon kaynağının belirlenerek bunların miktarları açısından cevap-yüzey yöntemi ile optimizasyonunun yapılması hedeflenmiştir.

1.1. Laktik Asit Bakterileri ve Genel Özellikleri

LAB; oldukça fazla soy ve türe sahip çubuk, kok ve kokobasil şekilde, Gram(+), hareketsiz, spor oluşturmayan, sitokroma sahip olmayan, katalaz (-), mikroaerofilik veya anaerobik, aside dayanıklı, kuvvetli fermantatif olup,

nitratları indirgemeyen, büyüme ve gelişimleri için glikoz ve amonyum yanında bazı vitamin ve aminoasitlere ihtiyaç duyan bakterilerdir (Holzapfel ve ark., 2007). Gram pozitif basil ve koklardan oluşan LAB' leri Firmicutes filumuna ait çeşitli bakteri cinslerinden oluşmaktadır. Bu grubun önemli cinsleri arasında *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Melissococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weisella* yer almaktadır. LAB' lerinin "hem" grupları (sitokrom ve katalaz) yoktur. "Hem" gruplarının eksikliğine karşın havanın oksijeninde gelişip üreyebilirler. Yani katalaz enzimleri olmadan aerob koşullarda gelişebilen nadir bakteriler arasında LAB' leri de bulunur. Genel olarak LAB' leri, süt ve süt ürünlerinde, bitkilerde ve bitki artıklarında, insan ve hayvan bağırsak mukozalarında bulunabilirler. LAB' leri, glikozu homofermentatif ve heterofermentatif olmak üzere 2 şekilde katabolize ederler. Homofermentatif LAB' leri glukozu, Fruktoz Di Fosfat (FDP) yolu ile parçalayarak fermantasyon sonucu %95-100 oranında laktik asit üretirler. Bunun yanında az miktarda besi yerinin özelliğine göre formik asit, asetik asit ve etanol oluştururlar. Heterofermentatif LAB' leri ise, glukozu Hezoz Mono Fosfat (HMF) yolu ile parçalayarak fermantasyon sonucu %50 laktik asit üretirken, bunun yanı sıra yüksek oranda etanol, asetik asit, gliserol, mannitol ve fruktoz oluştururlar (Yetişmeyen, 1995; Halkman, 1991; Drinan ve ark., 1976; Prescott ve ark., 1987). LAB' lerinin oluşturduğu antimikrobiyal etmen ve özellikleri, pH'nın ve peptid olmayan inhibitörlerin oluşumu, antibakteriyel etkiye sahip hidrojen peroksit (H_2O_2) ile asetik, ketoglutarik, melonik asit gibi organik asitleri içeren diğer bileşiklerin oluşumu ve bakteriyosinlerden kaynaklanmaktadır (Kılıç, 2001). LAB' lerinin bu özelliklerinden dolayı geleneksel gıdalarda ve gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaları sonucunda; ürünün muhafazası, duyuusal özellikleri ve besin değerlerinde gelişmeler meydana gelebilmektedir.

LAB suşları arasındaki ayrımı sağlayabilmek için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden fenotipik olanları; gen ekspresyonunun ürünü karakterize eden (gözlemlenebilir karakterleri) ve genus-tür düzeyinde tanımlamaya olanak sağlayan geleneksel fenotipik yöntemler morfolojik, fizyolojik, metabolik, biyokimyasal özellikler ve kemotaksonomik markörler

(hücre sel yağ asitleri, mikolik asit, polar lipitler, quininler, poliaminler, hücre duvarı bileşikleri, EPS' ler) ile beraber faj tiplendirmeleri, hücre yüzeyindeki antijenler, antimikrobiyel duyarlılık profilleri ve toplam hücre ya da hücre duvarı proteinlerinin elektroforetik patternleri (1D ya da 2D) yer almaktadır. Farklı pH, sıcaklık ve tuz konsantrasyonunda gelişme, gaz üretimi gibi bazı basit fizyolojik testler genus tanımlamasında kullanılmaktadır (Khaled, 1997; Falsen, 1999). Genotipik tanılama yöntemleri fenotipik olanlara göre daha kesin sonuçlar vermektedir. Kullanılan genotipik yöntemler; ribotiplendirme, faj tiplendirme, seroloji, micro array, DNA-DNA hibridizasyonu, yağ asidi analizleri, polimeraz zincir tepkimesi (PCR) ve çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi (AFLP) analizleridir (Dijkshoorn, 2000; Ehrmann ve ark., 2005).

1.2.Laktik Asit Bakterilerinin Gıdalarda Kullanımı

Gıda sektöründe, kolay ve seri üretime uygun yöntemler yardımı ile besinsel değeri yüksek, güvenilir ve raf ömrü uzun olan ürünlerin eldesi esas teşkil etmektedir. Ancak tüketicilerin doğal ya da geleneksel yöntemler ile üretilen, kimyasal katkı maddesi içermeyen, sağlık üzerinde olumlu etkileri olan gıdaları tercih etmesi nedeni ile üretimde doğal olmayan koruyuculardan uzaklaşmaktadır. Günümüzde gıda güvenliğinin uluslararası boyutta önem kazanmasıyla birlikte, sisteme en uygun doğal gıda koruyucularının belirlenmesi ve sektörde yer edinmesine dair çalışmalar hız kazanmıştır. Konuya bu açıdan yaklaşıldığında LAB' lerinin organik asit, diasetil, asetoin, hidrojen peroksit, reuterin, antifungal peptitler ve bakteriyosinler (=bakteriyel antimikrobiyel peptitler) gibi çok çeşitli antimikrobiyal bileşikleri üretebilme kapasitesine sahip oldukları ve özellikle bu nedenle son 15 yıldır doğal gıda koruyucusu olarak kullanımlarının yaygınlaştığı görülmektedir (Dinçer ve ark., 2010). Ayrıca LAB' lerinin insan organizması tarafından kullanılması mümkün olmayan ve toksik etkisi bulunabilen bileşenleri daha küçük moleküllu, sindirilebilen ya da toksik etkisi olmayan moleküllere parçalayabilme özelliği de gıdalarda kullanımları için bir avantaj sağlamaktadır (Visser ve ark., 1986; Arıcı, 2005).

LAB' lar yüzlerce yıldır fermentasyon işlemlerinde yeni besinlerin üretimi

ve bozulabilir gıda ürünlerini korumak için sıklıkla kullanılmaktadır. Fermente besinlerin ana tipleri LAB' lar tarafından gerçekleştirilen laktik asit fermentasyonu sonucu oluşturulmaktadır.

Fermentasyon işleminden sonra karakteristik aroma ve tatlara sahip besinler meydana gelmekte, ham materyallerin raf ömrü uzatılmış olmakta ve patojenik veya gıdalarda bozulmalara sebep olan organizmaların gelişmesi önlenmektedir. Sonuç olarak gıda endüstrisinde, LAB' ların gelişimi ile birlikte oluşan asidifikasyon ve enzimatik işlemler çeşitli fermente gıdaların tat, koku, tekstür özelliklerine etki etmektedir. Ayrıca, üretmiş oldukları peptit yapısındaki "bakteriyosin" molekülü gıdalarda bozulmalara ve gıda kökenli enfeksiyonlara sebep olan bakterilerin gelişimini engellemekte ve böylece gıdanın raf ömrünü uzatmak için potansiyel biyolojik koruyucu (biopreservatif) görevi görmektedir (Kleanhammer, 1988).

Son zamanlarda LAB' lar; biopolimer (*Leuconostoc sp.*), bulk enzim (*Lactobacillus brevis*), etanol ve laktik asit (*Lactobacillus casei*, *Lb. lactis*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. brevis*) içeren endüstriyel, kimyasal ve biyolojik ürünlerin üretilmesinde kullanılmaya başlanmıştır. LAB' lar aynı zamanda sindirim enzimleri ve aşı antijenleri için oral araç olarak geliştirilmede güçlü adaylardır. LAB' ların doğal asit toleransı, gastrik yolda yaşayabilme kabiliyetleri ve insan tüketimi sırasındaki güvenilirlik kaydı, biyolojik moleküllerin hedef lokasyonlara ve dokulara etkili olarak ulaşmalarında kullanılan anahtar özellikleridir (Rademaker ve de Bruijn, 2000).

Yoğurtta bulunan *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* gibi LAB' lerinin kolesterol düşürücü, üretilen laktik asit ve yoğurdun sahip olduğu diğer antibakteriyel maddeler, kalın bağırsakta indol ve skatol gibi fenolik bileşikler üreterek canlı dokuya zarar veren ve hatta kanser başlangıcına neden olan bakterilere karşı engelleyici, bağışıklık sistemini güçlendirici, vücudu koruyucu ve enfeksiyonları engelleyici, kadınlarda hamilelik süresince ve sonrasında kan basıncını düzenleyici etkisi olduğu belirtilmektedir (Canan ve ark., 2004).

Peynir üretiminde starter kültür olarak kullanılan ya da bir çok peynir çeşidinin starter olmayan mikroflorasında dominant mikroorganizmalar olarak bulunabilen homofermantatif ve heterofermantatif LAB' leri bir çok peynir

çeşidinin olgunlaşmasında önemli rol oynamaktadır (Hansen ve ark., 2001; Gerasi ve ark., 2003; Hynes ve ark., 2003; Giraffa ve ark., 2004; Weinrichter ve ark., 2004; Yiğit, 2009). Peynir lezzeti üzerine etkili bileşiklerin önemli bir bölümü starter bakterilerin etkileriyle oluşmaktadır. Starter bakterilerin erken lizisi, hücre içi enzimlerin substratlara daha kolay ulaşmasını sağlamakta ve bu durum peynir lezzetinin gelişimini hızlandırabilmektedir (Valence ve ark., 2000; McSweeney, 2004; Dinçer ve ark., 2010).

Kefir tanelerinin süte ilave edilmesiyle elde edilen kefir, asidik ve alkolik fermantasyonların bir arada olduğu ve geçmişi olan kültüre edilmiş bir süt ürünüdür (Merin ve ark., 1986; Karagözlü, 1990; Kneifel ve Mayer 1991). Lee ve Kim (1986), kefir tanelerinden izole ettikleri 90 bakteriyal suşun karakterizasyonunu çalışmışlar ve suşların %40-60 üzerindekiilerinin *Lactobacillus brevis* ve *L. buchneri* olduğunu bildirmişlerdir. Kefirin oluşumu sırasında mikroorganizmalar, sütteki proteinleri pepton, peptit hatta amino asitlere, süt şekerini de süt asidi ve alkole kadar parçaladıklarından sindirimi kolaylaştırır. Ayrıca ortaya çıkan bu maddeler serinletici, iştah açıcı, sevilen tat ve aromaya sahip olan bu süt ürününün karakteristik özelliklerini oluşturur (Sezginer, 1980). Kefirin iştahsızlık, uykusuzluk, verem ve böbrek hastalıklarında, safra bozukluklarında, sarılık, çeşitli enfeksiyon ve egzemada iyi sonuçlar verdiği belirtilmektedir (Kaptan, 1982).

Fermente sucuklarda yaygın olarak bulunan flora LAB' leridir. Bunlarda en fazla *L. plantarum*, *L. sake* ve *L. curvatus* türleri bulunmaktadır (Erol ve ark., 1999; Kaban, 2007; Dinçer ve ark., 2010). Bu mikroorganizmalar oluşturdukları metabolitler ile sucuğa has özelliklerin kazandırılmasında etkililer. Sucukta LAB' leri karbonhidratları indirgeyerek aroma oluşumuna katkı sağlamaktadır. pH düşürücü etkisiyle (>5.3) ürün daha çabuk kurumakta, nitrit parçalanması ve renk oluşumu hızlanmaktadır (Alperden, 1993).

Tarhana üretiminde ise kullanılan maya (ilave edilen veya spontan olarak gelişen) ve yoğurt florasından kaynaklanan (*Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus*) mikroorganizmaların gelişmesi sonucu meydana gelen laktik asit, etil alkol, CO₂ ile ürüne özgü tat ve aroma oluşmaktadır. Tarhanada en fazla bulunan asit laktik asittir. Laktik asit tarhananın pH' sını düşürerek üründe

istenmeyen mikroorganizmaların gelişimini engellemektedir. Ayrıca LAB'leri yardımıyla besin öğelerinin emiliminin daha kolay olmasına yardımcı olmaktadır (Soyyigit, 2004 ; Bozkurt ve Gürbüz, 2008; Funda ve Kıvanç, 2009). Turşularda en baskın mikroorganizma *L. plantarum*'dur. Turşu yapımında salamura konsantrasyonu bu mikroorganizmaya göre ayarlanmaktadır. Turşu üretiminde kontrollü bir fermentasyon sağlanabilmesi için *L. plantarum*'un starter kültür olarak kullanılması gerekmektedir. Böylece daha fazla miktarda ve yüksek konsantrasyonda laktik asit eldesi söz konusudur (Aktan ve ark., 1999).

Boza, düşük alkollü fermente bir üründür. Florasında pek çok LAB' si bulunur. Bozada baskın olarak bulunan LAB' leri, mayalarla ilişki içerisinde (Zorba ve ark. 2003; Kıvanç ve ark., 2011).

1.3.Laktik Asit Bakterilerinin Sağlık Alanında Kullanımı

Günümüz dünyasında karşımıza sıklıkla çıkan terimlerden biride probiyotik ve prebiyotiklerdir. Özellikle son 10 yıldır probiyotik içeren gıdaların üretimi, kullanımı, bu gıdaların özellikleri ve sağlıkla olan ilişkileri araştırma konusu olarak yoğun ilgi görmüştür. Kelime anlamı, “yaşamsal, canlı için” olan probiyotikler, insan sağlığına olumlu yönde etki eden ve gıda katkı maddesi olarak kullanılan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmıştır (Sanders, 1999).

Probiyotikler, mide–barsak yolları mikroplarının metabolik aktivitesini ya da oluşumunu etkileyerek konakçı üzerinde olumlu etki bırakan, gıda maddeleri, canlı mikrobikler ya da diyet ekleridir. Probiyotikler, fermentasyon sonunda elde edilen diyetetik ve terapötik etkili ürünlerdir (Karahana ve Çakmakçı, 1996). Dr. Fuller ve Dr. Cole tarafından “bağırsaklarda mikrobiyal dengeyi olumlu yönde artırıcı etkileri olan canlı besin kaynağı” olarak tanımlanmıştır (Toklu, 1999). Fuller, probiyotikleri yeniden “konakçının intestinal mikroflorasının gelişimini teşvik eden canlı mikrobiyal katkı maddeleri” olarak tanımlamıştır. Probiyotik mikroorganizmaların bir kısmı insan beslenmesinde önemli bir yere sahip olan fermente süt ürünlerinin (yoğurt, kefir, kıymız, peynir gibi) yapımında starter kültür olarak kullanılmaktadır (Arda ve ark., 1992; İnal, 1990; Yaman, 2000).

Probiyotik olarak en sıklıkla kullanılan bakteriler LAB' leri (*Lactobacillus*,

Streptococcus, Enterococcus, Leuconostoc, Pediococcus) ve *Bifidobacterium* suşlarıdır. Probiyotik bakteriler türe değil, suşa bağlıdır. Bir probiyotik bakterinin sağlık üzerine yararlı etkisi sadece o suşa aittir. Bunlar bağırsaklarda ve birçok fermente süt ürünlerinde doğal olarak bulunmaktadır. Gıda, insan ve hayvan kaynaklı izolatların çoğunlukla *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerini içerdiği görülmüştür (Kılıç, 2001; Vancanneyt ve ark., 2002). Probiyotik bakteriler bağırsaklarda canlılığını koruyabilen, insan sağlığına faydalı bakterilerdir. Bu bakteriler bağırsak yüzeyine tutunarak enterik enfeksiyon riskini azaltırlar ve metabolizmaya yardımcı olmuştur. Bazı toksik gıda bileşenlerini parçalayarak ve istenmeyen mikroorganizmaların zararlı metabolitler oluşturmalarını önleyerek sağlıklı bir yaşamın devamını mümkün kılmıştır. Ayrıca bu bakterilerin laktoz hidrolizi, serum kolesterol düzeyinin azaltılması, kolon kanserinin önlenmesi, bağışıklık sisteminin uyarılması gibi faydaları vardır (Erkmen, 2000).

Probiyotikler, mide–barsak yollarındaki istenen konakçı organizmaların büyümesini tetikleyerek konakçıdan faydalanma potansiyeline sahip sindirilemeyen gıda maddeleridir. Bağırsak mikroflorasının bileşim, aktivite ve aktivitesindeki olumsuz değişimleri minimum düzeye indirmek ve bunun bireye olan etkilerini sınırlamak için geliştirilen diyetetik yöntemlerde kullanılmaktadır. Probiyotiklerin etkili olabilmesi için, sindirim sisteminin üst kısımlarında hidrolize ve absorbe olmaması, kalın bağırsağa geçerek orada bağırsak bakterileri tarafından kullanılabilmesi gerekmektedir (Akalın ve ark., 2000).

1.4.Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Metabolik Ürünler

LAB' leri laktik asit, hidrojen peroksit, diasetil ve asetaldehit, bakteriyosin, EPS gibi bazı metabolik ürünler üretmektedir ve proteolitik aktivite ve lipolitik aktivite göstermektedir.

Laktik asit, LAB' lerinin fermantasyon yolu ile ürettikleri bir üründür ve mikroorganizmalar üzerinde olumsuz etkili bir maddedir. Laktik asit, organik bir asittir. Ekşi tatta, kokusuz bir maddedir. Su, alkol ve eterle kolaylıkla karışabilir. Kloroformda çözülmez. İyi bir çözücü, zayıf bir asittir. Kolaylıkla polimerleşir. Bu özellikleri nedeniyle geniş kullanım alanları vardır. Besin maddelerinin

korunmasında asidite sağlar (Çetin, 1983). Yapılan araştırmalar sonucunda pH'nın düşmesine bağlı antimikrobiyal özelliğe sahip laktik asidin, Gram negatif bakterilerinin yaşamını kaybetmesine yol açan lipopolisakkaritlerin serbest bırakılmasına ve bunun sonucunda dış membranın geçirgen olmasına neden olan bir madde olduğunu bildirmişlerdir (Kılıç, 2001).

LAB'leri üremeleri sonucu hidrojen peroksit oluştururlar. Oluşturulan hidrojen peroksit miktarı, LAB'lerinin cins, tür ve hatta suşlarına göre farklılık göstermiştir. Rahim kanserinin en büyük nedenlerinden biri olan HPV (Human Papilloma Virüs) ile ilgili yapılan bir çalışma sonucunda hidrojen peroksit konsantrasyonu yüksek olan ortamdaki hücrelerin kanser hücrelerine dönüşümünün engellendiği, hatta LAB'lerinin oluşturduğu hidrojen peroksidin kanserli hücreleri tekrar eski haline dönüştürdüğü düşünülmektedir (Bauer, 2001). Hidrojen peroksit, mikroorganizmaların enzim aktivitelerinin bozulmasına, enzimlerin kimyasal yapısının, biyokimyasal karakterinin ve aktivitelerinin değişikliğe uğramasına ve böylece enzimlerin inaktive olmasına sebep olmaktadır.

Diasetil (2,3-bütandion) pruvattan sentezlenen LAB'lerinin en son metabolik ürünüdür. Diasetil tereyağı için bilinen en iyi aroma maddesidir. Ayrıca süt ve süt ürünlerinde, bazen meyve sularında ve konsantre edilerek dondurulmuş meyve sularında da aroma oluşumu ile ilgili bulunduğu belirtilmiştir (Christensen ve Pederson, 1958; Rushing ve Senn, 1960).

Asetaldehit üretiminde *Lactobacillus'* ların önemli rolü olduğu bilinmektedir (Shimazu ve ark., 1985). Bazı araştırmacılar diasetilin bazı türler üzerindeki inhibe edici etkisi üzerinde durarak organizmanın diğer organizmalarla rekabet için, savunma mekanizması olarak diasetil ürettiğini savunmaktadırlar (Rushing ve Senn, 1960; Drinan ve ark., 1976). Homofermentatif LAB'leri heterofermentatif olanlara oranla daha fazla ve hızlı diasetil oluşturmaktadır.

Proteolitik aktivite, mikroorganizmalarca salgılanan proteolitik enzimler ile proteinlerin hidrolize edilmesidir. Proteolitik aktivite, hem starter kültürlerin asit oluşturma fonksiyonu hem de ürünün duyuşal nitelikleri açısından önemlidir. LAB'leri, gelişebilmeleri için ortamda bazı serbest amino asitlerin bulunmasına gerek duyarlar. *Streptococcus* türleri, ekstrasellüler proteinaz enzimiyle özellikle hücre zarına bitişik olan kazeini peptidlere parçalar. Bu peptitler, bakteri hücresi

tarafından alınır ve intrasellüler olarak hidrolize edilirler (Law ve Kolstad, 1983).

LAB'lerinde görülen lipolizis olayı metilketon ve çeşitli alkoller gibi aroma ile ilişkili bileşiklerin prekursorleri olan serbest yağ asitlerinin oluşumu ile sonuçlanmaktadır (Smit ve ark., 2002). Suşa bağlı olmakla birlikte genel bir kabul olarak lipolitik aktiviteleri her ne kadar zayıf olsa da, laktobasiller bazı peynir çeşitlerinin lipolitik olgunlaşmasında son derece önemli rol oynamaktadırlar. Örneğin dondurarak saklanmış *L. casei* T'nin lipolitik aktivitesinin yüksek olduğu ve Cheddar peynirinin olgunlaşmasında önemli olabileceği bildirilmektedir (Gürsoy ve Kımık, 2005).

Bakteriosinler, protein veya protein kompleksleri olup, bakteriyel türlerin oldukça büyük bir kısmı tarafından üretilen potansiyel antimikrobiyal maddelerdir. Etki spektrumları bazı türlerle sınırlı olup, daha çok gram pozitif bakteriler üzerinde etkilidirler (Daeschel, 1989; Kurt ve Zorba, 2005). Tagg ve arkadaşları (1971), bakteriosin için bazı karakteristik özellik belirlemişlerdir. Bakteriosinler, biyolojik olarak aktif proteinlerdir, bakterilerde bulunan spesifik bağlanma kısımlarıyla reaksiyona girerler, bakteriyosidal aktivite gösterirler, letal biyosentezle üretilirler. LAB'leri içinde bakteriosin üreten *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Micrococcus*, *Pediococcus* ve *Lactococcus* cinsleri gıda maddelerinin korunmasında doğal koruyucu olarak rol oynamaktadır (Lewus ve ark. 1991). Bakteriyosin üreten LAB'lerinin starter kültür olarak tercih edilmeleri sonucunda, süt ve süt ürünlerinin biyolojik olarak korunması da sağlanabilmektedir. Özellikle patojen ve bozulma etkeni mikroorganizmalar üzerine etkili olan bakteriyosinler daha fazla uygulama alanı bulmaktadır (Geisen ve ark., 1992).

Bakteriyosinler için farklı sınıflandırmalar yapılmakla birlikte, daha çok Klaenhammer'in özellikle Gram (+) bakterileri dikkate alarak yaptığı sınıflandırma kullanılmaktadır. Biyokimyasal özellikleri dikkate alınarak yapılan sınıflandırmada, bakteriyosinler molekül büyüklüğü, kimyasal yapıları, etki mekanizmaları ve ısı stabilitelere göre genel olarak 4 sınıfa ayrılmışlardır. Ancak, biyokimyasal tanımlanması bakımından daha çok ilk 3 sınıf dikkate alınmaktadır. Grup I bakteriyosinler daha çok "lanthionine" içermeleri nedeniyle lantibiyotikler olarak adlandırılmakta ve yapılarında bilinen amino asitlerden

farklı olarak lanthionine (Lan) ve methyllanthionine (MeLan) amino asit türevlerini içermektedirler. Grup II bakteriyosinler grup I'den farklı olarak lanthionine içermezler. Grup III bakteriyosinler daha büyük molekül ağırlığına (>30kDa) sahip olup, ısıya karşı duyarlı peptid zincirlerinden oluşmaktadırlar. Grup IV bakteriyosinler büyük ve kompleks moleküller olup, aktiviteleri için karbonhidrat veya lipid bileşenlerine gereksinim duymaktadırlar (Dinçer, 2010).

Gıdalara koyucu olarak bakteriyosin ilavesi ile; (i) gıdaların raf ömrü uzatılabilmekte, (ii) saklama koşulları altındaki sıcaklıklarda ekstra koruma sağlanabilmekte, (iii) gıda kökenli patojenlerin besin zinciri ile dağılım riski azaltılabilmekte, (iv) gıdalarda bozulmalara yol açan mikroorganizmalar nedeni ile yaşanan ekonomik kayıplar en aza indirgenebilmekte, (v) kimyasal koruyucuların kullanımları azaltılabilmekte, (vi) koruma için daha az prosesin uygulanması sebebi ile ürünün organoleptik özellikleri ve besinsel değeri de daha iyi korunabilmektedir (Thomas ve Wimpenny, 1996; Dinçer ve ark., 2010).

1.5. Ekstraselüler Polisakkarit (EPS) Üretimi

Mikroorganizmalar intraselüler (depo) polisakkaritler, ekstraselüler (EPS) polisakkaritler, ve yapısal formdaki polisakkaritler olmak üzere 3 ayrı polisakkarit türü sentezlemektedirler. EPS formları hücre duvarı ile birleşmiş olabilen kapsüller veya büyük miktarlarda hücre duvarı dışında biriken ve kültür ortamına yayılan bağımsız salgılar olarak üretilen yapılardır (Sutherland, 1998; Ramesh ve ark. 2003).

Bakterinin dış yüzeyini kaplayan EPS kapsül veya slim formda olabilir Kapsüller EPS bakteri hücre yüzeyindeki fosfolipid veya lipid-A moleküllerine kovalent bağ ile bağlanmaktadır (Sutherland, 1990; Costerton ve ark., 1994). EPS'ler suda çözünen polimerlerdir ve doğada iyonik ya da iyonik olmayan yapılarda bulunabilirler (Calazans ve ark., 1997).

Hüresel lokasyonları, kimyasal ve fiziksel yapı özellikleri ile fonksiyonları esas alınarak mikrobiyal EPS'leri üç ana grup altında toplamak mümkündür. Bunlar;

- hücre yüzeyine kovalent bağlarla bağlı olan kapsül polisakkaritleri(CPS),

- hücre duvarının bir bileşeni olan lipopolisakkaritler (LPS)
- dış ortama salgılanan ya da hücre yüzeyi ile kovalent olmayan gevşek

bağlar ile bağlanmış polisakkaritlerdir (LAM- lipoarabinomannan).

CPS ve LPS, genellikle üretici bakterilerin patojenitesini belirleyen yapılar olduğundan, tıbbi açıdan büyük önem taşımaktadırlar. LAM ise gıda endüstrisinde geniş bir kullanım alanı bulmaktadır (Levander ve ark., 2002; Mozzi ve ark., 2006).

Teknolojik faydalarının yanı sıra LAB' leri tarafından üretilen EPS ler antiülser, antitümoral olma, kolesterolü düşürme, immün sistemi güçlendirme gibi sağlığa faydalı çeşitli özellikleri de taşımaktadırlar (Van Calsteren ve ark., 2002; Champagne ve ark., 2007). EPS üreten LAB' lerinin çoğu ekşi hamur, sosis, peynir, yoğurt, kefir gibi fermente süt ürünlerinden ve sanayileşmemiş ülkelerdeki geleneksel gıdalardan izole edilmiştir (Ruas-Madiedo ve ark., 2005; Mozzi ve ark., 2006; Kıvanç ve Yapıcı, 2008.).

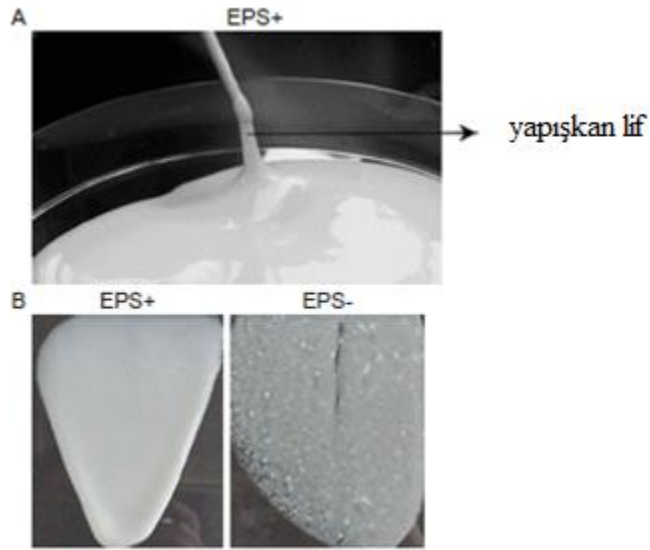
EPS' ler yeni işlevsellikleri ile çok farklı fiziki, kimyasal ve rehological özelliklerinden dolayı yeni biyomateryaller gibi hareket ederler ve tekstil, deterjan, yapıştırıcı, mikrobiyal olarak zenginleştirilmiş petrol iyileştirmeleri (NEOR), atık su iyileştirmeleri, dere yatağı temizlemeleri, mayalanma, akarsu işleme sürecinde, kozmetik, eczacılık ve gıda katkı maddesi olarak oldukça geniş alanlarda kullanılmaktadırlar (Yalpani ve Sandford 1987, Becker ve ark., 1998). Biyofilm özelliği gösteren EPS' ler bakteriyi deterjanlara ve antibiyotiklere karşı dirençli hale getirirler (Wolfaardt ve ark., 1994, Krylova ve ark., 2000). Ayrıca biyofilm bakteriyi dış ortamdan koruyarak yaşayabilmesini sağlayabildiği gibi genetik özelliklerinin korunmasında ve genetik bilgi değişiminde de daha iyi ortamlar hazırlamaktadır (Kitazawa ve ark., 1991). (Çizelge 1.1)

Çizelge 1.1. Bakteriye EPS'nin Bileşenleri, Özellikleri ve Uygulamaları (Freitas ve ark., 2011).

EPS	Bileşenleri	Özellikleri	Uygulamaları
Ksantan	Glukoz Mannoz Glukuronik asit Asetat Pirüvat	Hidrokolloid Yüksek viskozite verimi Geniş sıcaklık, pH ve tuz konsantrasyon aralıkları	Gıdalar Petrol endüstrisi İlaç Kozmetik ve kişisel bakım ürünleri Tarım
Jellan	Glukoz Ramnoz Glukuronik asit Asetat Gliserat	Hidrokolloid Jelleşme kapasitesi Termik jeller	Gıdalar Evcil hayvan gıdası İlaç Araştırma: agarlar ve jel elektroforezi
Aljinat	Glukuronik asit Mannuronik asit Asetat	Hidrokolloid Jelleşme kapasitesi Film formasyonu	Gıda hidrokolloid Tıp - Cerrahi pansumanlar - Yara yönetimi - Kontrollü ilaç salımı
Selüloz	Glukoz	Yüksek kristallik Yüksek gerilme kuvveti Kalıplanabilirlik	Yiyecek Biyomedikal - Yara iyileşmesi - Doku mühendisliği kan damarları
Dekstran	Glukoz	Non-iyonik İyi stabilite Newton tipi sıvı davranışı	Gıdalar İlaç endüstrisi; Kromatografik ortam
Kurdlan	Glukoz	Jel oluşturucu yeteneği Suda çözünürlük Biyolojik aktivite	Gıdalar İlaç endüstrisi Ağır metal giderimi
Levan	Fruktoz	Düşük viskozite Yüksek suda çözünürlük Biyolojik aktivite: - Anti-tümör aktivitesi - Anti-enflamatuar Film oluşturma kapasitesi	Gıda Yem İlaçlar Kozmetik Endüstri
Galaktopol	Galaktoz Manoz Glikoz Ramnoz Asetat Suksinat Pirüvat	Emülsifikasyon kapasitesi Pıhtılaştırma kapasitesi	Hidrokolloid kullanım: - Gıda ve yem - Kozmetik - İlaç ve tıp Kaplama lar Paketler
Fukopol	Fukoz Galaktoz Glikoz Asetat Suksinat Pirüvat	Film oluşturucu Emülsifikasyon kapasitesi Pıhtılaştırma kapasitesi Fukoz içeriği nedeniyle biyolojik aktivite	Hidrokolloid kullanım: - Gıda ve yem - Kozmetik - İlaç ve tıp - Yağ geri kazanım Fukoz ve FUCO-oligosakaridler kaynağı

EPS' ler bakterinin olumsuz çevre şartlarından korunmasını ve çeşitli yüzeylere tutunmasını sağlamaktadır. Polisakkaritler, üretici suşlar tarafından katabolize edilemediklerinden enerji kaynağı değildirler, buna karşılık mikroorganizmayı veya ortamı kurumaya karşı korur, zararlı veya düşman bir ortamdan uzaklaştırırlar (Moriello ve ark.2003; Ophir ve ark. 1994).

EPS fermente ürünün reolojisini geliştirmede doğal biyolojik maddeler ve fiziksel stabilizörler olarak, su bağlayıcı ve pıhtılaşmayı sınırlamada önemli işlevleri vardır. Bunlarda 2 reolojik özellik etkili olmaktadır. İlki viskozitedir. Viskozite, deformasyona dirençli maddelerin özelliğidir. Fermente süt ürünlerinde de viskozite yapışkan ve akışkan bir madde olarak tanımlanmaktadır (Şekil 1.1). İkinci özellik ise esnekliğidir. Esneklik deformasyon oluştuktan sonra kurtarıcı bir özelliktir. Bu özellik sağlam bir gövde ve sakızimsı kıvamdaki fermente süt ürünlerinde görülmektedir. Bu iki özellik bir ürünün duyusal kalite, güzel bir dış görünüş ve hoş bir ağız hissi için önemlidir (Sebastiani ve Zelger, 1998; Skriver ve ark.,1999; Skriver ve ark.,1993).



Şekil 1.1. Fermente süt ürünlerinden *Lactococcus lactis subsp. cremoris* suşu tarafından EPS üretimi

(A)Yapışkan lifin viskozitesi ve artışı, (B) EPS üreten ve EPS üretmeyen suşlar arasındaki pürüzsüz doku (Ruas -Madiedo ve ark., 2008)

Yapılan tüm bu çalışmalar sonucunda EPS' lerin bağırsak florasını düzenlediği, kolesterolü düşürdüğü ve antiülser aktivitesine sahip olduğu

belirlenmiştir (Kenne ve Lindberg, 1983, Tavernier ve ark., 1997). Aynı zamanda kimya alanında inceltici olarak ve farmokolojinin değişik alanlarında da EPS' den yararlanılmaktadır (Lee ve ark., 1997). EPS üretme kabiliyetine sahip LAB' leri Çizelge 1.2 de verilmiştir.

Çizelge 1.2. Ekzopolisakkarit Üretme Yeteneğine Sahip LAB (Patel, 2012)

Lactobacillus genusu	Streptococcus genusu	Lactococcus genusu	Leuconostoc genusu
<i>L. hilgardii</i> <i>L. casei</i> <i>L. helveticus</i> <i>L. delbrueckii</i> <i>ssp. lactis</i> <i>L. delbrueckii</i> <i>ssp. bulgaricus</i> <i>L. reuteri strain LB</i> <i>121</i> <i>L. reuteri ATCC</i> <i>55730</i> <i>L. reuteri strain 35-5</i> <i>L. sanfranciscensis</i> <i>LTH 2590</i> <i>L. johnsonii NCC 533.</i> <i>L. reuteri 121</i> <i>L. kefiranofaciens</i> <i>L. kefirgranum</i> <i>L. parakefir</i>	<i>S. mutans</i> <i>S. sobrinus</i> <i>S. salivarius</i> <i>ssp. thermophilus</i> <i>S. mutans 6715</i> <i>S. salivarius</i> <i>S. mutans JC2</i>	<i>L. lactis ssp. lactis</i> <i>L. lactis ssp. cremoris</i>	<i>Leu. mesenteroides</i> <i>ssp. cremoris</i> <i>Leu. mesenteroides ssp.</i> <i>mesenteroides</i> <i>Leu. mesenteroides</i> <i>NRRL B-512F</i> <i>Leu. mesenteroides</i> <i>NRRL B-640</i> <i>Leu. mesenteroides B-</i> <i>742</i> <i>Leu. mesenteroides B-</i> <i>1355</i> <i>Leu. mesenteroides B-</i> <i>1299</i> <i>Leu. mesenteroides</i> <i>NRRL B-1355</i> <i>Leu. mesenteroides</i> <i>NRRL B-1501</i> <i>Leu. mesenteroides</i> <i>NRRL B-1498</i> <i>Leu. mesenteroides</i> <i>NRRL B-512F</i> <i>Leu. citreum CW28</i>

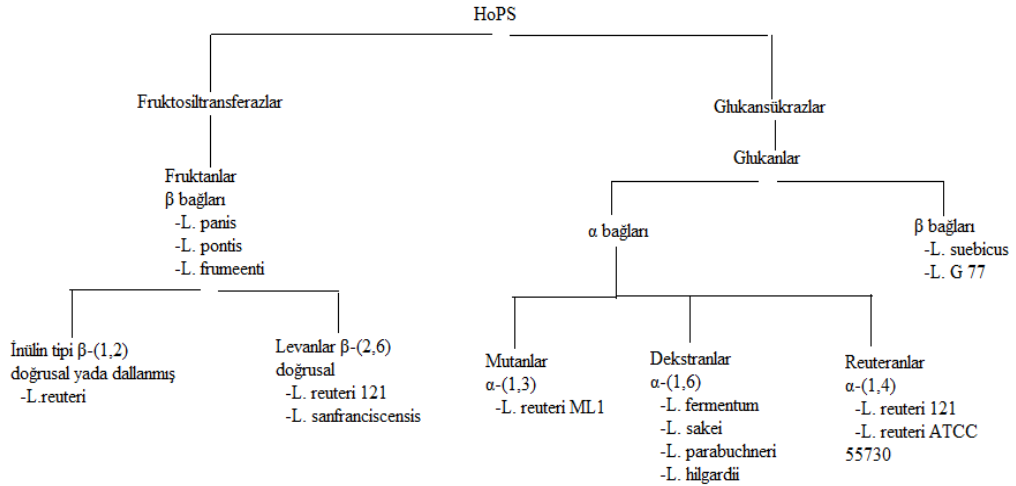
EPS fraksiyonunu arındırmak için kullanılan yöntemler protein uzaklaştırması, EPS çözülmesi, mikrofiltrasyon, ultrafiltrasyon ve diafiltrasyon gibi membran filtrasyon teknikleridir (Tuinier ve ark., 1999b; Yang ve ark., 1999; Staaf ve ark., 2000; Bergmaier ve ark., 2001; Levander ve ark., 2001). EPS fraksiyonu saflık arttırmak için kullanılan diğer tamamlayıcı yöntemler ise; iyon değişimi (Doco ve ark., 1990; van Casteren ve ark., 1998; Urashima ve ark., 1999), DNaz sindirimi (Higashimura ve ark., 2000; Navarini ve ark., 2001), ve protein çıkarılması için SDS-PAGE (Nakajima ve ark., 1992) dir.

1.6. Ekstraselüler Polisakkaritin (EPS) Bileşimi ve Yapısı

EPS' ler glikozit bağları ile birbirine bağlı olan şeker ünitelerinden oluşmaktadır. Kimyasal kompozisyonlarına bağlı olarak LAB' lerinin ürettiği EPS' ler genellikle tek tip monosakkarit olan glikoz ve früktoz içeren ve sırasıyla glukoz ve fruktanlar olarak adlandırılan homopolisakkaritler (HoPSs) ve farklı monosakkaritlerin tekrarlayan birimlerinden oluşan, değiştirilmiş monosakkaritler, diğer organik ve inorganik moleküllerden oluşan heteropolisakkaritler (HePSs) olarak iki gruba ayrılmaktadır (Monsan ve ark., 2001; De Vuyst ve ark., 2001; Ruas-Madiedo ve ark., 2002a). Bakteriyel EPS' lerin çoğunluğu düzenli oligosakkaridlerin tekrarlanan birimlerinden oluşmuş heteropolisakkarid yapıda, bazı bakteriyel EPS' ler ise tek tip şekerden meydana gelen bir homopolisakkarid yapıdadır. EPS' yi oluşturan homopolisakkaridlerin çoğunluğu nötr olmasına rağmen birçok bakteriyel EPS negatif yük taşır ve yüksek kütleyle sahiptir. Ayrıca polisakkaridler hidrofilik özellik taşımakla birlikte çoğu polimerler lipofilik, hidrofilik ve biyofilm yapısında olabilen heterojenlerdir (Kenne ve ark., 1983; Calazans ve ark., 1997; Gugliandola ve ark., 2003). Primer yapılarına göre glukoz α -D-glukozlar (deskranlar, mutanlar, alternanlar) ve β -D-glukozlar olarak sınıflandırılır. Şekil 1.2'de LAB'leri tarafından sentezlenen homopolisakkaritler görülmektedir. Homopolisakkaritlerin üretimi için sükröz gibi spesifik bir substrata ihtiyaç vardır ve monosakkarit birimler hücre dışında yer almaktadır (Cerning, 1990). Bu biyopolimerler büyük miktarlarda üretilmektedir. *L. reuteri* LB 121 suşu ile homopolisakkaritlerin D-glikoz ya da D- früktoz olan iki tipinden yaklaşık olarak 10g L^{-1} oranında üretilmiştir (van Geel-Schutten ve ark., 1999). Homopolisakkaritlerin birincil yapısındaki özellikler arasındaki farklar, ana zincir bağları, moleküler ağırlık ve dal yapılarından meydana gelmektedir. LAB'leri tarafından homopolisakkaritlerin iki farklı grubu üretilmektedir. Bunlardan birincisi α -glukozlardır. Bunlar *Leu. mesenteroides subsp. mesenteroides*, *Leu. mesenteroides subsp. dextranicum* tarafından üretilen dekstranlar ve *S. mutans* ve *S. sobrinus* tarafından üretilen mutanlar α -1,6- ve α -1,3 bağlı glikoz artıklarından oluşmaktadır. İkinci grubu ise

fruktanlardır. Fruktanlar *S. salivarius* tarafından üretilen levan gibi β -2,6 bağlı früktoz moleküllerinden oluşmaktadır (Cerning, 1990).

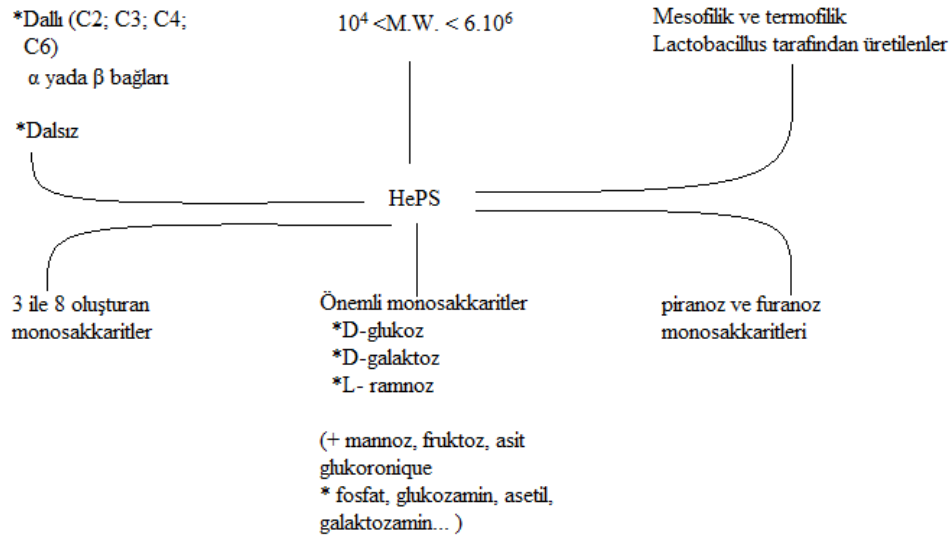
Heteropolisakkaritler, D-glikoz, D-galaktoz ve L-ramnoz veya nadir olarak N-asetilglikozamin ve glukoronik asit içeren birimlerin tekrarlanması sonucu açığa çıkan yapılardır (Duboc ve Mollet, 2001). Heteropolisakkaritlerin molar kütlesi 4.0×10^4 , 6.0×10^6 Da arasında değişmektedir. Farklı tür ve cinsler tarafından sütteki EPS üretim miktarı, EPS' nin izolasyon yöntemlerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Büyüme koşulları (pH, sıcaklık ve inkübasyon süresi), ve ortamın bileşimi (karbon, nitrojen kaynakları ve diğer besinler) polimer verimini ve şeker kompozisyonunu etkileyebilmektedir (Looijesteijn ve ark., 2000; Torino ve ark., 2000; Grobber ve ark., 2000). LAB' leri tarafından üretilen polimerlerin çoğu bu özelliğindedir. *Lactococcus lactis ssp. lactis*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* heteropolisakkarit üreten başlıca süt asidi bakterilerindendir (Broadbent ve ark., 2001). LAB' leri ve probionik bakteriler tarafından sentezlenen heteropolisakkaritler Şekil 1.3.'de verilmiştir (Cerning ve ark., 1986; Doco ve ark., 1990; Yamamoto ve ark., 1994; Marshall ve ark., 1995).



Şekil 1.2. *Lactobacillus sp.* tarafından üretilen homopolisakkaritlerin sınıflandırılması (Badel ve ark., 2011)

Leu. mesenteroides subsp. mesenteroides tarafından sükrözden dekstran oluşmaktadır. Ancak tuz konsantrasyonunun arttığı bir ortama izolattan seri

transfer yapıldığı zaman dekstran oluşturma yeteneğinin genellikle kaybolduğu, ayrıca *Leuconostoc sp.*'nin dekstran üretmeyen suşları domates ya da portakal suyu üreten ortama aşılandığında dekstran üretimi görüldüğü bildirilmiştir (Pederson ve Albury, 1955). Mutan *S. mutans*'ın çeşitli serotipleri tarafından sentezlenen bir glukandır ve büyük çoğunluğu α -1,3 bağlantısı içerdiğinden dekstrandan farklıdır. Alternan α -1,6 ve α -1,3 bağlarında oluşmaktadır. Alternan yüksek çözünürlük ve düşük viskozite gösterdiğinden kozmetik ve gıda da yaygın olarak kullanılmaktadır. Levan fruktanların alt bölümünü oluşturmaktadır ve levanlarda EPS oluşumu görülmektedir. Levan diğerlerine göre daha düşük viskoziteye sahiptir. Levan antitümör özelliği (Yoo ve ark., 2004), kolesterol düşürücü özelliği, çevre dostu yapıştırıcı özelliği ile uygulamalarda dikkat çekicidir. Levan gıda endüstrisinde biyo-yoğunlaştırıcı olarak kullanılmaktadır (De Vuyst ve ark., 2001). Fruktan bazı β -2,1 dalları ile β -2,6 bağlantılı früktoz molekülünden oluşmaktadır. *S. mutans*'ın β -2,1 bağlantılı früktoz molekülünde inülin bulunmaktadır (Korakli ve ark., 2002). İnülin patojenik yapışmayı önlemektedir ve organların içerisindeki boşluğun (lümenin) pH'sını düşürmektedir (Sartor, 2004). İnülin tipi fruktanlar yeni tedavi yöntemlerinde kolon kanserinin tedavisinde kullanılmaktadır (Pool-Zobel, 2005).



Şekil 1.3. *Lactobacillus sp.* tarafından üretilen heteropolisakkaritlerin sınıflandırılması (Badel ve ark., 2011)

LAB' leri tarafından üretilen heteropolisakkaritlerin farklı olmasında

fermantasyon ortamı önem taşımaktadır. LAB' leri tarafından üretilen EPS' nin toplam verimi ortam koşullarına (azot ve karbon kaynaklarına), büyüme koşullarına yani pH değerine, sıcaklığa ve inkübasyon zamanına bağlıdır. Yüksek EPS verimini elde edebilmek için karbon ve azot kaynakları arasında optimal oranı elde etmek gerekmektedir.

1.7. Ekstraselüler Polisakkaritin (EPS) Biyosentezi

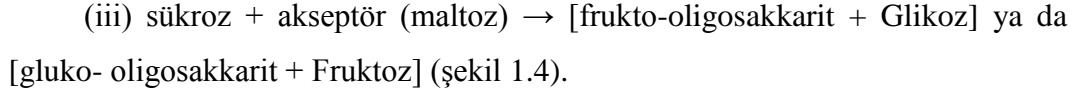
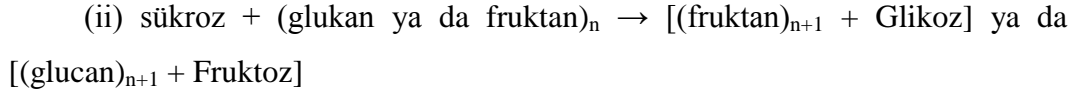
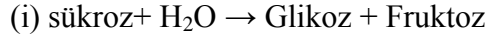
Polisakkaritler, bakteri şuşlarının çoğalmaları sırasında suşa ve çoğalma evresinin farklı kademelerine göre değişen koşullarda sentezlenir. Sentez olayı hücre dışında olduğu kadar membranda da meydana gelebilmektedir. EPS sentezinin Sutherland tarafından önerilen genel modele göre gerçekleştiği düşüncesi ağırlık kazanmıştır. EPS'lerin oluşumunda;

- UDP-glukoz-dehidrogenaz
- glukozil-transferaz
- galaktozil – transferaz 1 ve 2
- polimeraz gibi polisakkarit sentezine özgü olmayan birçok enzim görev alır.

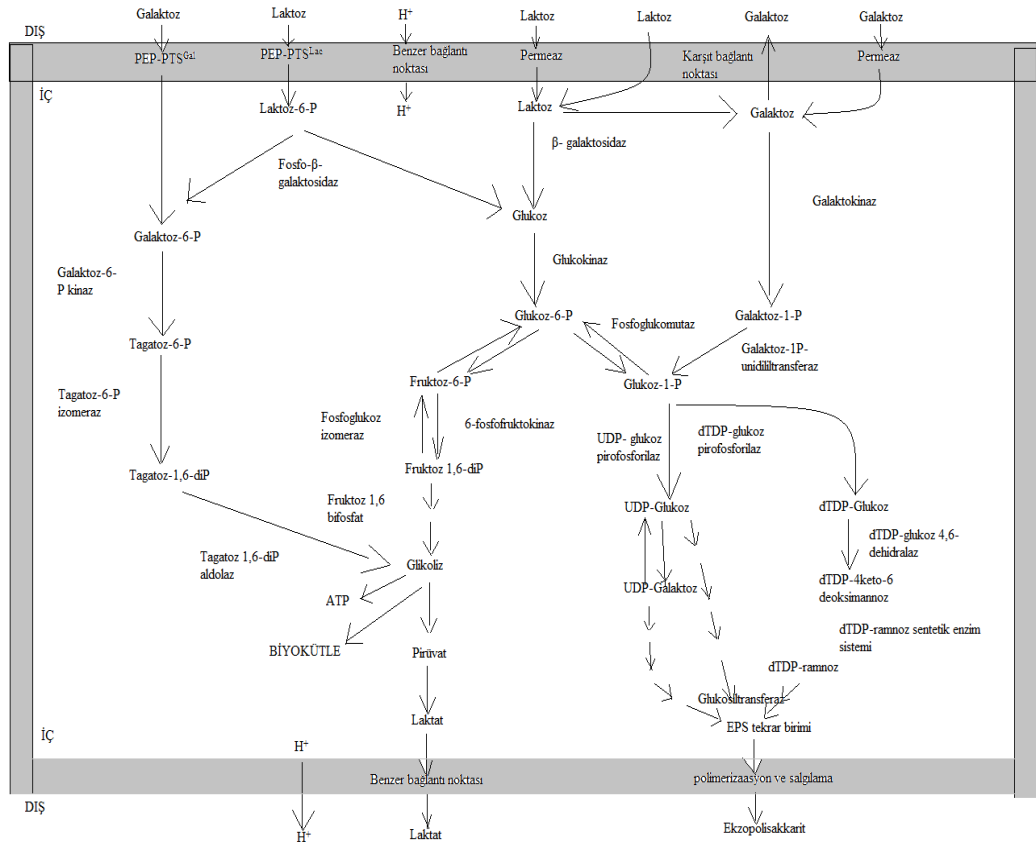
Glikoz-6-fosfat EPS üretiminin anabolik yolunu ve şeker bozulmasının katabolik yolunun bağlayan bir anahtar ara madde olarak görev almaktadır. Bu yollarda karbon akışı, glikolizin üretiminde früktoz-6-fosfat formasyonu, biyokütle ve ATP formasyonu, şeker nükleotidlerinin biyosentezi ve EPS'lerin habercileri arasında kollara ayrılır. Şekerler EPS gen kümelerinde (glikosiltransferazlar) birçok gen ürünlerinin hareketiyle tekrar eden birimlerde bağlantı oluşturur (Boels ve ark., 2001b).

Homopolisakkaritler glikozil için spesifik sustrat olarak sükrozu kullanarak glukansükraz enzimi ile hücre dışı sentezini gerçekleştirmektedir. (Monsan ve ark., 2001). Glukansükraz ve fruktansükrazların çok sayıda gen ve enzimi kodlama ve klonlamada kullanıldığı belirlenmiştir. (Korakli ve Vogel, 2006; van Hijum ve ark., 2006). Genellikle bu genler bir sinyal peptidi ve değişken N-terminal ucu, bir katalitik uç ve C-terminal ya da bağlayıcı uç tarafından oluşturulan ortak bir yapıyı paylaşırlar. Glukansükraz ve fruktansükrazlar alıcı reseptöre bağlı olarak

reaksiyonu 3 şekilde katalizlenmektedir (Werning ve ark., 2006).



Son olarak gıda kaynaklı LAB'leri tarafından üretilen β -glukanlar *patojen Streptococcus pneumoniae* tarafından β -glukan sentezinde rol oynayan membrana bağlı glikosiltransferazların (GTF'ler) aktivitesi ile sentezlenmektedir (Werning ve ark., 2006).



Şekil 1.4. Laktoz, galaktoz ve glikozun EPS' ye dönüşümü ve LAB' lerinde glikolizin genel şeması (Alan ve ark., 2003)

Heteropolisakkaritlerin genetik organizasyonu daha karışıktır çünkü bu işlem hücre içi ve hücre dışı adımları birleştirir ve çeşitli enzimler tekrar eden

birimlerin biyosentezine, sekresyonuna ve polimerizasyonuna katılmaktadır (Boels ve ark., 2001b; Jolly ve Stingelle, 2001; Broadbent ve ark., 2003). HePS gen kümeleri genellikle dört bölgeye ayrılır bunlardan ilki düzenleyici genleri içeren bölge; ikincisi polimerizasyon ve zincir uzunluğunun belirlenmesine katılan proteinleri içeren bölge; üçüncüsü özel olarak tekrar biriminin birleştirilmesi için gerekli glikosiltransferaz (GTF) ları kodlayan genleri içeren bölge; dördüncü bölge taşıma ve polimerizasyon için gerekli olan genleri içermektedir (Jolly ve Stingelle, 2001; Broadbent ve ark., 2003). Heteropolisakkaridler hücre içinde sentezlenirler ve daha sonra hücre dışına çıkarılarak hücrenin etrafını sarmaktadır. Bu işlemler için birçok enzimin varlığına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu enzimlerden bazıları lipopolisakkaridlerin sentezinde de kullanılmaktadır. Heteropolisakkaritlerin sentezinde çeşitli biyosentetik adımlar bulunmaktadır ve üretim yapılan hücrenin merkezi karbon metabolizması ile bağlantılıdır (Hutkins ve Morris, 1987; de Vos, 1996; Escalante ve ark., 1998; De Vuyst ve Degeest, 1999; Ramos ve ark., 2001). Fosfoglukomutaz tarafından glikoz-6-fosfatın glikoz-1-fosfata dönüştürülmesi sırasında aktive şeker üreten merkez heteropolisakkarittir (Degeest ve De Vuyst, 2000). Glikoz-1-fosfat UDP-glikoz oluşturmak için tekrar eden birimlerden yeni oluşan EPS içerisine katılarak (Sjöberg ve Hahn-Hagerdal, 1989) ya da UDP-galaktoz veya dTDP-ramnoza dönüştürülerek UTP ile reaksiyona girmektedir. Biyosentetik yol 4 ayrı reaksiyon dizisinden oluşmaktadır. Bunlar; Sitoplazma içerisine şeker taşınması, Şeker-1-fosfatın sentezi, şekerlerin birleşmesi ve aktivasyonu, EPS' nin salgılanmasını içeren süreçlerdir. En sık karşılaşılan şeker taşıma makineleri ; bakteriyel fosfoenolpiruvat (PEP) ve şeker fosfotransferaz sistemi (PTS) ' dir (Postma ve ark., 1993). PEP-PTS sistemleri, bağlanma, zar transferi, şeker substratlarının çeşitli fosforilasyonundan sorumlu proteinleri içermektedir (şekil 1.5).

başlanmıştır (Hugenholtz ve Kleerebezem, 1999; van Kranenburg ve ark., 1999a; Stingle ve ark., 1999b).

1.8. Ekstraselüler Polisakkaritin (EPS) Gıda Endüstrisinde Kullanımı

Günümüzde pek çok fermente süt ürününün yapımında kullanılan LAB'lerinin EPS ürettikleri bilinmektedir. EPS'ler; viskoziteyi artırıcı, yapıyı düzenleyici, su bağlayıcı, stabilize ve emülsifiye edici gibi özellikleri nedeni ile süt ve süt ürünlerinin yapısal özelliklerini olumlu yönde etkilemektedir. Bu yüzden başta yoğurt olmak üzere çeşitli fermente süt ürünlerinde ve düşük yağlı peynirlerde istenilen yapının oluşması için EPS üreten suşlardan yararlanılmaktadır (Frengova ve ark., 2002). EPS'ler süt fermentasyonu sırasında LAB'leri tarafından in situ olarak üretildiği için doğal biyokoyulaştırıcılar olarak kabul edilmektedir. Böylece bu polimerler koyulaştırıcılar, emülgatörler, stabilize edici ve jelleştirici maddelerde alternatif olarak kullanılabilir (Laws ve Marshall, 2001; Ruas-Madiedo ve ark., 2002a).

Gıdalarda katkı maddesi olarak EPS kullanımının başarı ile sonuçlanabilmesi için üreticilerin uygun ortamda, dondurularak ya da kurutularak konsantre hale getirilmiş kültürün stabilizasyonunu, tekrar eldesini ve istenilen ürün eldesini sağlaması zorunludur. EPS üretimi temel olarak straine bağlı olarak gelişmekle birlikte; yüksek seviyelerde EPS üretimi için karbon ve nitrojen kaynakları arasında denge olması gerekmektedir. Ayrıca sıcaklık, ortam bileşenleri, inkübasyon süresi gibi büyüme koşulları da ürün eldesini etkilemektedir (Bouzar ve ark., 1996; Champagne ve ark., 2007). Kullanılan EPS'lerin çoğu kıvamlaştırıcı özellikleri ya da jel oluşumuna neden oldukları için gıda endüstrisinde kullanımları Çizelge 1.3' de verilmiştir.

Çizelge 1.3. Gıdada Kullanılan Ekzopolisakkaritlerin Özellikleri (Yıldız, 2011)

Fonksiyon	Uygulama
Yapışkan	Buzlanma ve kırağı oluşumu
Bağlayıcı madde	Hayvan yiyecekleri
Kaplama	Şekerleme
Emülsifiye edici olarak	Salata sosları
Kapsülleme	Toz halindeki tatlar
Film formasyonu	Koruyucu tabaka, sosis muhafazaları
İnceltme	Şarap ve bira
Köpük sabitleyici	Bira
Jelleştirici	Şekerleme, sütlü tatlılar, reçel
İnhibitör (kristal oluşumu)	Dondurulmuş gıdalar, pastiller ve şeker şurupları
Sabitleyici	Dondurma, salata sosu
Şişlik maddesi	İşlenmiş et ürünleri
Pıhtılaşma inhibitörü	Peynir, dondurulmuş gıdalar
Sinerjik jel oluşumu	Sentetik et jelleri
Kıvamlaştırıcı	Reçel, soslar, şuruplar, tutta dolguları

EPS üreten LAB' leri süt ürünlerinde geniş yelpazede kullanım alanına sahiptir (Duboc ve Mollet, 2001). Çizelge 1.4' de EPS üreten LAB' nin buldukları süt ürünleri verilmiştir. Yoğurt ve fermente sütlerde viskozitenin artmasına yardımcı olur, süt pıhtısının yapısını ve kıvamını iyileştirir ve yoğurtların sulanma özelliğini azaltmaktadır.

Çizelge 1.4. EPS Üreten LAB'leri, Bifidobakteri ve Propionibakteri İçeren Bazı Süt Ürünleri

Cins	Tür	Süt Ürünleri
<i>Lactococcus</i>	<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	İskandinav fermente sütler, peynirler
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	Yoğurtlar, fermente sütler
	<i>L. acidophilus</i>	Probiyotik fermente sütler
	<i>L. kefiranofaciens</i>	Kefir
<i>Leuconostoc</i>	<i>Leu. mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i>	Kefir
<i>Streptococcus</i>	<i>S. macedonicus</i>	Peynirler (Yunan, İtalyan)
	<i>S. thermophilus</i>	Yoğurt, Mozzarella peyniri
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Probiyotik fermente sütler
	<i>B. longum</i>	Probiyotik fermente sütler
<i>Propionibacterium</i>	<i>Pr. freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i>	İsveç peynirleri

1.8.1. Yoğurt üretimindeki fonksiyonları

Yoğurdun mikro yapısını birleştirilmiş kazein partiküllerinin matriksi oluşturmaktadır. Yağ kürecikleri bu matris içinde yer almaktadır. Jellerin boşlukları serum ve bakteri hücreleri ile doldurulur (Toba ve ark., 1990).

Yoğurt üretimi sırasında sıkça karşılaşılan gevşek yapı ve serum ayrılması gibi fiziksel problemler, tüketici ve üretici için istenmeyen bir durumdur. Genellikle uygun katkı maddelerinin ilave edilmesiyle bu tür sorunlar çözümlense de son yıllarda tüketici ve üreticiler doğal yollardan sorunların çözümüne gitmektedirler (Duboc ve Mollet, 2001).

Aromalı ve meyveli yoğurtların üretiminde uygulanan mekaniksel işlemlerle bozulan dokunun sağlamlştırılması için kimyasal kökenli maddelerden yararlanılmaktadır. Ancak son yıllarda bitkisel kökenli hidrokolloidlere alternatif olarak LAB'lerinin koyulaştırıcı etkiye sahip suşlarından yararlanılmaktadır (Kılıç, 2001).

Heteropolisakkaritler, süt ürünlerinde özellikle yapının düzenlenmesi, viskozite ve su tutma kapasitesinin geliştirilmesi üzerinde etkili olmaktadır (Duboc ve Mollet, 2001). Bu amaçla EPS üreten *S. salivarius* ssp. *thermophilus* ve *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşları yoğurt yapımında yapıyı düzeltmek,

viskoziteyi artırmak ve serum ayrılmasını azaltmak amacıyla geniş çapta kullanılmaktadır (Ruas-Madiedo ve ark., 2002a).

LAB' lerinin bulunduğu ortamda vizkozitenin zamana bağlı olarak artması, yalnızca oluşan polimer miktarına bağlı değil polimerin tipi ve laktik asit gibi oluşan metabolik ürünlere de bağlıdır. Yapılan bir çalışmada *L. lactis ssp. cremoris'* in farklı suşları tarafından üretilen EPS' lerin, fermente süt ürünlerinin viskozitesi üzerine etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. İncelemeler sonucunda, pıhtısı parçalanmış fermente süt ürünlerinin viskozitesinin LAB'leri tarafından üretilen EPS' lerin viskozitesine bağlı olduğu ve viskozitesi 1,5 m³ /kg 'ın altında olan EPS' lerin, ürünün viskozitesi üzerine herhangi bir etkide bulunmadığı tespit edilmiştir (Ruas-Madiedo ve ark., 2002b).

Viskozite üzerine etkili olan bir diğer faktör ise, EPS' lerin zincir sertliğidir. *L. sake* 0-1 suşu tarafından oluşturulan EPS' lerin ksantan gamı ile yaklaşık olarak aynı molekül ağırlığına sahip olmasına rağmen viskozitesi daha yüksektir. Bu özellik EPS' lerin kimyasal yapısının farklı olmasından kaynaklanmaktadır. β -(1-4) bağlarını içeren monosakkaritlerin, α -(1-4) ve β -(1-3) bağ özelliği gösteren monosakkaritlere kıyasla daha sert zincir yapısına sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca dallanma ve yan gruplar da sertlik üzerine önemli derecede etki etmektedir (Ruas-Madiedo ve ark., 2002a).

Yoğurt yapısındaki EPS rolünü aydınlatmak için EPS üretmeyen suşlar ve ekzopolisakkrin üreten suşlarla deneyler yapılmıştır. Yapılan deneyler sonucunda iki farklı yoğurt kültürü karşılaştırılmış ve EPS üreten mikroorganizmanın bulunduğu yoğurdun viskozitesinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Amatayakul ve ark., 2006; Bouzar ve ark., 1997). Yapılan diğer çalışmalara göre viskozitenin daha yüksek olması için yüksek molekül ağırlığına ve sıkı bir konformasyona sahip polisakkaritlerin olması gerektiği tespit edilmiştir (De Vuyst ve ark., 2007).

Yoğurt üretiminde tüketici tarafından pürüzsüz ve kremi dokulu yoğurtlar daha çok tercih edilmektedir. Yoğurt fermantasyonu sırasında ürünün pH değeri azalır ve süttaki laktoz laktik aside dönüşür. pH değeri 5,3' e ulaştığında ve geri dönüşümsüz jel oluştuğu zaman kazein miselleri destabilize edilir. Fermantasyon sonucunda süt pıhtısının hafif homojenizasyonu ile yoğurt elde edilmiş olur.

1.8.2.Kefir üretimindeki fonksiyonları

Kefir tanelerinin süte ilave edilmesiyle elde edilen kefir, asidik ve alkolik fermantasyonların bir arada olduğu ve geçmişi olan kültüre edilmiş bir süt ürünüdür (Merin ve ark., 1986; Kneifel ve ark., 1991).

Araştırmacılar, kefirin anavatanının Kafkas Dağları olduğunu bildirmişlerdir. Kefirin Kafkasya 'da Elburus Dağları eteklerinde yapıldığı ve yapımının gizli tutulduğu; Rusya' da yayınlanan "Kefyr" kitabının 1984 yılında Moritz Schulz tarafından Almanca' ya çevrilmesi ile Avrupa' da tanındığı açıklanmıştır (Kwak ve ark., 1996).

Geleneksel yöntemlerde kefir taneleri oda sıcaklığında yaklaşık olarak 24 saat fermantasyondan sonra süzgeçten geçirilerek elde edilir. Birinci fermantasyondan sonra süt tüketilebilir ya da süspansiyon içindeki hücreler tarafından fermente edilerek pastörize sütün aşılınması için kullanılabilir. Bu yöntemle grup halinde kefir üretmek mümkündür. Sanayi üretimi için seçilen başlangıç kültürleri farklı türler arasında bir dengeye ulaşmak için kullanılmaktadır. Bu süreçte fermantasyon işlemi LAB fermantasyonu (laktik asit biyosentezi) ve mayalar (etanol üretimi) olarak iki faza bölüdüğü zaman daha fazla tekrarlanır ve kontrol edilmektedir.

Kwak ve arkadaşlarına göre, kefir taneleri laktobasil, laktokok ve lökonostok türlerini içerir. Laktobasil türlerini *L. caucasicus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. kefiranofaciens*, *L. cellobiosus*, *L. bulgaricus*, *L. helveticus spp. jugurti* ve *L. lactis*, laktokok türlerini *L. lactis spp. lactis*, *L. lactis spp. lactis biovar diacetylactis*, *L. lactis spp. cremoris*, *S. thermophilus*, *L. filant* ve *S. durans* ve yaygın lökonostokları *Leu. dextranicum*, *L. mesenteroides* ve *L. kefir* olarak belirtmişlerdir. Kefir tanelerindeki mayaları ise *Kluyveromyces lactis*, *K. marxianus*, *K. fragilis*, *Torula kefir* ve *Saccharomyces kefir* gibi laktozu fermente eden mayalar ve *S. cerevisiae*, *S. carlsbergensis* gibi laktozu fermente edemeyen mayalar olarak bildirmişlerdir (Kwak ve ark.,1996).

Angula ve arkadaşları, kefir tanelerinde laktozu fermente edemeyen mayaların laktozu fermente eden mayalara göre daha fazla olduğunu ve LAB'

lerinden *Lactobacillus* cinsi bakterilerin daha baskın olduğunu tespit etmişlerdir (Angula ve ark., 1993).

Ayrıca İskandinav ülkelerinde yaygın bir üretim potansiyeline sahip olan Vili ve Longfil gibi fermente süt ürünlerinin üretiminde istenilen yapının oluşması için EPS oluşturan *L. lactis ssp. cremoris* suşundan yararlanılmaktadır. Fermente süt ürünü olan Viliden izole edilen bu bakterinin ramnoz, glikoz ve galaktozdan oluşan EPS ürettiği belirlenmiştir (Duboc ve Mollet, 2001).

1.8.3. Peynir üretimindeki fonksiyonları

EPS üreten LAB'leri genellikle yoğurt ve diğer fermente süt ürünlerinin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak EPS' ler, mükemmel su tutma kapasitesine sahip olmaları nedeni ile özellikle düşük yağlı peynirlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirmek amacıyla peynir teknolojisinde de geniş bir kullanım alanı bulmuştur (Broadbent ve ark., 2001). Düşük yağlı peynirlerde yağ oranının az olmasından dolayı peynir sert ve lastiğimsi bir yapı kazanmakta ve erimesi için daha fazla ısıya gereksinim duyulmaktadır (Low ve ark., 1998). Bu da mozzarella tipi peynirler için önemli bir dezavantajdır. Genellikle pizza üretiminde yaygın olarak kullanılan mozzarella peynirinin iyi bir erime özelliğine sahip olması gerekmektedir. Bu nedenle erimenin zor gerçekleştiği yağ oranı düşük peynirlerde, bu kusurun önlenmesine yönelik birçok çalışma yapılmıştır (Broadbent ve ark., 2001).

Low ve diğerleri (1998), *L. delbrueckii ssp. bulgaricus MR-1R* ve *Str. salivarius ssp. thermophilus MR-1C* suşları tarafından oluşturulan EPS' lerin su bağlama özellikleri tespit etmişlerdir. Elde edilen bulgular neticesinde, *Str. salivarius ssp. thermophilus MR-1C'* nin peynirinin su seviyesini önemli miktarda artırdığı ve bu etkinin aynı bakteri tarafından üretilen kapsüler EPS' ye bağlı olduğu belirlenmiştir (Low ve ark., 1998). Duboc ve mollet tarafından yapılan benzer bir çalışmada, EPS üreten *L. Helveticus'* un mozzarella peynirinde su tutma kapasitesini artırdığı tespit edilmiştir (Duboc ve Mollet, 2001).

Topisirovic ve arkadaşları ev yapımı peynirlerden izole edilen LAB gıda koruyucusu olarak kullanımlarını incelemiştir. Araştırmacılar izolatlardan bir

kısımının bakteriyosin üretme potansiyeline sahip olduğunu ve bu izolatların *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus flavus*, *Salmonella paratyphi* üzerinde antimikrobiyal aktivite sergilediğini bildirmişlerdir (Topisirovic ve ark., 2006). Ülkemizde de LAB' lerinin peynir üretiminde gerek starter kültür olarak gerekse probiyotik olarak ilavesi üzerine pek çok çalışma mevcuttur. Akgün beyaz peynir üretiminde *Lactobacillus sake*'nin starter kültür olarak kullanılabilme olanaklarını araştırmış ve *L. sake*'nin beyaz peynir kültürü olarak kullanılabileceğini, bu kültürün kullanımı ile peynirlerde olgunlaşma indeksinin arttığını bildirmiştir (Akgün, 1995).

1.8.4.Et üretimindeki fonksiyonları

Ülkemizde sucuk üretiminde starter kültür kullanımı bazı büyük işletmeler hariç pek yaygın değildir ve fermantasyon genellikle hammaddeden gelen doğal flora ile gerçekleştirilmektedir. Fermente sucuklarda; düşük su aktivitesi, nitrit ve tuz, ayrıca üründe bulunan veya starter kültür olarak ilave edilen LAB' lerinin oluşturduğu organik asitler sonucu meydana gelen düşük pH değerleri nedeniyle patojenlerin ve bozulma etmeni mikroorganizmaların gelişmeleri önlenmektedir. Bu faktörlerin etkisi ile üründe *L. monocytogenes* gibi patojen bakterilerin baskılandığı, ancak etkenin son üründe tamamen yok edilemediği ve kesin bir koruma sağlanamadığı ifade edilmektedir. Bu nedenle starter kültürün bakteriyosin oluşturma yeteneğine sahip olmasının ürünün mikrobiyolojik güvenliğine katkıda bulunacağı düşünülmektedir (Erol ve ark., 1999; Työpönen ve ark., 2003).

1.8.5.Diğer ürünlerde fonksiyonları

L. plantarum, sebzelerin fermantasyonunda kullanılan, endüstriyel öneme sahip, aside dayanıklı bir LAB'sidir (Akçelik ve Ayhan, 1988; Barath ve ark., 1999; Turantaş, 1998). Bitkilerin doğal mikroflorasında bulunan ve antagonisitk etkisi nedeniyle düşük pH, organik asit, hidrojen peroksit, diasetil gibi metabolitlerin yanında ürettiği bakteriyosinlerle diğer mikroorganizmaların

gelişimlerini inhibe eder. Bu tür sebzelerde EPS üreterek sebzelerin raf ömrünü arttırmakta ve daha uzun süre canlı kalmasını sağlamaktadır.

Pediococcus cerevisiae ve *Pediococcus acidilactici* türleri en önemli starter kültürler arasında yer almaktadır. Bu starterler özellikle turşu ve sucuk fermantasyonunda rol oynarlar. Şarap ve bira gibi alkollü içkilerde ise diasetil üretmeleri nedeniyle kalite kaybına neden olurlar (Turantaş, 1998). Sucuklarda EPS üreterek sucuğun kendine has tadının oluşumuna katkı sağlamaktadır ve diğer zararlı mikroorganizmaların gelişimini inhibe ederek bozulmayı geciktirmektedir.

Laktik asit fermantasyonu sonucu elde edilen şalgam suyu, kırmızı renkli, bulanık, ekşi lezzetli bir içecektir. Laktik asit, bu ürünlerin dayanıklılığı ve tadı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Canbaş ve Deryaoğlu, 1993; Tangüler ve Erten, 2009a). LAB'leri tarafından üretilen EPS' ler sindirimi kolaylaştırıcı, ferahlatıcı, sindirim sisteminin pH'sını düzenleyici ve vücudun bazı minerallerden daha fazla yararlanmasını sağlayıcı özellikler kazandırmaktadır (Özhan, 2000).

L. plantarum, *L. casei*, *L. acidophilus* ve *L. lactis*, *L. mesenteroides*' i içeren starter kültür ile yapılan çalışmalarda buğday ekmeğinde bozulmalara yol açan (rope oluşumu) *Bacillus* strainlerinin *L. plantarum* LM025 ve *L. alimentarius* LM07 kullanımı ile önlenemediği bildirilmiştir (Settanni ve Corsett, 2008). Bu engelleme mekanizması bakterilerin ürettiği EPS' ler tarafından sağlanmaktadır. EPS' ler ekmekte zararlı mikroorganizmaların gelişimini engelleyici salgılar oluşturmakta ve besinin uzun süre bozulmadan kalmasını sağlamaktadır.

Pseudomonas spp. tarafından üretilen ekzopolimerlerin ve biofilmlerin de çevresel önemine dikkat çekilmektedir. EPS' nin yüzey ve ara yüzey gerilimini azaltarak kirli alanların temizlenmesi (biyoremediasyonu) ve birçok endüstriyel uygulamalarda kullanılan biyoemülsülfite aktivitesi ve (Calvo ve ark., 2002) buna ilaveten topraktaki organik bileşiklerin ortadan kaldırılması için, bu bileşikleri parçalayan ve eriten, biyoremediasyonda kullanım potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir (Tortora, 1991).

1957 yılında Tokyo'da yapılan Atom Enerjisi Konferansı'nda Prof. Higusi, radyoaktivitenin neden olduğu hastalıkların iyileştirmesinde yoğurdun mükemmel bir ilaç olduğunu bildirmiştir. Prof. Higusi bu durumu fareler ve insanlar üzerinde

yaptığı denemelerde sürekli olarak bir yıl atom ısınlarının etkisinde kalan ve bu süre içinde yoğurdun esas teşkil ettiği yiyeceklerle beslenen kimselerde radyoaktiviteden ortaya çıkan arızalara rastlanmadığını belirtmiştir (Yaygın, 1981).

1.9. EPS'nin Sağlık Alanında Uygulamaları

Lactobacillus ve *Bifidobacterium* fonksiyonel gıdalarda insan tüketimi için probiyotik olarak kullanılan en yaygın cinslerdir. İnsan bağırsak sistemi EPS üreten suşların izolasyonu için iyi bir ortam oluşturmaktadır (Ruas-Madiedo ve ark., 2007). EPS üreten suşlar bağırsak mukozasına yapışma ve kolonizasyonu sağlamada bir rol oynamaktadır (Ruas-Madiedo ve ark., 2006). Fizyolojik rolü ve teknolojik uygulamalarına ek olarak, LAB tarafından üretilen EPS, gastrik ülsere karşı koruma, prebiyotik etkisi, kolesterol düşürücü aktivitesi, immun cevabı modüle etme yeteneği ve anti-tümöral aktivitesi uygulamaları ile sağlık alanında yararları olduğu iddia edilmektedir. Kolesterol seviyelerini düzenleme yeteneği ilk fermente sütte EPS üreten *L. lactis subsp. cremoris* SBT 0495 suşu ile hiperkolesterolemik diyet ile beslenen sıçanlarda gösterilmiştir (Nakajima ve ark., 1992). Yüksek yoğunluklu lipoproteinler-(HDL-) kolesterol bu farelerde fermente sütte EPS üretimi olmayan suşla beslenen farelere oranla daha yüksek bulunmuştur. EPS kan kolesterol seviyelerini düzenleyen mekanizmaların ne olduğu tam olarak bilinmemektedir (Maeda ve ark., 2004).

Polisakkaritler aktif bağışıklığı olmayan aktif moleküller olarak kabul edilmiştir ama son yıllarda belirli mikrobiyel polimerler gibi kuvvetli imünmodüller maddeler olarak davrandıkları gösterilmiştir (Tzianabos, 2000; Cobb ve Kasper, 2005). Özellikle çeşitli çalışmalarda LAB' lerinin dış yüzeyinde bulunan EPS'nin bağışıklık cevabında varsayılan bir modülasyon olduğunu bildirilmiştir (Çizelge 1.5).

Çizelge 1.5. LAB ve Bifidobakteriler Tarafından Üretilen EPS'nin İmmunomodulatör Etkisini Raporlama Çalışmaları

	EPS üreten suşlar	Yararlı etkileri	Referanslar
In vitro çalışmalar			
İnsan periferel kan lenfositlerinin uyarılması	<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	T-hücrelerinin çoğalması	Forsén ve ark., 1987
Kemirgen dalak hücrelerinin kültürleri	<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> KVS20	B-hücresi mitojen	Kitazawa ve ark., 1993
Kemirgen makrofaj stimulyasyon	<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> KVS20	INF- γ ve IL-1 α üretimi	Kitazawa ve ark., 1996
Kemirgen splenositleri ve Peyer lekeleri	<i>B. adolescentis</i> M101-4	mitojenik aktivitesi	Hosono ve ark., 1997
Kemirgen splenositleri, Peyer lekeleri ve lenfosit Kültürleri	<i>L. delbureckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> OLL 1073R-1	Dalak hücrelerinin, B-hücreleri ve Peyer lekelerinin mitojenik cevabı	Kitazawa ve ark., 1998
Fare ve insan PBMC splenosit kültürleri	<i>L. rhamnosus</i> RW-9595M	TNF, IL-6 ve IL-12'nin Artışı	Chabot ve ark., 2001
Kemirgen makrofaj çizgi kültürleri	<i>L. delbueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> OLL1073R-1	IL-1 α , IL-6, IL-10, IL-12-p40 ve TNF- α artışı, IL-12 p35 Azalışı	Nishimura-Uemura ve ark., 2003
İntestinal epitelyal çizgileri HT-29, HCT-116 ve Caco-2 çoğalması	<i>B. bifidum</i> BGN4	HT-29 ve HCT-116 çoğalmasını engeller	You ve ark., 2004
Fare splenositlerinin uyarılması	<i>L. delbueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> OLL1073R-1	INF- γ Artışı	Makino ve ark., 2006
EPS'lerin sitotoksik aktivitesi ile MTT testi	<i>Enterococcus faecium</i> D-36 suşu	MUC5AC gen ekspresyonu seviyesinde azalma	Altuğ B., 2013
In vivo çalışmalar			
Sarkoma S180 ile farelerde EPS'nin periton içine enjeksiyonu	<i>L. helveticus</i> var. <i>jugurti</i> <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> KVS20	Yaşama artışı	Oda ve ark., 1983 Kitazawa ve ark., 1991
EPS+2,4-dinitrofenil-ovoalbuminin farelerde periton içine enjeksiyonu	<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> SBT0495	Antikor üretimi (yardımcı madde etkisi)	Nakajima ve ark., 1995
İndüklenen sıçanlarında yapılan EPS'nin mide içi uygulaması	<i>L.delbureckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> B3 <i>L.delbureckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> A13	kolon enflamasyonunun zayıflatılması	Sengül ve ark., 2005
Farelerde EPS'nin ağızdan verilmesi	<i>L. delbueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> OLL1073R-1	Doğal öldürücü aktivite artışı, INF- γ Artışı, IL-4 azalması	Makino ve ark., 2006
Farelerde EPS'nin ağızdan verilmesi	<i>L. kefiranofaciens</i> ATCC 43761	Bağırsak mukozası tepkisinin oluşturulması (IgA artışı) ve sistemik bağışıklık (sitokin salınımı)	Vinderola ve ark., 2006

Bu makalede İskandinav fermente sütü viiliden izole edilen *Streptococcus cremoris* suş olarak adlandırılır. IgA: immunglobulin A; IL: interlökin; INF- γ : interferon- γ ; TNF: tümör nekroz faktörü olarak verilmiştir.

EPS' ler sadece bakteriyi saran bir biyofilm tabakası olarak fonksiyon göstermeyip ticari amaçla da kullanılmaktadır. EPS' ler aynı zamanda anti-tümör (Kitazawa ve ark., 1991), antivirüs, ve ateş düşürücü etmen olarak, ilaç sanayisinde de kaplama materyali olarak pek çok fizyolojik aktivitelere katkıda bulunurlar ayrıca interferon, trombosit yığınları birikmesi ve faktör sentezlerini uyaran koloniler için teşvik edici olarak kullanılırlar. Dekstran-demir kompleksi anemi vakalarında, dekstran-kalsiyum kompleksi ise hayvan beslemede hipokalsemi tedavisinde kullanılır. Ağ yapılı sephadeks dekstranlar ise, biyolojik maddelerin saflaştırılması ve fraksiyonlara ayrılmasında devreye girmektedir (Calazans ve ark., 1997; Margaritis ve Pace, 1985).

İdrar yolları enfeksiyonlarına lactobacillus türlerinin olumlu etkisi yapılan araştırmalarla belirlenmiştir. İdrar yolları patojenlerine engel olmada; tüm canlı lactobacillus hücre duvarlarına ait analizler, bu mikroorganizmaların idrar yolları epitel hücrelerine bağlanmasından lipoteikoik asidin sorumlu olduğunu göstermiştir. Epitelyumu kaplayan lactobacillus türleri patojenlerin reseptörlere ulaşmasını önlemekte, idrar yollarına ait normal floranın patojenlere karşı korunmasını sağlamaktadır (Raffle ve ark., 1956).

Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda bazı LAB' lerinin, kronik gastrit, mide ve on iki parmak bağırsağı ülseri hatta mide kanserinin önemli etkenlerinden biri olan *Helicobacter pylori*'ye antogonistik etki yaptığı rapor edilmiştir. Özellikle lactobacillus cinsi türlerinde üretilen laktik asit ve bakteriyosin gibi metabolitlere bağlı olarak *H.pylori*' nin üreaz aktivitesinin önemli derecede azaldığı belirlenmiştir (Böke, 2005).

LAB' leri tarafından üretilen EPS' ler probiyotik olarak görev yapmaktadır. EPS canlılarda sindirime yardımcı olarak probiyotik mekanizmaya yardımcı olmaktadır. EPS' lerin sağlıkta ki yararlarından bazıları olarak antitümör, anti ülser, immünomodülatör, antiviral ve kolesterol düşürücü faaliyetleri gösterilmektedir. *L. lactis subsp. cremoris* özel reolojik özelliklerinden dolayı yoğurt üretimi için süt endüstrisinde geniş uygulama sahiptir. Yoğurtların

üretiminde halk sağlığı için probiyotiklerden yararlanılmaktadır. Böylece probiyotikler ve EPS' ler benzer etkiye sahip olmaktadır.

1.10. Kolon Sağlığı İçin Polisakkaritler

LAB' leri tarafından üretilen EPS' ler insan ve ya hayvan sağlığında immünomodülatör özellikleri, antiviral aktivite, antioksidan aktivite ve antihipertansif aktivite gibi çeşitli fonksiyonel rollere sahiptir, aynı zamanda doku gelişimi için gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Chabot ve ark., 2001; Maeda ve ark., 2004; Kodali ve ark., 2008; Maeda ve ark., 2012). Prebiyotikler sindirilmeyen oligosakkaritlerdir, kolonda ki bifidobakteri ve laktobasil gibi bakteriyel türlerin sınırlı sayıda büyümesini ve aktivitesini uyarır. Zararlı bakteriler amonyak, hidrojen sülfid ve konağa zararlı aminler gibi maddeler oluştururlar. Bifidobakteri ve laktobasil gibi yararlı bakteriler zararlı bakterilerin çoğalmasını inhibe eder ve hücre bileşenleri konağın bağışıklık sistemini uyarır (Mitsuoka, 1992). Mide- bağırsak sisteminde hem yararlı hem zararlı bakterilerin çeşitli tiplerinden bulunmaktadır ve sayıları sistem boyunda değişiklik göstermektedir. Mide- bağırsak mikro flora dengesinde konakçı sağlığının dışkılama, besin emilimi gibi farklı yönlerinin etkisi bulunmaktadır. Stres, antibiyotik tüketimi, enfeksiyon, gıda zehirlenmesi ve doğal yaşlanma süreci gibi birkaç faktör bu dengeyi altüst edebilir. Bozulan bu dengenin düzeltilmesi için yararlı bakterilerin büyüme ve aktivitesi gıdalara özel katkı maddeleri eklenerek arttırılabilir. Çeşitli oligosakkaritler probiyotikler olarak belirlenmiştir ve bunların konakçı kolondaki bifidobakterilerin sayısını arttırdığı tespit edilmiştir. Galakto-oligosakkaritler (GOS) ve frukto-oligosakkaritler (FOS) önemli prebiyotikler olarak kabul edilir. Yiyecekler mide- bağırsak mikro florasını dengelemek için galaktosilsükraz, soya oligosakkaritler, laktoz, GOS, FOS, izomalto-oligosakkaritler, rafinozi ksilo-oligosakkaritler ve bira mayası hücre duvarı gibi işlevsel katkı maddeleri içermelidir (Tsuda ve ark., 2008).

LAB' leri tarafından üretilen bazı EPS' ler sağlık alanında anti-tümör ajanları olarak kullanılmaktadır. Anti-tümör aktivitesi ile kanser hastalarında artan ölüm oranlarında bir düşüş görülmektedir. Kemoterapi tedavilerinde kullanılan

bazı ilaçların yan etkilerinin olduğu belirlenmiştir (Yang ve ark., 2013). Güvenilir doğal kaynaklar olan EPS' ler yapay antitümör ajanları için yedek olarak hizmet vermektedir. Bu tür çalışmalarda kullanılan bazı LAB'leri *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. lactis* ve *L. casei*. *L. plantarum* dur. Son zamanlarda *L. plantarum*are suşu kolesterol düşürücü, karaciğer koruyucu gibi özellikleri nedeni ile probiyotik olarak kullanılmaktadır (Huang ve ark., 2013; Rishi ve ark., 2011).

2. MATERYAL VE METOD

2.1. MATERYAL

2.1.1. Süt ve süt ürünü örneklerinden izole edilen örneklerin temini ve laboratuvara getirilmesi

Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarında daha önce ki çalışmalarda süt ve süt ürünlerinden izole edilerek -85°C’de stoklanan laktik asit bakterilerinden seçilen 163 izolat çalışmamızda kullanılmıştır.

2.1.2. Test mikroorganizmaları

Çalışmamızda kullanılan test mikroorganizmaları Çizelge 2.1.’de verilmiştir. Çalışmalar sırasında kullanılan test mikroorganizmaları uzun vadede %15’lik gliserol içerisinde -85°C’de, kısa süreli olarak ise +4°C’de nutrient broth içerisinde saklanmıştır. Kullanılan bütün test mikroorganizmaları, analizlerden önce stoktan çıkarılarak canlandırılmış, saflık kontrolü yapılmış ve daha sonra testlerde kullanılmıştır.

Çizelge 2.1. Antimikrobiyal aktivitelere kullanılan test mikroorganizmaları

Mikroorganizma	Kültürün Temin Edildiği Yer	Optimum Gelişme Sıcaklığı
<i>Staphylococcus aureus</i>	Anadolu Üniv. Fen Fakültesi	35°C
<i>Escherichia coli</i>	Anadolu Üniv. Fen Fakültesi	35°C
<i>Candida albicans</i>	Anadolu Üniv. Fen Fakültesi	35°C
<i>Candida glabrata</i>	Anadolu Üniv. Fen Fakültesi	35°C
<i>Listeria monocytogenes</i>	Anadolu Üniv. Fen Fakültesi	30°C
<i>Listeria monocytogenes 1</i>	Anadolu Üniv. Fen Fakültesi	30°C



2.1.3. Besi ortamları

2.1.3.1. Beyin kalp infusion (BHI) yumuşak agar (53286 Sigma)

Sığır kalbi	5 g
Dana beyni	12,5 g
Di sodyum hidrojen fosfat	2,5 g
Glikoz (D+)	2 g
Pepton	10 g
Sodyum klorür	5 g
Agar	7 g
Distile su	1000 ml.

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH $7,4 \pm 0,2$ 'ye ayarlanmış ve 121°C 'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.2. Beyin kalp infusion (BHI) yumuşak agar %1 sükröz ve %10 konsantre kongo kırmızısı

Daha önce verilmiş olan BHI agar içerisine %1 sükröz ilave edilerek distile suda çözüldükten sonra 121°C 'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiş ortam içerisine %10 olacak şekilde konsantre kongo kırmızısı ilavesi yapılmıştır (Stingele ve ark., 1996).

2.1.3.3. Mueller hinton agar (70191 Fluka)

Sığır eti–kalp ekstraktı	4 g
Kazein hidrolizat	17,5 g
Nişasta	1,5 g
Agar	17 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH $6,8 \pm 0,2$ 'ye ayarlanmış ve 121°C 'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.



2.1.3.4. MRS agar (Lactobacillus Agar acc. To DEMAN, ROGOSA ve SHARPE) (1.10660, Merck)

Diamonyum hidrojen sitrat	2 g
Dipotasyum hidrojen fosfat	2 g
Glikoz	20 g
Magnezyum sülfat	0,2 g
Mangan sülfat	0,04 g
Et ekstraktı	8 g
Pepton	10 g
Sodyum asetat	5 g
Maya ekstraktı	4 g
Tween® 80	1 ml
Agar	14 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH 5,4± 0,2' ye ayarlanmış ve 121° C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir

2.1.3.5. MRS agar % 6,0 tuz ilaveli

2.1.3.4' de verilmiş olan MRS agar ortamı içerisine 60gr / 1000 ml. olacak şekilde sodyum klorür ilavesi yapılmış ve pH 5,4'e ayarlanmış olan içerik distile suda çözüldükten sonra 121°C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.6. MRS agar %7,5 tuz ilaveli

2.1.3.4' de verilmiş olan MRS agar ortamı içeriğine 75gr / 1000 ml. olacak şekilde sodyum klorür ilavesi yapılmış ve pH 5,4'e ayarlanmış olan içerik distile suda çözüldükten sonra 121°C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.7. MRS agar %10 tuz ilaveli

2.1.3.4' de verilmiş olan MRS agar ortamı içerisinde 100gr / 1000 ml. olacak şekilde tuz ilavesi yapılmış ve pH 5,4'e ayarlanmış olan içerik distile suda çözüldükten sonra 121°C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.8. MRS agar laktoz ilaveli

2.1.3.4' de verilmiş olan MRS agar ortamının içerisinde glikoz çıkartılarak yerine aynı miktarda laktoz ilavesi yapılmış ve pH 5,4'e ayarlanmış olan içerik distile suda çözüldükten sonra 121°C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.9. MRS agar fruktoz ilaveli

2.1.3.4' de verilmiş olan MRS agar ortamının içerisinde glikoz çıkartılarak yerine aynı miktarda fruktoz ilavesi yapılmış ve pH 5,4'e ayarlanmış olan içerik distile suda çözüldükten sonra 121°C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.10. MRS agar sükroz ilaveli

2.1.3.4' de verilmiş olan MRS agar ortamının içerisinde glikoz çıkartılarak yerine aynı miktarda sükroz ilavesi yapılmış ve pH 5,4'e ayarlanmış olan içerik distile suda çözüldükten sonra 121°C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.11. MRS Broth (69962, Fluka)

Dipotasyum hidrojen fosfat	2 g
Glikoz	20 g
Magnezyum sülfat heptahidrat	0,2 g

Mangan sülfat tetrahidrat	0,05 g
Et ekstraktı	8 g
Pepton	10 g
Sodyum asetat trihidrat	5 g
Triamonyum sitrat	2 g
Yeast ekstraktı	5 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH 6,2± 0,2' ye ayarlanmış, 1 ml Tween® 80 eklenmiş ve 121°C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.12. Patates dekstroz agar (1.10130, Merck)

Patates ekstraktı	4 g
Glikoz (D+)	20 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.13. Nutrient broth (03856, Fluka)

Et ekstraktı	3 g
Pepton	5 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH 7,0± 0,2' ye ayarlanmış ve 121°C' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.14. Nutrient agar (N 9405, Sigma)

Et ekstraktı	3 g
Pepton	5 g

Agar	15 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH $6,8 \pm 0,2$ ' ye ayarlanmış ve 121°C ' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.15. Arjinin dihidrolaz broth

Pepton	1 g
Sodyum klorür	5 g
Di-potasyum hidrojen fosfat	0,3 g
Fenol kırmızısı	0,01 g
L-arjinin HCl	10 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH $7,4 \pm 0,2$ ' ye ayarlanmış ve 121°C ' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.16. Tryptone soya yeast extract agar

Agar	15.0 g
Kazein enzimatik hidrolizat	17.0 g
Dektroz	2.5 g
Dipotasyum hidrojen fosfat	2.5 g
Soya unu papaik sindirimi	3.0 g
Sodyum klorid	5.0 g
Maya ekstraktı	6.0 g

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH $7,3 \pm 0,2$ ' ye ayarlanmış ve 121°C ' de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.17. Malt extract agar (70145, Fluka)

Agar	15 g
Malt ekstraktı	30 g

Mikolojik pepton 5 g

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH 5,4± 0,2 ' ye ayarlanmış ve 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.18. M-MRS broth (modified deMan Rogosa Sharpe broth)

Dipotasyum hidrojen fosfat	2 g
Magnezyum sülfat heptahidrat	0,1 g
Mangan sülfat tetrahidrat	0,05 g
Sodyum asetat trihidrat	5 g
Triamonyum sitrat	2 g
Tween® 80	1 ml
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH 6,2± 0,2' ye ayarlanmış, 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir (Sharpe, 1979).

2.1.3.19. M-MRS broth % 0,5 tuz ilaveli

2.1.3.18' de verilmiş olan M-MRS broth ortamı içerisine 5gr / 1000 ml. olacak şekilde sodyum klorür ilavesi yapılmış, içerik distile suda çözüldükten sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.20. M-MRS broth % 1 tuz ilaveli

2.1.3.18' de verilmiş olan M-MRS broth ortamı içerisine 10gr / 1000 ml. olacak şekilde sodyum klorür ilavesi yapılmış, içerik distile suda çözüldükten sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.21. M-MRS broth % 2 tuz ilaveli

2.1.3.18' de verilmiş olan M-MRS broth ortamı içerisine 20gr/1000 ml. olacak şekilde sodyum klorür ilavesi yapılmış içerik distile suda çözüldükten sonra 121



°C’de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.22. M-MRS broth % 3 tuz ilaveli

2.1.3.18’ de verilmiş olan M-MRS broth ortamı içerisine 30gr / 1000 ml. olacak şekilde sodyum klorür ilavesi yapılmış, içerik distile suda çözüldükten sonra 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.23. M-MRS broth % 4 tuz ilaveli

2.1.3.18’ de verilmiş olan M-MRS broth ortamı içerisine 40gr / 1000 ml. olacak şekilde sodyum klorür ilavesi yapılmış, içerik distile suda çözüldükten sonra 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.24. M-MRS broth % 2 pepton ve %10 glikoz ilaveli

2.1.3.18’ de verilmiş olan M-MRS broth ortamı içerisine 20gr / 1000 ml. olacak şekilde pepton ve 100gr / 1000 ml. olacak şekilde glikoz ilavesi yapılmış, içerik distile suda çözüldükten sonra 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.25. M-MRS broth % 2 pepton ve %10 laktoz ilaveli

2.1.3.18’ de verilmiş olan M-MRS broth ortamı içerisine 20gr / 1000 ml. olacak şekilde pepton ve 100gr / 1000 ml. olacak şekilde laktoz ilavesi yapılmış, içerik distile suda çözüldükten sonra 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.26. M-MRS broth % 2 et ekstraktı ve %10 glikoz ilaveli

2.1.3.18’ de verilmiş olan M-MRS broth ortamı içerisine 20gr / 1000 ml. olacak şekilde et ekstraktı ve 100gr / 1000 ml. olacak şekilde glikoz ilavesi

yapılmış, içerik distile suda çözüldükten sonra 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.27. M-MRS broth % 2 et ekstraktı ve %10 laktoz ilaveli

2.1.3.18’ de verilmiş olan M-MRS broth ortamı içerisine 20gr / 1000 ml. olacak şekilde et ekstraktı ve 100gr / 1000 ml. olacak şekilde laktoz ilavesi yapılmış, içerik distile suda çözüldükten sonra 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.28. M-MRS broth % 2 maya ekstraktı ve %10 glikoz ilaveli

2.1.3.18’ de verilmiş olan M-MRS broth ortamı içerisine 20gr / 1000 ml. olacak şekilde maya ekstraktı ve 100gr / 1000 ml. olacak şekilde glikoz ilavesi yapılmış, içerik distile suda çözüldükten sonra 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.29. M-MRS broth % 2 maya ekstraktı ve %10 laktoz ilaveli

2.1.3.18’ de verilmiş olan M-MRS broth ortamı içerisine 20gr / 1000 ml. olacak şekilde maya ekstraktı ve 100gr / 1000 ml. olacak şekilde laktoz ilavesi yapılmış, içerik distile suda çözüldükten sonra 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.30. M-MRS broth % 2 casamino asit ve %10 glikoz ilaveli

2.1.3.18’ de verilmiş olan M-MRS broth ortamı içerisine 20gr / 1000 ml. olacak şekilde casamino asit ve 100gr / 1000 ml. olacak şekilde glikoz ilavesi yapılmış, içerik distile suda çözüldükten sonra 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.31. M-MRS broth % 2 casamino asit ve %10 laktoz ilaveli

2.1.3.18' de verilmiş olan M-MRS broth ortamı içerisine 20gr / 1000 ml. olacak şekilde casamino asit ve 100gr / 1000 ml. olacak şekilde laktoz ilavesi yapılmış, içerik distile suda çözüldükten sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.32. M-MRS broth % 0,5 yeast nitrojen base ve %10 glikoz ilaveli

2.1.3.18' de verilmiş olan M-MRS broth ortamı içerisine 5gr / 1000 ml. olacak şekilde yeast nitrojen base ve 100gr / 1000 ml. olacak şekilde glikoz ilavesi yapılmış, içerik distile suda çözüldükten sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.3.33. M-MRS broth % 0,5 yeast nitrojen base ve %10 laktoz ilaveli

2.1.3.18' de verilmiş olan M-MRS broth ortamı içerisine 5gr / 1000 ml. olacak şekilde yeast nitrojen base ve 100gr / 1000 ml. olacak şekilde laktoz ilavesi yapılmış, içerik distile suda çözüldükten sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

2.1.4. Kullanılan boyalar

2.1.4.1. Kristal violet

Kristal viyole	2,0 g
Etil Alkol (% 95)	20 ml
Amonyum Oksalat	0,2 g
Distile Su	20 ml

Kristal violet 10 ml etil alkol içerisinde çözüldükten sonra üzerine ayrı bir erlende 20 ml distile su içerisinde çözülmüş olan amonyum oksalat eklenmiştir Karışım filtreden geçirilerek kullanılmıştır (Speck ve ark., 1976).

2.1.4.2. Safranin

Safranin	0,25 g
Etil alkol (%95)	10 ml
Distile su	100 ml

Safranin alkol içerisinde çözüldükten sonra distile su ilave edilmiş ve 24 saat sonrasında çözelti filtre kâğıdından geçirilerek süzülmüştür (Çotuk ve Anđ-Küçüker, 1992).

2.1.4.3. Lugol

İyot	5 g
Potasyum iyodür (KI)	10 g
Distile su	100 ml

Potasyum iyodür 20–30 ml distile suda çözülmüş ve üzerine iyot eklenmiştir. Ardından çözelti distile su ile 100 ml.'ye tamamlanmıştır (Çotuk ve Anđ-Küçüker, 1992).

2.1.5. Kullanılan Çözeltiler

2.1.5.1. Fizyolojik tuzlu su

Sodyum klorür	85 g
Distile su	1000 ml

Fizyolojik tuzlu su çözeltisi sodyum klorür distile su içerisinde çözümlenerek kullanılmıştır (Tamer ve ark., 1989).

2.1.5.2. %20'lik gliserol çözeltilisi

Gliserol 20 ml

Distile su 80 ml

Gliserol ve distile su karıştırılıp 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildikten sonra kullanılmıştır (Akçelik ve ark., 2000).

2.2. METOT

2.2.1. Süt ve süt ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin canlandırılması

Çalışmamızda kullanılan süt ve süt ürünleri örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar stok kültürleri -85°C ' den alınarak LAB' leri oda sıcaklığında 2 saat bekletildikten sonra MRS broth besi ortamına aktarılarak 35°C 'de %10 karbondioksit içeren ortamda 24-48 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süreci sonunda brothda gelişim gösteren LAB' leri tekrar 5 ml MRS brothda 24-48 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sürecinden sonra bakteriler MRS agar besi ortamına öze yardımıyla çizgi ekim yapılarak %10 karbondioksit içeren koşullarda 35°C 'de ki etüve 24-48 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır (Holt ve ark., 2000).

İnkübasyon süreci tamamlandıktan sonra bu petrilerden saflık kontrolü yapılmıştır. Saf olmayan petrilerde tek düşen, morfolojik olarak birbirinden farklı olan ve LAB' si olduğu düşünülen koloniler (mat, krem rengi, beyaz, küçük koloniler) öze yardımı ile alınarak başka bir MRS agar petrisine çizgi ekim yöntemi ile aktarılmıştır. Ekim yapılan petriler elde edildikleri besi yerinde 48 saat süreyle %10 karbondioksit içeren ortamda inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen izolatların tam olarak saflığı sağlanıncaya kadar izolatlar çizgi ekim yöntemi ile MRS agar petrilerinde pasajlanmıştır (Holt ve ark., 2000).

Saf hale getirilen izolatların ilk olarak gram boyama ve katalaz aktivitelerine bakılmış; elde edilen sonuçlara göre kültürler antimikrobiyal aktivite ve ileriki testlerde kullanılmak için -85°C 'de % 20'lik gliserol içerisinde stoklanmıştır (Holt ve ark., 2000).

2.2.2. İzole edilen laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal aktivite tayini

LAB' lerinin test mikroorganizmalarına karşı, antimikrobiyal aktivitesi sandvic overlay yöntemi ile belirlenmiştir.

2.2.2.1. Sandvic overlay yöntemi

LAB izolatları MRS broth içeren tüplere ekilerek 24 saat süreyle 35 °C' de %10 karbondioksit içeren ortamda geliştirilerek aktif hale getirilmiştir. Daha sonra aktif kültürlerden %1 oranında alınarak tekrar MRS broth içeren tüplere 1 ml inokülasyon yapılmıştır. İnoküle edilen kültürler 24 saat süreyle optimum gelişme koşullarında inkübasyona bırakılmıştır ve bu kültürler çalışma için kullanılmıştır. MRS broth içerisinde gelişimini tamamlayan kültürlerden 5 µl alınarak daha önceden hazırlanmış ve yüzeyi kurumuş olan MRS agar + % 0,2 glikoz içeren petrilere damlatılmıştır. Aynı petride birden fazla kültürün karışmasını engellemek için her petriye en fazla 12 adet izolattan damlatma yapılmıştır. Damlatma işlemi tamamlandıktan sonra petriler 24 saat süreyle, 35°C' de, anaerobik etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon süresinin sonunda gelişimini tamamlayan kültürler üzerine yumuşak agar içine ilave edilmiş olan test bakterileri ilave edilmiştir.

Patojen test mikroorganizmalarının ilavesi için; her bir mikroorganizma için, %7 oranında agar içeren TSYEA (Tryptone Soya Yeast Extract Agar), Nutrient broth ve Malt ekstrakt agar tüpleri hazırlanmıştır. Test mikroorganizmaları Nutrient broth ve Malt ekstrakt agar içerisine ekilerek 37°C'de 48 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Inkübasyon sonrasında test mikroorganizmaları 11000 rpm' de 20 dakika santrifuj edilmiştir. Santrifuj edilen örneklerin süpernatant kısmı dökülerek geriye kalan kısmı hazırlanmış olan serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra test mikroorganizmalarının yoğunluğu Mc Farland No: 2 (10^8 kob/ml) bulanıklığına göre ayarlandıktan sonra kültürden % 0,5 oranında alınarak hazırlanmış olduğumuz TSYEA içerisine inokülasyon yapılmış ve besi yeri iyice karıştırılmıştır. Sonra bu yumuşak agardan 7 mL alınarak LAB' lerinin gelişmiş olduğu MRS agar + % 0,2 glikozlu petriler üzerine yayılmıştır.

Petriler içerdikleri test mikroorganizmasının optimum gelişme sıcaklığında 24 saat süreyle inkübasyona tabi tutulduktan sonra, sonuçlar; LAB' leri etrafında zonların oluşup-oluşmadığına göre değerlendirilmiştir. Çalışma her izolat için çift paralel olarak gerçekleştirilmiştir (González ve ark., 2007).

2.2.3. Laktik asit bakteri izolatlarının tanımlanması

Süt ve süt ürünlerinden izole edilmiş olan ve yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu düşünülerek, seçilmiş olan izolatlar için identifikasyon testleri yapılmıştır. Bu izolatlar için gram boyama ve katalaz aktivitesi basta olmak üzere farklı sıcaklıklarda (4°C, 20°C, 45°C) gelişim, farklı tuz konsantrasyonlarında (%6, %7,5, %10) gelişim, pH 3,9 ve pH 9,6 da gelişim, hidrojen sülfür oluşturma, arjininden amonyak oluşturma gibi testler yapılmıştır. Ayrıca etkili bulunan izolatların Riboprinter Sistem ile tür tanımlamaları gerçekleştirilmiştir.

2.2.3.1. Gram boyama

Christian Gram tarafından 1884 yılında geliştirilmiş diferansiyel bir boyama tekniği olan Gram boyama ile bakterilerin Gram reaksiyonu incelenmiştir. Bakterilerin gram pozitif ve gram negatif şeklinde iki gruba ayrılmasını sağlayan Gram boyama dört farklı kimyasal reagent kullanımı ile gerçekleştirilmiştir.

Boyama işlemi için daha önce saflaştırma işlemleri tamamlanmış olan izolatlar MRS agar petrilerinde öze yardımı ile çizgi ekim yapılarak tekrar aktifleştirilmiş ve çalışma için 24 saatlik taze kültürler kullanılmıştır.

Gram reaksiyonunun gözlemlenebilmesi için; temiz bir lam üzerine bir damla distile su damlatılmış, katı besi yerinde geliştirilmiş olan kültürden öze yardımı ile yaklaşık bir toplu iğne başı büyüklüğünde alınan az miktardaki kültür su içerisinde emülsifiye edilerek tüm lam yüzeyine yayılmıştır. Lam ilk olarak havada kurutulmuş, sonra üç kez bek alevinden geçirilmek suretiyle fiksasyon yapılmıştır. Fiksasyonu gerçekleştirilen preparat ilk olarak kristal violet ile boyanmış ve 1 dakika bekletilmiş ve preparat yüzeyindeki fazla boya distile su yardımıyla giderilmiştir. Sonra lügol çözeltisi tüm lam yüzeyine yayılmış ve 1 dakika bekletilmiştir. Fazla boya distile su ile yıkandıktan sonra preparat 15 saniyelğine %95'lik etil alkol ile muamele edilmiş ve ardından distile su ile tekrar yıkanmıştır. Son olarak preparat 30 saniye süreyle, safranin ile boyanmıştır. Ardından fazla boya distile suyla yıkanarak preparat havada kurumaya

bırakılmıştır. Hazırlanan preparat ışık mikroskopunda immersiyon yağı kullanılarak 100' lük objektifte incelenmiş ve boyama sonucunda oluşan renge göre değerlendirme yapılmıştır. Boyama sonucunda mor renkli görülen bakteriler gram pozitif (+), pembe renkli olanlar ise gram negatif (-) olarak değerlendirilmiştir (Tamer ve ark., 1989).

2.2.3.2. Katalaz testi

Bakterilerde katalaz enziminin varlığını ya da yokluğunu gösteren bu test, katalaz enziminin ortamdaki hidrojen peroksidi su ve oksijene ayırması temeline dayanmaktadır. İzolatların katalaz enzimine sahip olup olmadıklarını belirlemek için; agar üzerinde geliştirilmiş 24 saatlik taze kültürler üzerine birkaç damla %3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) ilave edilerek gaz çıkışı olup olmadığı gözlemlenmiştir. Sonuçta gaz kabarcığının görüldüğü örnekler katalaz pozitif, gaz kabarcığının görülmediği kültürler ise katalaz negatif olarak değerlendirilmiştir (Akçelik ve ark., 2000).

2.2.3.3. Farklı sıcaklıklarda gelişim

Saflaştırılan izolatların sıcaklık toleranslarının belirlenmesi için 24 saatlik aktif kültürlerden MRS agar petrilere inokülasyon yapılmış ve her izolat, 2–7 gün süreyle 4°C, 20°C ve 45°C ' de anaerobik etüvlerde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası petrilere kültür gelişimi kontrol edilmiş ve farklı sıcaklıklarda gelişim derecelendirilerek değerlendirme yapılmıştır. Üremenin olduğu petrilere pozitif, üremenin görülmediği petrilere negatif olarak değerlendirilmiştir (Holt ve ark., 2000).

2.2.3.4. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim

Saflaştırılan izolatların tuza karşı olan toleranslarının belirlenmesi için; sırası ile %6, %7,5 ve %10 oranında tuz içeren MRS agar ortamı hazırlanmış ve 24 saatlik aktif kültürlerden bu üç ortama inokülasyon yapılarak izolatlar 2–7 gün

süreyle anaerobik etüvlerde 35°C inkübasyona bırakılmıştır. İzolatların farklı tuz konsantrasyonlarındaki gelişimi derecelendirilerek sonuçlar değerlendirilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda gelişim gösterenler pozitif, göstermeyenler negatif olarak değerlendirilmiştir (Holt ve ark., 2000).

2.2.3.5. Farklı pH' larda gelişim

İzolatların yüksek asitliğe sahip ortamda gelişip gelişmediğini belirlemek için; 1M HCL ve 1M NaOH ile pH; 3,9 ve pH: 9,6 'ya ayarlanmış MRS broth besi ortamları daha önce tanımlandığı şekilde hazırlanmıştır. Mevcut izolatların 24 saatlik aktif kültürlerinden pH sı 3,9 ve pH sı 9,6' ya ayarlanmış MRS broth ortamlarına inoküle edilmiş ve izolatlar 2–5 gün süreyle optimum gelişme koşullarında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süreci sonunda bulanıklık görülen tüpler pozitif, bulanıklık görülmeyen tüpler ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Lewus ve ark., 1991).

2.2.3.6. Glikozdan gaz oluşumu

Test izolatları optimum olarak geliştikleri MRS brotha ekilerek 24 saat süre ile aktive edilmiştir. Aktive edilen kültürlerden alınarak MRS broth + % 2 glikoz içeren besi ortamlarına inoküle edilmiştir. İnoküle edilen tüplerin içerisine durham tüpleri atılmıştır. Bütün tüpler aerobik veya anaerobik koşullarda 35°C ' de 2-4 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda besi ortamında bulunan durham tüplerinin içerisinde hava oluşumu görülenler pozitif, gaz oluşumu görülmeyen tüpler negatif olarak değerlendirilmiştir (Fung ve ark., 1970; Anon, 2009).

2.2.3.7. Arjininden NH₃ oluşumu

İzolatların Arjininden amonyak (NH₃) oluşturup oluşturmadıklarını belirlemek amacı ile kapaklı tüplere daha önce belirtildiği şekilde arjinin dihidrolaz broth hazırlanmış ve 24–48 saat süresince MRS broth ortamında

geliştirilmiş taze kültürlerden tüplere inokülasyon yapılmıştır. Tüplerin ağızları sıkı bir şekilde kapatıldıktan sonra, kültürler optimum gelişme koşullarında 7–9 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Arjinin dihidrolaz broth ortamı içerisinde bulunan indikatör ortamda alkali madde bulunduğu zaman sarıdan kırmızımsıya doğru bir renk değişimi göstermektedir. Bu nedenle inkübasyon süreci sonunda kırmızı pembe renkte olan tüpler pozitif, değişmeden sarı renkte kalan tüpler negatif olarak değerlendirilmiştir (Papamanoli ve ark., 2003).

2.2.3.8. İzolatların riboprinter sistem ile tanımlanması

Riboprinter sistemi 16S rRNA'yı temel alarak mikroorganizmaların tür tayinlerini gerçekleştiren moleküler karakterizasyon sistemidir. Sistemin temelinde 16S rRNA'nın EcoRI enzimi ile kesilmesi ve jelde koşturulması sonucunda oluşan bant büyüklüklerinin kullanılan marker ile kıyaslanarak sonuca varılması yatmaktadır. Tanımlama işlemleri kitler aracılığıyla, yönetici talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Sistemde tek bir kit kullanımı ile bir seferde 8 farklı örneğin karakterizasyonu gerçekleştirilebilmektedir.

Riboprinter sistem ile tür tayin için ilk önce izolatlar MRS agar ortamında tek koloni düşecek şekilde aktifleştirilmiştir. Katı ortamda geliştirilen aktif kültürlerden steril çubuk yardımı ile 2–3 koloni olacak şekilde steril şartlar altında alınmış ve içerisinde 40 µl tampon çözelti bulunan ependorf tüpüne aktarım yapılmıştır. Aktarım yapılan tüpler 5 saniye vorteks yardımı ile karıştırıldıktan sonra koloni alımı ve karıştırma işlemi bir kez daha tekrar edilmiştir. Vorteksleme işlemi tamamlandıktan sonra ependorflar içerisinde bulunan örnekler sistemin bir parçası olan ependorf setine, her tüpe bir örnek koymak kaydı ile 30 µl miktarında aktarılmıştır. Aktarım işlemi tamamlandıktan ve tüplerin kapakları kapatıldıktan sonra set 25 dakika süresince ısı ile muamele edilmiştir. 25 dakikanın sonunda ependorf seti cihazdan çıkarılarak her tüpün içerisine 5 µl lysing A ve 5 µl liysing B ajanı eklenmiştir. Tüplerin kapakları kapatıldıktan sonra ependorf seti cihaz içerisinde uygun konumuna yerleştirilmiştir. Ardından çalışmada kullanılan enzim olan EcoRI içeren tüp çıkartılmış ve üzerine 18 µl 'lactic agent' ilave edilmiştir. Enzim içeren tüp de cihaz içerisine uygun konuma yerleştirildikten sonra sistemin

çalışması için gerekli olan diğer parçalar (MP konjugat, MP prob ve MP substratdan oluşan MP ortamı; jel kaseti, jel membranı ve ultra saf su) yerleştirilmiş ve cihaz çalıştırılmıştır. Cihazın çalıştırılmasından yaklaşık 12 saat sonra oluşan bantlar ve belirlenen türler sistem içerisinde bulunan veri tabanı ile karşılaştırılarak bakteriler tanımlanmıştır.

2.2.3.9. İzolatların viskozitelerinin ölçülmesi

Çalışmada kullanılan izolatlar ilk olarak MRS broth besisi yerine ekilerek uygun büyüme sıcaklığında canlandırılmıştır. Canlandırılan örneklerden tekrar MRS brotha ekim yapılarak uygun gelişim sıcaklığında 24-48 saat süre ile inkübe edilerek gelişmeleri sağlanmıştır. Gelişen bakterilerin üreme yoğunluğu kontrol edilerek uygun üreme görülen izolatların viskozimetre ile viskoziteleri ölçülmüştür. İzolatlar 10 µl besisi ortamında üretildikten sonra viskozimetre kabına aktararak 100 rpm de döndürülerek ölçüm yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar not edilerek bir sonraki çalışmalarda kullanılmıştır.

2.2.4. İzolatların stoklanması

Mevcut çalışmada süt ve süt ürünlerinden izole edilen tüm bakterilerin, daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere stokları hazırlanmıştır. Stok oluşturma işlemi iki farklı yolla gerçekleştirilmiştir. İlk olarak, %20'lik gliserol çözeltisi içinde örnekler stoklanmıştır. İzolasyon aşaması sonucunda elde edilen ve saf kültür haline getirilen tüm kültürler optimum üreme gösterdikleri katı besisi ortamında geliştirilmiştir. Aynı zamanda %20'lik gliserol çözeltisi hazırlanmış ve çözelti steril, kapaklı ependorf tüpleri içerisine aseptik koşullarda 1 ml olacak şekilde dağıtılmıştır. Saf kültür olduğu kesin olan örneklerin taze kültürleri steril şartlar altında ependorf tüpleri içerisine alınmış ve etiketleme işlemleri de tamamlandıktan sonra stoklar -86°C ' de saklanmıştır. LAB' leri stoklanarak saklama koşullarına karşı, pek çok bakteri grubuna nazaran hassas olduğu için stoklama işlemi sırasında bir petriden bir ependorf tüpüne aktarım yapılmış ve izolatlar çift paralel olarak stoklanmıştır.

2.2.5. Ekstraselüler polisakkarit (EPS) üretimi

2.2.5.1. Laktik asit bakterilerinin ekzopolisakkarit üretiminin belirlenmesi

2.2.5.1.1. Mikrotitre plaka yöntemi ile ekzopolisakkarit üretiminin belirlenmesi

Seçilen izolatlarda biofilm oluşumunun belirlenmesi için mikrotitre plaka yöntemi kullanılmıştır. İlk olarak mikroorganizmalar MRS broth içerisinde 24 saat süre ile inkübe edilerek, mikroorganizmaların taze kültürleri hazırlanmıştır. 96 kuyucuklu ELİSA petrisine farklı şeker kaynaklarına sahip MRS broth besi ortamı aktarılmıştır. Burada glikoz, laktoz, fruktoz ve sükroz şekerleri kullanılmıştır. ELİSA petrisindeki kuyucuklara her bir izolattan 50 µl aktarılmış ve örnekler 37°C de 24- 48 saat süre ile inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon süresinin sonunda örnekler spektrofotometre (Shimadzu, UV-2101PC) yardımıyla 490 nm dalga boyunda okunmuştur. Okumadan sonra plaka içerisindeki besi ortamı boşaltılmış ve plaka iki kez steril distile su ile yıkanmıştır. Plaka üzerine %95 oranında ki etanolden 200 µl aktarılarak 15 dakika bekletilmiştir. Daha sonra plakadaki etanol boşaltılarak plaka 45 dakika süre ile hava ortamında kurumaya bırakılmıştır. Kuyucuklar kuruduktan sonra üzerine 150 µl %1 lik kristal viyole boya çözeltisi ilave edilmiş ve 5 dakika boyanın hücrelere işleme için bekletilmiş, sonra plaka içerisindeki boya boşaltılarak iki kez steril distile su ile yıkanmıştır. Son olarak plaka üzerine 160 µl % 33 ' lük asetik asit ilave edilerek örnekler spektrofotometre (Shimadzu, UV-2101PC) yardımıyla 595 nm dalga boyunda okunmuştur.

Yapılan işlemler sonucunda boyama öncesi ve boyama sonrası örneklerde meydana gelen renk değişimleri ve spektrofotometre değerlerindeki değişimlere göre değerlendirme yapılmıştır (Stepanović ve ark. 1999). Mikrotitre plaka yönteminden elde edilen sonuçlara göre 3 şekilde sınıflandırma yapılmıştır. (OD : boyanmış örnekler, ODc: boyanmamış örnekler) (Christensen ve ark. 1985).

$$OD \leq ODc$$

biofilm oluşumu yok (-)

$OD_c < OD \leq 2 \times OD_c$	zayıf biofilm (+)
$2 \times OD_c < OD \leq 4 \times OD_c$	orta biofilm (++)
$4 \times OD_c < OD$	kuvvetli biofilm (++++)

2.2.5.1.2. Kongo kırmızılı ortamda ekzopolisakkarit üretiminin belirlenmesi

LAB' lerinden EPS üreten fenotiplerinin belirlenmesinde kullanılan bir yöntem Ruthenium red-milk agar plate yöntemidir. Mevcut izolatların ekstraselüler polisakkarit üretim yeteneğine sahip olup olmadığının belirlenmesi için daha önceden belirtilen BHI + % 1 laktoz + konsantre kongo kırmızısı veya ruthenium red içeren besi ortamı hazırlanmıştır.

24 saat süre ile MRS broth ortamında aktifleştirilmiş taze kültürlerden hazırlanmış olan BHI + % 1 laktoz + konsantre kongo kırmızısı veya ruthenium red içeren besi ortamına çizgi ekim yöntemi ile inokülasyon yapılmış. Kültürler optimum gelişme koşullarında 37 °C de 24- 48 saat süre ile inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon süresi sonunda gelişen kültürlerin morfolojik görünümleri incelenmiştir. İzolatlardan siyah renkli koloniler pozitif, renk değiştirmemiş olan sarı renkli koloniler negatif olarak belirlenmiştir (Stingele ve ark.,1996).

2.2.5.2. Ekstraselüler polisakkarit üretimine karbon kaynaklarının etkisi

LAB' lerinin EPS üretim yetenekleri, ortamda var olan şeker kaynağına göre değişiklik gösterebilmektedir. Mevcut izolatların ekstraselüler polisakkarit üretim yeteneklerinin belirlenmesi için dört çeşit MRS agar besi ortamı hazırlanmıştır. MRS agar ortamları arasındaki farklılıklar içerdikleri şeker çeşidinden kaynaklanmaktadır. Çalışma için kullanılan şekerler; laktoz, fruktoz, glikoz ve sükroz olmak üzere dört çeşittir.

24 saat süre ile MRS agar ortamında aktifleştirilmiş taze kültürlerden farklı şeker kaynakları içeren MRS agar ortamlarına inokülasyon yapılmış ve kültürler optimum gelişme koşullarında 24–48 saat süre ile inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon süresi sonunda gelişen kültürlerin morfolojik görünümleri incelenmiş,

mat veya şeffaf renkte ve akışkan kıvamda (viskoz özellik gösteren kültürler) bulunan izolatlar EPS üretme ihtimali olan koloniler olarak belirlenmiştir.

2.2.5.3. Ekstraselüler polisakkarit üretimine azot kaynaklarının etkisi

LAB' lerinin EPS üretim yetenekleri, ortamda var olan azot kaynağına göre değişiklik gösterebilmektedir. Mevcut izolatların ekstraselüler polisakkarit üretim yeteneklerinin belirlenmesi için EPS üretim yeteneği var olduğu düşünülen her izolat için ayrı ayrı olmak üzere, uygun gelişim gösterdikleri şeker kaynağını içeren MRS broth ortamı hazırlanmıştır. Hazırlanan bu ortam içerisine beş çeşit azot eklenmiştir. Çalışma için kullanılan azotlar; pepton, et ekstraktı, maya ekstraktı, casamino asit, yeast nitrojen base (maya azot bazı) olmak üzere beş çeşittir.

24 saat süre ile MRS broth ortamında aktifleştirilmiş taze kültürlerden farklı şeker ve azot kaynakları içeren MRS broth ortamlarına inokülasyon yapılmış ve kültürler optimum gelişme koşullarında 24–48 saat süre ile inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon süreci sonunda kültürlerin hangi şeker ve azot kaynaklarında gelişme gösterdikleri belirlenmiştir.

Daha sonra EPS üretim yeteneği var olduğu düşünülen her izolat için ayrı ayrı olmak üzere, uygun gelişim gösterdikleri şeker ve azot kaynakları içeren MRS broth ortamları hazırlanmıştır. İzolatlar MRS broth ortamlarında 24–48 saat süreyle optimum gelişme koşullarında aktifleştirildikten sonra, aktif kültürlerden %1 oranında alınarak farklı şeker ve azot kaynaklarına sahip olan MRS broth ortamına inokülasyon yapılmış ve kültürler 37 °C de 24-48–72 saat süre ile inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sürecinde 24. , 48. ve 72. saat sonrası kültürlerin viskozitesi, düşük ölçekli viskozimetre (Thermo HAAKE Viscotester 6 plus, typ 387–0100) yardımı ile ölçülmüştür. Ölçümler her izolat için 100 rpm de gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçların değerlendirilebilmesi için standart olarak, kültür içermeyen MRS broth kullanılmış ve ölçümler aynı şekilde gerçekleştirilmiştir. Viskozite ölçümlerindeki hassasiyet dolayısıyla çalışmada kültürlerin geliştirilmesi ve standart olarak kullanılacak olan MRS broth ortamı identik özellik göstermesi amacıyla tek seferde hazırlanmış ve sonrasında 100 ml

olacak şekilde erlenlere dağıtılmıştır. Ölçümler esnasında ilk önce standart olarak kullanılacak olan ve izolatin geliştirildiği şeker kaynağını içeren steril MRS brothun, daha sonra kültürün viskozitesi ölçülmüştür. Değerlendirme için kültürlerin ölçülen değerleri standart ve diğer kültürlerin ölçüm sonuçları ile kıyaslanmıştır (Bouzar ve ark., 1996; Tallon ve ark., 2003).

2.2.6. Ekstraselüler polisakkarit (EPS) izolasyonu

LAB'lerinde EPS üretim yeteneğine sahip olan örneklerden belirlendikten sonra bu örneklerden yüksek EPS üretim yeteneğine sahip olanları seçilerek saflaştırma işlemi yapılmıştır. İlk olarak seçilen örnekler daha önceden hazırlanmış belirtilen uygun M-MRS brotha inoküle edilerek uygun optimizasyon koşullarında 24-48 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon süresi sonunda bakteriler 6000 rpm' de +4 °C ' de 20 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üstte oluşan sıvı alınarak farklı bir tüpe aktarılmıştır. Tüpün üzerine %20 konsantrasyonunda trikloroasetik asit ilave edilerek +4 °C ' de bir gece bırakılmıştır. Daha sonra örnekler 10000 rpm' de +4 °C ' de 30 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra üst kısımda oluşan sıvı alınarak bir başka tüpe aktarılmıştır ve sıvının üzerine soğutulmuş bir hacim etanol eklenerek -20 °C ' de bir gece bırakılmıştır. Daha sonra örnekler 10000 rpm' de +4 °C ' de 30 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra üst kısımda oluşan sıvı kısım dökülmüştür ve altta oluşan pelet üzerine sıcak distile su ilave edilerek pelet çözüldürülmüştür. Elde edilen EPS solüsyonu içerisinde ki karbohidrat miktarı fenol-sülfürik asit yöntemi ile belirlenmiştir (Dubois ve ark. 1956; Masuko ve ark., 2004).

2.2.6.1. Fenol – sülfürik asit yöntemi

Fenol-sülfürik asit yönteminde ilk olarak 2 mg/ ml olacak şekilde glikoz, su içerisinde çözüldürülerek glikoz solüsyonu hazırlanmıştır (20 mg + 10 ml su). Sonra hazırlanan solüsyondan 80 µg/ µl dilüsyon (4µl + 996 µl su) yapılmıştır. Ayrıca 0-40 µg şeker standartları son hacim 50 µl olacak şekilde hazırlanmıştır.

Şeker standartlarının hazırlanışı çizelge 2.3.'de verilmiştir. Hazırlanan örneklerden 50 µl alınarak 96 kuyucuklu ELİSA petrisine aktarılmıştır. Örneğin üzerine 150 µl konsantre sülfürik asit eklenmiş ve hemen %5 ' lik 30 µl fenol ilave edilmiştir. Daha sonra hazırlanan örnekler 90°C su banyosunda 5 dakika süre ile bırakılmıştır (Masuko ve ark., 2005). Örneklerin su banyosuna konulmasının nedeni renk değişimini hızlandırmaya çalışmaktır. Eğer örnek üzerine sülfürik asit ve fenol ilave edildikten sonra renk değişimi gözlemleniyorsa örnekleri su banyosuna koymaya gerek yoktur. Örnekler su banyosundan çıkarıldıktan sonra oda sıcaklığında 5 dakika tutulduktan sonra örnekler spektrofotometre (Shimadzu, UV-2101PC) yardımıyla 490 nm dalga boyunda okunmuştur.

Çizelge 2.2. Şeker Standartlarının Hazırlanması

Şeker (µg)	Standart (µl)	Su (µl)	Absorbans 490 nm
0	0	50	
1	1,25	48,75	
5	6,25	43,75	
10	12,5	37,5	
20	25	25	
40	50	0	

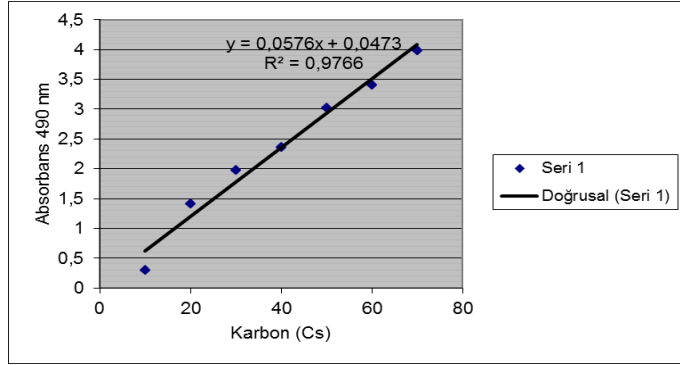
2.2.7. Cevap yüzey metodu ile EPS üretiminin optimizasyonu

LAB' leri ile yapılan çalışmalar sonucunda EPS üretim yetenekleri ve uygun karbon ile azot kaynakları belirlenmiştir. Çalışmalar sonucunda en yüksek ekstraselüler polisakkarit üretimine sahip olan 10 izolat seçilmiştir ve seçilen izolatların EPS üretiminin görüldüğü uygun besi ortamları belirlenmiştir. Daha sonra belirlenmiş olan azot ve karbon kaynaklarının farklı miktarlarında bakterilerin EPS üretimi incelenmiştir. Standart grafik şekil 2.1.' de verilmiştir.

Cevap yüzey yöntemi; EPS üretimini etkileyen üç parametrenin optimum seviyelerinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Bu parametreler, İnkübasyon sıcaklığı (T), azot miktarı (N), karbon miktarı (Cs) dir. Bu yöntemle üç bağımsız değişkenin 5 farklı seviyesi (-α, -1, 0, +1, +α) çalışılmıştır. Bütün değişkenlerin

merkezi kodlanmış değeri 0 olarak alınmıştır. Çalışılan değişkenlerin minimum ve maksimum değerleri ve gerçekleştirilen deneyler çizelge 2.3 ve çizelge 2.4’ de verilmiştir. Deney tasarımının gerçekleştirilmesinde ve analizinde Minitab 16 istatistiksel yazılımı kullanılmıştır.

Şekil 2.1. EPS miktarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik



Çizelge 2.3. Üç Bağımsız Değişkenin CYY’ de Kullanılan Farklı Değerleri

Kod	Bağımsız Değişken	Seviyeler				
		$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
T	İnkübasyon Sıcaklığı (°C)	8,18	15	25	35	41,82
N	Azot Miktarı	3,30	5	7,50	10	11,70
Cs	Karbon Miktarı	3,30	5	7,50	10	11,70

Çizelge 2.4. Cevap – Yüzey Metodu Deney Koşulları

StdOrder	RunOrder	PtType	Blocks	Sıcaklık (T) (°C)	Karbon (Cs) %	Azot (N) %
19	1	0	1	25	7,5	7,5
13	2	-1	1	25	7,5	3,3
7	3	1	1	15	10	10
1	4	1	1	15	5	5
8	5	1	1	35	10	10
3	6	1	1	15	10	5
11	7	-1	1	25	3,3	7,5
17	8	0	1	25	7,5	7,5
20	9	0	1	25	7,5	7,5
16	10	0	1	25	7,5	7,5
5	11	1	1	15	5	10
12	12	-1	1	25	11,7	7,5
18	13	0	1	25	7,5	7,5
10	14	-1	1	41,82	7,5	7,5
6	15	1	1	35	5	10
2	16	1	1	35	5	5
9	17	-1	1	8,18	7,5	7,5
15	18	0	1	25	7,5	7,5
14	19	-1	1	25	7,5	11,7
4	20	1	1	35	10	5

2.2.7.1. Deneysel modelin validasyonu

İstatistiksel model, EPS üretiminin model tarafından tahmin edilen optimum koşullar doğrultusunda gerçekleştirilmesi ile doğrulanmıştır. ANOVA analizinde elde edilen sonuçlara göre istenilen değerlerin elde edilip-edilmediği belirlenmiştir. E60 izolatu için 42°C 'de karbon ve azot değeri %3,3, M96.2 izolatu için 42°C 'de karbon %11,7 ve azot % 3,3, G37 izolatu için 42°C 'de karbon %3,3 ve azot %11,7, 109.1 izolatu için 32 °C 'de karbon ve azot değeri % 11,7, M80 izolatu 8°C 'de karbon 11,7 ve azot 8,9, G36 izolatu için 42°C 'de karbon ve azot değeri % 11,7, B26 izolatu için 42°C 'de karbon ve azot değeri % 11,7, B31 izolatu için karbon %11,7 ve azot %3,3, G38 izolatu için 15 için°C 'de karbon ve azot değeri % 7,5, M78 izolatu için 42°C 'de karbon ve azot değeri % 3,3 olarak ayarlanmış ve deney düzeneği kurulmuştur.

3. BULGULAR

3.1. Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Canlandırılması

Eskişehir ve çevresindeki süt ve süt ürünlerinden izole edilen 163 LAB' izolatı çalışmalarda kullanılmak üzere MRS broth besi ortamında optimum koşullarda 24 saat süre ile inoküle edilmiştir. 24 saatlik inokülasyondan sonra taze kültürler MRS agar üzerine inoküle edilmiştir. Örneklerden saf olmayanları MRS agara tekrar ekilerek küçük, mat, krem rengi ya da beyaz renkteki LAB' si olan koloni seçilerek saflaştırma yapılmıştır. Saflaştırılan izolatların gram boyama ve katalaz aktivitesi sonucuna bakılarak, izolatlar çalışmalarda kullanılmak üzere stoklanmıştır.

3.2. İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Tespitinin Sonuçları

Süt ve süt ürünlerinden izole edilen 163 LAB' izolatının antimikrobiyal aktivitesi sandvic overlay yöntemi ile test edilmiş ve test sonuçları Çizelge 3.1.' de verilmiştir.

Çalışmamızda kullandığımız LAB izolatlarının hepsi bir veya daha fazla test bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Bu LAB izolatlarının 86 tanesinin test bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivitesi yüksek olarak bulunmuştur.

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde izolatların büyük bir kısmının kullanılan test mikroorganizmalarından *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes 1* ve *Candida glabrata*' ya karşı düşük antimikrobiyal aktivite sergilediği gözlenmiştir. *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans* üzerine uygulanan izolatların yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Sonuçlara göre *Staphylococcus aureus*'un gelişimine test mikroorganizmalarından 47 tanesinin etki etmediği, 63 izolatın antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve 28 izolatında yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği

belirlenmiştir. *Listeria monocytogenes* üzerine test mikroorganizmalarından 38 tanesinin bir etkisinin olmadığı, 73 izolatın antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve 27 izolatında yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *Escherichia coli* 'de test mikroorganizmalarından 57 tanesinin etki etmediğini, 50 izolatın antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve 31 izolatında yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *Candida albicans* üzerine test mikroorganizmalarından 42 tanesinin etki göstermediği, 58 izolatın antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve 38 izolatında yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *Listeria serovar* üzerinde 23 izolatın herhangi bir etkiye sahip olmadığı, 94 izolatın antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve 21 izolatında yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *Candida glabrata* 64 test mikroorganizmasının etki göstermediği, 19 izolatın antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve 55 izolatında yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

İzolatların tabii tutuldukları antimikrobiyal aktivite test sonuçları Çizelge 3.1. de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen LAB' lerinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları
(++:çok etkili, +: az etkili, -: etkisiz)

İzolat numarası	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes I</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
A4	-	+	+	-	-	+
A5	+	+	+	++	+	+
A84	+	+	++	++	+	+
A96	-	+	+	-	+	-
A98	+	+	+	++	+	-
A109	++	+	-	+	+	++
B2	+	+	+	-	++	+
B15	+	+	+	-	++	++
B26	+	+	+	+	++	++
B31	+	+	+	+	+	++
D1	+	++	+	+	+	++
D2	+	++	+	+	+	++
D3	+	++	+	+	+	++
D4	++	++	+	+	+	++
D5	++	++	+	+	+	++
D6	++	++	+	+	+	++
D7	++	++	++	+	+	++
D8	++	++	++	+	+	++
D9	+	+	+	++	++	++
D10	+	++	+	++	++	++
D11	-	-	+	+	-	-
D12	+	++	+	++	-	+
D13	+	++	+	-	-	+
D14	-	-	+	+	-	-
D15	+	++	+	-	-	+
D16	+	+	+	+	-	-
D17	++	+	+	-	-	+
D18	-	-	+	+	-	-
D19	-	-	-	+	+	-

Çizelge 3.1. (Devam) Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen LAB' lerinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları (++:çok etkili, +: az etkili, -: etkisiz)

İzolat numarası	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes I</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
D20	-	-	-	-	+	-
D21	-	-	-	-	-	-
D22	-	-	-	-	-	-
D23	-	-	+	-	-	-
D24	-	-	+	-	+	-
D25	-	-	+	-	-	-
D27	++	++	+	++	++	++
D28	-	+	+	-	+	-
D29	-	-	+	-	-	-
D30	-	+	+	+	+	-
D31	-	++	+	++	++	++
D32	-	-	-	-	-	-
D33	+	++	+	++	++	++
D34	-	-	-	-	-	+
D35	+	+	+	++	++	++
D36	-	-	-	-	-	+
E3	+	+	++	+	++	++
E9	+	+	+	++	++	++
E15	-	-	+	-	+	-
E48.1B	++	-	+	+	-	++
E48.2K	++	+	++	++	++	++
E58	±	+	+	+	++	++
E60	+	+	++	+	++	++
E62	+++	+	+	+	-	++
E63.1	+	+	+	-	+	++
E63.2	+	+	+	-	+	++
E65	-	±	+	±	-	-
E70	+	+	++	-	+	++
E79	+	+	++	+	++	++

Çizelge 3.1. (Devam) Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen LAB' lerinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları (++:çok etkili, +: az etkili, -: etkisiz)

İzolat numarası	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes I</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
E123	+	++	-	-	+	++
E130.1	++	++	+	-	++	-
E130.2	++	+	-	-	++	-
E1206	-	+	-	-	++	+
E1246	++	+	+	++	+	++
E1346	+	+	+	++	+	++
E9761	+	+	+	++	+	-
G20	-	-	-	-	+	-
G21	-	-	+	-	-	-
G22	-	+	+	-	-	-
G24	-	-	+	-	-	-
G32	-	-	+	-	+	-
G33	-	-	+	-	+	-
G34	-	-	+	-	-	-
G35	-	-	-	-	-	-
G36	-	-	+	-	+	-
G37	-	+	+	+	+	-
G38	-	+	+	+	+	-
G39	-	-	+	-	+	-
İ20	+	+	++	+	+	-
M3	+	+	+	-	+	-
M4	-	+	++	-	+	++
M9 Y	-	+	+	+	-	+
M11	+	++	+	+	+	-
M13	++	-	+	+	+	++
M17	-	+	+	+	-	-
M25	+	+	++	+	-	++
M28	++	+	+	++	++	++

Çizelge 3.1. (Devam) Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen LAB' lerinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları (++:çok etkili, +: az etkili, -: etkisiz)

İzolat numarası	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes I</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
M30	++	+	+	++	++	++
M31	+	-	-	-	+	-
M32	+	+	-	-	+	+
M33	++	+	-	++	++	++
M34	++	++	+	++	++	++
M36	++	++	+	++	++	++
M38	+	-	+	-	+	-
M39	+	++	-	-	++	-
M40	++	+	-	++	++	++
M43	+	+	+	+	++	++
M48	+	+	+	+	+	++
M49	+	+	+	+	+	++
M51	+	+	-	++	++	++
M64	+	+	-	+	-	++
M66	+	+	+	+	-	++
M74	++	++	+	+	+	-
M78	-	+	+	-	+	-
M80	-	+	+	-	+	-
M82	++	+	+	-	+	-
M82.1	+	+	+	++	++	++
M82.2	+	++	+	++	++	++
M83	++	++	++	-	+	-
M84	+	+	++	++	++	-
M85	++	+	++	++	++	-
M88	++	+	++	++	++	-
M96.1	-	+	+	++	++	-
M96.2	++	-	++	++	++	-
M97	-	-	+	++	++	-
M99	+	±	+	++	++	-

Çizelge 3.1. (Devam) Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen LAB' lerinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları (++:çok etkili, +: az etkili, -: etkisiz)

İzolat numarası	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes I</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
M100	+	-	+	-	-	-
İM13	-	-	+	-	-	-
KM5	+	+	+	+	-	++
TM4	++	-	+	+	-	++
TM13	+	+	+	-	-	++
TM15	-	-	+	-	-	-
TM17	-	-	+	-	+	+
TM18	+	+	-	+	-	++
9	+	++	++	-	-	-
10	+	+	++	+	+	-
11	+	+	++	+	+	+
12	+	++	+	+	+	-
13	+	+	+	+	+	-
14	+	+	++	+	+	-
15	+	+	++	-	++	-
16	+	+	+	+	++	-
84	+	+	-	-	-	+
92	+	++	+	+	-	++
120	+	+	+	-	-	++
109.1	+	+	+	+	+	+

3.3. Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin İdentifikasyon Test Sonuçları

Çizelge 3.1.' de verilen test mikroorganizmalarına karşı denenmiş olan LAB' lerinden antimikrobiyal aktiviteye sahip olan örnekler için gram boyama, farklı sıcaklıklarda gelişim, farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim, pH; 3,9 ve pH; 9,6 da gelişim, glikozdan gaz oluşumu ve arjininden amonyak oluşumu gibi biyokimyasal testler yapılmış ve sonuçlar Çizelge 3.2' de gösterilmiştir.

İzolatların tümü katalaz ve oksidaz negatif olarak bulunmuştur. İzolatların farklı sıcaklıklarda gelişim durumları kültürden kültüre değişiklik göstermekle birlikte izolatlardan 34 tanesinin 4°C' de gelişebildiği diğer 102 izolatın ise gelişim göstermediği; 20°C' de 4 izolatın gelişim göstermediği bunlardan 15'inin çok az gelişim gösterdiği ve 117 izolatın ise gelişebildiği gözlenmiştir. Ayrıca 45°C' de ise 101 izolatın gelişebildiği bunlardan 26 tanesinin gelişiminin az olduğu ve 9 tanesinin gelişim göstermediği gözlemlenmiştir.

İzolatların 2'si farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim gösterebildiği ve 4 izolatın ise çok az gelişim gösterdiği gözlemlenmiştir. Ancak tuz konsantrasyonu arttırıldıkça gelişebilen kültür sayısında azalma olmuştur. İzolatların en iyi gelişimi %6 tuz konsantrasyonda olduğu gözlemlenmiştir. İzolatların 12'si pH:3,9 da ve pH:9,6 da gelişim gösterebilirken 8 izolat çok az gelişim göstermiştir. İzolatların 116'sı pH:3,9 da gelişim göstermemiştir. 155 izolatın pH:9,6 da gelişim gösterdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca izolatlardan hiçbirinin H₂S üretmediği gözlemlenmiştir. İzolatların 97'sinin arjininden NH₃ (amonyak) ürettiği ve 39 tanesinin ise arjininden NH₃ üretmediği gözlenmiştir.

İzolatların EPS üretimleri şeker kaynaklarına göre farklılık göstermiştir. İzolatlardan 30 tanesi glikozlu besi ortamında EPS üretmemiştir ancak 106 izolatın EPS üretebildiği gözlemlenmiştir. Laktozlu besi ortamında 29 tanesinin EPS üretmediği, 107'sinin EPS üretebildiği gözlemlenmiştir. Sükroz içeren besi ortamında 86'sının EPS üretebildiği ancak 50'sinin EPS üretmediği gözlemlenmiştir. İzolatların 104'ünün fruktozlu ortamda EPS üretebildiği, 32'sinin ise EPS üretmediği gözlemlenmiştir.

Çizelge 3.2. Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin İdentifikasyon Test Sonuçları (++:çok etkili, +: az etkili, -: etkisiz)

İzolat numarası	Temin edildiği ürün	Gram boyama	Hücre morfolojisi	Katalaz	Oksidaz	4 °C' de gelişim	20 °C' de gelişim	45 °C' de gelişim	% 6 NaCl' de gelişim	% 7,5 NaCl' de gelişim	% 10 NaCl' de gelişim	Arjininden NH ₃ Oluşumu	Gas oluşturma	pH: 3,9' da gelişim	pH: 9,6' da gelişim	EPS Üretimi (Glikoz)	EPS Üretimi (Laktoz)	EPS Üretimi (Sükroz)	EPS Üretimi (Fruktoz)
A4	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
A5	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
A84	Peynir	+	KOK	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-
A96	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
A98	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-
A109	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-
B2	Süt	+	KOK	-	-	-	±	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+
B15	Süt	+	KOK	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-
B26	Süt	+	BASİL	-	-	-	-	-	+	+	±	+	-	-	-	-	+	-	-
B31	Süt	+	KOK	-	-	-	±	±	+	-	-	+	-	±	+	+	+	+	-
D1	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	±	+	±	-	-	-	-	+	-	-	-	-
D2	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	±	+	+	-	-	-	±	+	-	-	-	-
D3	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	±	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
D4	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	±	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+
D5	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	±	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+
D6	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	±	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
D7	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	±	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+
D8	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	±	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+
D9	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	±	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+
D10	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	±	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+
D11	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
D12	Peynir	+	KOKOBASİL	-	-	-	+	±	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-
D13	Peynir	+	KOKOBASİL	-	-	-	+	±	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-
D14	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
D15	Peynir	+	KOKOBASİL	-	-	-	+	±	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-
D16	Peynir	+	KOKOBASİL	-	-	-	+	±	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-
D17	Peynir	+	KOKOBASİL	-	-	-	+	±	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-

Çizelge 3.2.(Devam) Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen LAB' lerinin İdentifikasyon Test Sonuçları (+:çok etkili, +: az etkili, -: etkisiz)

İzolat numarası	Temin edildiği ürün	Gram boyama	Hücre morfolojisi	Katalaz	Oksidaz	4 °C' de gelişim	20 °C' de gelişim	45 °C' de gelişim	% 6 NaCl' de gelişim	% 7,5 NaCl' de gelişim	% 10 NaCl' de gelişim	Arjiminen NH ₃ Oluşumu	Gaz oluşturma	pH: 3,9 'da gelişim	pH: 9,6 'da gelişim	EPS Üretimi (Glukoz)	EPS Üretimi (Laktöz)	EPS Üretimi (Sükroz)	EPS Üretimi (Fruktöz)
D18	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
D19	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
D20	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
D21	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
D22	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
D23	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
D24	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
D25	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
D27	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	±	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+
D28	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
D29	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
D30	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
D31	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	±	+	-	-	-	±	+	-	+	+	+	+
D32	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
D33	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	±	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
D34	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
D35	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	±	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
D36	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
E3	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+
E9	Peynir	+	KOK	-	-	-	±	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+
E15	Peynir	-	KOK	-	-	-	±	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
E48.B	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	±	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+
E48.K	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+
E58	Peynir	+	KOK	-	-	-	±	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
E60	Peynir	+	BASİL	-	-	-	+	+	±	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+
E62	Peynir	+	KOK	-	-	-	±	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-

Çizelge 3.2.(Devam) Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen LAB' lerinin İdentifikasyon Test Sonuçları (+:çok etkili, +: az etkili, -: etkisiz)

İzolat numarası	Temin edildiği ürün	Gram boyama	Hücre morfolojisi	Katalaz	Oksidaz	4 °C' de gelişim	20 °C' de gelişim	45 °C' de gelişim	% 6 NaCl' de gelişim	% 7,5 NaCl' de gelişim	% 10 NaCl' de gelişim	Arjiminen NH ₃ Oluşumu	Gaz oluşturma	pH: 3,9 'da gelişim	pH: 9,6 'da gelişim	EPS Üretimi (Glukoz)	EPS Üretimi (Laktöz)	EPS Üretimi (Sükroz)	EPS Üretimi (Fruktöz)
				-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
E63.1	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-
E63.2	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
E65	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
E70	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+
E79	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
E123	Peynir	+	KOKOBASİL	-	-	-	+	±	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-
E130.1	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
E130.2	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+
E1206	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
E1246	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-
E1346	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-
E9761	Peynir	+	BASİL	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+
G20	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
G21	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
G22	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	±	-	+	-	-	+	+	+	+	+
G24	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
G32	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
G33	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
G34	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
G35	Peynir	-	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
G36	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
G37	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
G38	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	±	-	+	-	-	+	+	+	+	+
G39	Peynir	+	KOK	-	-	-	±	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
İ20	Çiğ süt	+	BASİL	-	-	-	+	+	+	±	-	+	-	-	-	+	+	+	+
M3	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	±	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-

Çizelge 3.2.(Devam) Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen LAB' lerinin İdentifikasyon Test Sonuçları (+:çok etkili, +: az etkili, -: etkisiz)

İzolat numarası	Temin edildiği ürün	Gram boyama	Hücre morfolojisi	Katalaz	Oksidaz	4 °C' de gelişim	20 °C' de gelişim	45 °C' de gelişim	% 6 NaCl' de gelişim	% 7,5 NaCl' de gelişim	% 10 NaCl' de gelişim	Arjiminen NH ₃ Oluşumu	Gaz oluşturma	pH: 3,9 'da gelişim	pH: 9,6 'da gelişim	EPS Üretimi (Glukoz)	EPS Üretimi (Laktöz)	EPS Üretimi (Sükroz)	EPS Üretimi (Fruktöz)
				-	-	-	+	±	-	-	+	-	+	±	+	-	+	+	-
M4	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	±	-	-	-	-	-	±	+	-	-	-	+
M9 Y	Peynir	-	KOK	-	-	-	±	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
M11	Peynir	+	BASİL	-	-	-	+	+	+	±	-	+	-	-	-	+	+	-	+
M13	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	±	-	-	+	-	±	+	+	+	-	+
M17	Peynir	+	KOK	-	-	+	+	+	+	±	-	+	-	-	+	+	+	+	+
M25	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	±	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
M28	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	±	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
M30	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+
M31	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
M32	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	±	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
M33	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	±	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
M34	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	±	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+
M36	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	±	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+
M38	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
M39	Peynir	+	KOKOBASİL	-	-	-	+	±	±	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+
M40	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	±	-	-	-	-	±	+	-	+	+	+
M43	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	±	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
M48	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-
M49	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
M51	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	±	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
M64	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	±	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
M66	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	±	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
M74	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	±	±	-	+	-	+	+	+	+	-	+
M80	Peynir	+	BASİL	-	-	+	+	+	+	±	-	+	-	-	-	+	+	+	+
M82	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
M82.1	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-

Çizelge 3.2.(Devam) Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen LAB' lerinin İdentifikasyon Test Sonuçları (+:çok etkili, +: az etkili, -: etkisiz)

İzolat numarası	Temin edildiği ürün	Gram boyama	Hücre morfolojisi	Katalaz	Oksidaz	4 °C' de gelişim	20 °C' de gelişim	45 °C' de gelişim	% 6 NaCl' de gelişim	% 7,5 NaCl' de gelişim	% 10 NaCl' de gelişim	Arjiminen NH ₃ Oluşumu	Gaz oluşturma	pH: 3,9 'da gelişim	pH: 9,6 'da gelişim	EPS Üretimi (Glukoz)	EPS Üretimi (Laktöz)	EPS Üretimi (Sükroz)	EPS Üretimi (Fruktöz)
				-	-	-	+	+	±	-	-	+	-	±	+	-	+	-	+
M82.2	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	±	-	-	-	-	+	-	-	+	+
M83	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+
M84	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	±	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-
M85	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	±	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-
M88	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	±	+	+	-	-	+
M96.1	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	±	-	+	-	-	+	-	+	+	+
M96.2	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	±	+	-	+	-	±	+	+	+	+	+
M97	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
M99	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	±	+	±	-	-	-	-	+	-	-	-	-
M100	Peynir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+
İM13	Süt	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
KM5	Kefir	+	KOK	-	-	-	+	+	+	±	-	+	-	-	+	+	+	+	+
TM4	Anne sütü	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
TM13	Anne sütü	+	KOKOBASİL	-	-	-	+	+	+	±	-	+	-	-	+	+	+	+	+
TM15	Anne sütü	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
TM17	Anne sütü	+	KOK	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
TM18	Anne sütü	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
9	Süt	+	KOK	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
10	Süt	+	KOK	-	-	-	±	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
11	Süt	+	KOK	-	-	-	+	+	+	±	-	+	-	-	+	+	+	-	+
12	Süt	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	±	+	-	+	+	+	-	-	-

Çizelge 3.2.(Devam) Süt ve Süt Ürünlerinden İzole Edilen LAB' lerinin İdentifikasyon Test Sonuçları (+:çok etkili, +: az etkili, -: etkisiz)

İzolat numarası	Temin edildiği ürün	Gram boyama	Hücre morfolojisi	Katalaz	Oksidaz	4 °C' de gelişim	20 °C' de gelişim	45 °C' de gelişim	% 6 NaCl' de gelişim	% 7,5 NaCl' de gelişim	% 10 NaCl' de gelişim	Arjiminiden NH ₃ Oluşumu	Gaz oluşturma	pH: 3,9 'da gelişim	pH: 9,6 'da gelişim	EPS Üretimi (Glukoz)	EPS Üretimi (Laktöz)	EPS Üretimi (Sükroz)	EPS Üretimi (Fruktöz)
				-	-	-	±	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
13	Süt	+	KOK	-	-	-	±	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
14	Süt	+	KOK	-	-	-	±	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
15	Süt	+	KOK	-	-	-	±	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-
16	Süt	+	KOK	-	-	-	+	+	+	+	±	+	-	-	+	+	+	+	+
84	Süt	+	KOK	-	-	-	±	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
92	Süt	+	KOK	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
120	Süt	+	KOK	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
109.1	Süt	+	BASİL	-	-	-	±	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+
109.2	Süt	+	BASİL	-	-	-	±	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+
14 Y	Süt	+	KOK	-	-	-	+	±	+	±	-	+	-	+	+	+	+	+	+

Çizelge 3.3. EPS Üretimi İçin Seçilen İzolatların Viskoziteleri

İzolat Numarası	24 SAAT						48 SAAT						72 SAAT					
	60 rpm		100 rpm		200 rpm		60 rpm		100 rpm		200 rpm		60 rpm		100 rpm		200 rpm	
	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%
A4	1,22	12,6	1,20	21,1	2,03	72,0	1,68	17,2	1,40	24,5	2,03	72,0	1,23	12,7	1,25	22,0	2,04	72,3
A5	-	-	1,23	21,6	-	-	-	-	1,61	28,0	-	-	-	-	-	-	-	-
A84	1,28	13,2	1,25	22,0	2,15	76,0	1,76	18,0	1,69	29,3	2,07	73,3	1,25	12,9	1,23	21,6	2,15	76,0
A96	1,29	13,3	1,27	22,3	1,96	69,8	1,32	13,6	1,24	21,8	2,13	75,3	1,56	16,0	1,34	23,5	2,04	72,3
A98	1,28	13,2	1,26	22,1	2,15	76,0	1,34	13,8	1,26	22,1	2,14	75,6	-	-	-	-	-	-
A109	1,24	12,8	1,23	21,8	2,03	72,0	1,27	13,1	1,20	21,1	2,11	74,6	1,36	14,0	1,32	23,1	2,16	76,3
B2	1,27	13,1	1,25	22,0	2,19	77,3	1,27	13,1	1,29	22,6	2,15	76,0	1,31	13,5	1,26	22,1	2,15	76,0
B15	1,48	15,2	1,33	23,3	2,03	72,0	1,22	12,6	1,23	21,6	2,07	73,3	1,32	13,6	1,29	22,6	2,11	74,6
B26	1,42	14,6	1,31	23,0	2,12	75,0	1,37	14,1	1,27	22,3	2,13	75,3	1,30	13,4	1,26	22,1	2,14	75,6
B31	1,26	13,0	1,25	22,0	2,14	75,6	1,30	13,4	1,24	21,8	2,17	76,6	1,29	13,3	1,24	21,8	2,11	74,6
D1	1,29	13,3	1,26	22,1	2,17	76,6	1,27	13,1	1,22	21,5	2,13	75,3	1,33	13,7	1,27	22,3	2,14	75,6
D2	1,27	13,1	1,27	22,3	2,16	76,3	1,29	13,3	1,22	21,5	2,12	75,0	1,28	13,2	2,26	22,1	2,13	75,3
D3	1,27	13,1	1,26	22,1	2,15	76,0	1,36	14,0	1,31	23,0	2,18	77,0	1,31	13,5	1,28	22,5	2,16	76,3
D4	1,19	12,3	1,22	21,5	2,06	73,0	1,19	12,3	1,22	21,5	2,10	74,3	1,25	12,9	1,22	21,5	2,11	74,6
D5	1,13	11,7	1,24	21,8	1,99	70,6	1,18	12,2	1,23	21,6	2,05	72,6	1,25	12,9	1,23	21,6	2,12	75,0
D6	1,30	13,4	1,29	22,6	2,20	77,6	1,29	13,3	1,29	22,6	2,16	76,3	1,30	13,4	1,28	22,5	2,15	76,0
D7	1,54	15,8	1,31	23,0	2,00	71,0	1,19	12,3	1,23	21,6	2,04	72,3	1,26	13,0	1,25	22,0	2,13	75,3

Çizelge 3.3. (Devam) EPS Üretimi İçin Seçilen İzolatların Viskoziteleri

İzolat Numarası	24 SAAT						48 SAAT						72 SAAT					
	60 rpm		100 rpm		200 rpm		60 rpm		100 rpm		200 rpm		60 rpm		100 rpm		200 rpm	
	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%
D8	1,37	14,1	1,25	22,0	2,02	71,6	1,18	12,2	1,23	21,6	2,06	73,0	1,26	13,0	2,24	21,8	2,13	75,3
D9	1,19	12,3	1,24	21,8	2,05	72,6	1,19	12,3	1,22	21,5	2,05	72,6	1,37	14,1	1,26	22,1	2,12	75,0
D10	1,16	12,0	1,25	22,0	2,03	72,0	1,20	12,4	1,22	21,5	2,04	72,3	1,40	14,4	1,30	22,8	2,13	75,2
D11	1,25	12,9	1,27	22,3	2,07	73,3	1,33	13,7	1,34	23,5	2,17	76,6	1,28	13,2	1,25	22,0	2,10	74,3
D12	1,29	13,3	1,18	20,8	2,10	74,3	1,27	13,1	1,24	21,8	2,12	75,0	1,26	13,0	1,22	21,5	2,15	76,0
D13	1,22	12,6	1,21	21,3	2,04	72,3	1,25	12,9	1,24	21,8	2,12	75,0	1,30	13,4	1,25	22,0	2,12	75,0
D14	1,17	12,1	1,29	22,6	2,02	71,6	1,68	17,2	1,64	28,5	2,13	75,3	1,30	13,4	1,24	21,8	2,03	72,0
D15	1,32	13,6	1,28	22,5	2,15	76,0	1,28	13,2	1,23	21,6	2,12	75,0	1,18	12,2	1,24	21,8	2,10	74,3
D16	1,30	13,4	1,26	22,1	2,16	76,3	1,32	13,6	1,28	22,5	2,15	76,0	1,62	16,6	1,34	23,5	2,09	74,0
D17	1,26	13,0	1,43	25,0	2,12	75,0	1,31	13,5	1,28	22,5	2,12	75,0	1,29	13,3	1,22	21,5	2,11	74,6
D18	1,32	13,6	1,22	21,5	2,07	73,3	1,40	14,4	1,32	23,1	2,16	76,3	1,28	13,2	1,28	22,5	2,11	74,6
D19	1,29	13,3	1,25	22,0	2,06	73,0	1,41	14,5	1,30	22,8	2,18	77,0	1,26	13,0	1,23	21,6	2,08	73,6
D20	1,21	12,5	1,26	22,1	2,05	72,6	1,41	14,5	1,21	21,3	2,13	75,3	1,26	13,0	1,34	23,5	2,05	72,6
D21	1,27	13,1	1,23	21,6	2,07	73,3	1,42	14,6	1,28	22,5	2,17	76,6	1,27	13,1	1,26	22,1	2,12	75,0
D22	1,21	12,5	1,29	22,6	2,02	71,6	1,39	14,3	1,25	22,0	2,10	74,3	1,19	12,3	1,25	22,0	2,05	72,6
D23	1,21	12,5	1,21	21,1	2,04	72,3	1,26	13,0	1,23	21,6	2,06	73,0	1,26	13,0	1,25	22,0	2,04	72,3
D24	1,13	11,7	1,24	21,8	2,00	71,0	1,30	13,4	1,24	21,8	2,18	77,0	1,22	12,6	1,27	22,3	2,01	72,6

Çizelge 3.3. (Devam) EPS Üretimi İçin Seçilen İzolatların Viskoziteleri

İzolat Numarası	24 SAAT						48 SAAT						72 SAAT					
	60 rpm		100 rpm		200 rpm		60 rpm		100 rpm		200 rpm		60 rpm		100 rpm		200 rpm	
	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%
D25	1,29	13,3	1,23	21,6	2,03	72,0	1,37	14,1	1,28	22,5	2,13	75,3	1,22	12,6	1,26	22,1	2,02	71,6
D27	1,28	13,2	1,25	22,0	2,02	71,6	1,28	13,2	1,25	22,0	2,13	75,3	1,74	17,8	1,34	23,5	2,03	72,0
D28	1,26	13,0	1,23	21,6	2,07	73,3	1,34	13,8	1,26	22,1	2,10	74,3	1,22	12,6	1,32	23,1	2,01	72,6
D29	1,29	13,3	1,30	22,8	2,00	71,0	1,30	13,4	1,27	22,3	2,11	74,6	1,22	12,6	1,25	22,0	2,10	74,3
D30	1,36	14,0	1,36	23,8	2,0	71,0	1,28	13,2	1,23	21,6	2,11	74,6	1,32	13,6	1,23	22,0	2,06	73,0
D31	1,22	12,6	1,25	22,0	2,06	73,0	1,21	12,5	1,23	21,6	2,07	73,3	1,29	13,3	1,25	22,0	2,15	76,0
D32	1,33	13,7	1,23	21,6	2,05	72,6	1,28	13,2	1,23	21,6	2,15	76,0	1,30	13,4	1,26	22,1	2,08	73,6
D33	1,20	12,4	1,24	21,8	2,08	73,6	1,27	13,1	1,20	21,1	2,09	74,0	1,27	13,1	1,24	21,8	2,06	73,0
D34	1,35	13,9	1,22	21,5	2,01	71,3	1,40	14,4	1,22	21,5	2,07	73,3	1,32	13,6	1,22	21,5	2,05	72,6
D35	1,16	12,0	1,25	22,0	2,04	72,3	1,21	12,5	1,23	21,6	2,05	72,6	1,28	13,2	1,24	21,8	2,1	74,6
D36	1,23	12,7	1,23	21,6	2,05	72,6	1,41	14,5	1,26	22,1	2,13	75,3	1,27	13,1	1,25	22,0	2,06	73,0
E3	1,26	13,0	1,31	23,0	2,14	75,6	1,26	13,0	1,25	22,0	2,12	75,0	1,31	13,5	1,24	21,8	2,10	74,3
E9	1,30	13,4	1,29	22,6	2,15	76,0	1,26	13,0	1,25	22,0	2,15	76,0	1,32	13,6	1,20	21,1	2,15	76,0
E15	1,20	12,4	1,19	21,0	2,03	72,0	1,23	12,7	1,25	22,0	2,01	71,3	1,39	14,3	1,26	22,1	2,03	72,0
E48.1B	1,24	12,8	1,23	21,6	2,05	72,6	1,25	12,9	1,22	22,5	2,06	73,0	1,33	13,7	1,27	22,3	2,18	77,0
E48.2K	1,19	12,3	1,26	22,1	2,07	73,3	1,19	12,3	1,27	22,3	2,08	73,6	1,31	13,5	1,29	22,6	2,11	74,6
E58	1,29	13,3	1,26	22,1	2,16	76,3	1,22	12,6	1,22	21,5	2,08	73,6	1,27	13,1	1,19	21,0	2,14	75,6

Çizelge 3.3. (Devam) EPS Üretimi İçin Seçilen İzolatların Viskoziteleri

İzolat Numarası	24 SAAT						48 SAAT						72 SAAT					
	60 rpm		100 rpm		200 rpm		60 rpm		100 rpm		200 rpm		60 rpm		100 rpm		200 rpm	
	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%
E60	-	-	1,40	24,5	-	-	-	-	1,48	25,8	-	-	-	-	-	-	-	-
E62	1,17	12,1	1,27	22,3	2,05	72,6	1,23	12,7	1,22	22,5	2,13	75,3	1,29	13,3	1,27	22,3	2,14	75,6
E63.1	1,28	13,2	1,25	22,0	2,13	75,3	1,40	14,4	1,31	23,0	2,13	75,3	1,30	13,4	1,18	20,8	2,09	74,0
E63.2	1,25	12,9	1,25	22,0	2,14	75,6	1,28	13,2	1,24	21,8	2,14	75,6	1,32	13,6	1,21	21,3	2,15	75,6
E65	1,20	12,4	1,24	21,8	2,02	71,6	1,33	13,7	1,25	22,0	2,14	75,6	1,26	13,0	1,25	22,0	2,00	71,0
E70	1,25	12,9	1,20	21,1	2,17	76,6	1,31	13,5	1,27	22,3	2,13	75,3	1,29	13,3	1,21	21,3	2,13	75,3
E79	-	-	1,39	24,3	-	-	-	-	1,46	25,5	-	-	-	-	-	-	-	-
E123	1,29	13,3	1,26	22,1	2,16	76,3	1,31	13,5	1,24	21,8	2,13	75,3	1,23	12,7	1,28	22,5	2,13	75,3
E130.1	1,20	12,4	1,25	22,0	2,05	72,6	1,28	13,2	1,20	21,1	2,09	74,0	1,27	13,1	1,21	21,3	2,12	75,0
E130.2	1,21	12,5	1,20	21,1	2,07	73,3	1,26	13,0	1,24	21,8	2,10	74,3	1,29	13,3	1,22	21,5	2,11	74,6
E1206	1,18	12,2	1,24	21,8	2,06	73,0	1,27	13,1	1,22	21,5	2,08	73,6	1,28	13,2	1,22	21,5	2,11	74,6
E1246	1,55	15,9	1,32	23,1	2,16	76,3	1,27	13,1	1,26	22,1	2,11	74,6	1,24	12,8	1,21	21,3	2,08	73,6
E1346	1,30	13,4	1,28	22,5	2,16	76,6	1,27	13,1	1,24	21,8	2,10	74,3	-	-	-	-	-	-
E9761	-	-	1,27	22,3	-	-	-	-	1,31	23,0	-	-	-	-	-	-	-	-
G20	1,11	11,5	1,23	21,6	1,98	70,3	1,37	14,1	1,25	22,0	2,09	74,0	1,23	12,7	1,31	23,0	2,02	71,6
G21	1,13	11,7	1,22	21,5	1,98	70,3	1,38	14,2	1,26	22,1	2,14	75,6	1,28	13,2	1,27	22,3	2,10	74,3
G22	1,23	12,7	1,23	21,6	2,01	71,3	1,38	14,2	1,25	22,0	2,15	76,0	1,28	13,2	1,29	22,6	2,05	72,6

Çizelge 3.3. (Devam) EPS Üretimi İçin Seçilen İzolatların Viskoziteleri

İzolat Numarası	24 SAAT						48 SAAT						72 SAAT					
	60 rpm		100 rpm		200 rpm		60 rpm		100 rpm		200 rpm		60 rpm		100 rpm		200 rpm	
	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%
G24	1,15	11,9	1,26	22,1	1,97	70,0	1,39	14,3	1,27	22,3	2,14	75,6	1,24	12,8	1,26	22,1	2,05	72,6
G32	1,27	13,1	1,21	21,3	2,07	73,3	1,30	13,4	1,24	21,8	2,15	76,8	1,25	12,9	1,31	23,0	2,12	75,0
G33	1,17	12,1	1,25	22,0	2,01	71,3	2,12	21,6	1,63	28,3	2,09	74,0	1,25	12,9	1,25	22,0	2,07	73,3
G34	1,14	11,8	1,29	22,6	2,10	74,3	1,26	13,0	1,23	21,6	2,10	74,3	1,28	13,2	1,21	21,3	2,07	73,3
G35	1,33	13,7	1,18	20,8	2,05	72,6	1,43	14,7	1,33	23,3	2,15	76,0	1,35	13,9	1,33	23,3	2,14	75,6
G36	1,21	12,5	1,33	23,3	2,02	71,6	1,50	15,4	1,36	23,8	2,21	78,0	1,39	14,3	1,30	22,8	2,16	76,3
G37	1,24	12,8	1,19	21,0	2,06	73,0	1,52	15,6	1,39	24,3	2,23	78,6	1,34	13,8	1,26	22,1	2,12	75,0
G38	1,19	12,3	1,25	22,0	2,03	72,0	1,40	14,4	1,25	22,0	2,12	75,0	1,25	12,9	1,22	21,5	2,06	73,0
G39	1,27	13,1	1,20	21,1	2,03	72,0	1,26	13,0	1,25	22,0	2,05	72,6	1,33	13,9	1,26	22,1	2,07	73,3
İ20	-	-	1,85	32,0	-	-	-	-	1,31	23,0	-	-	-	-	-	-	-	-
M3	1,28	13,2	1,22	21,5	2,10	74,3	1,34	13,8	1,29	22,6	2,05	72,6	2,13	21,7	1,92	33,1	2,52	88,3
M4	1,20	12,4	1,24	21,8	2,06	73,0	1,24	12,8	1,23	21,6	2,08	73,6	1,27	13,1	1,30	22,8	2,08	73,6
M9 Y	1,14	11,8	1,20	21,1	2,02	71,6	1,26	13,0	1,24	21,8	2,09	74,0	1,33	13,9	1,24	21,8	2,06	73,0
M11	1,28	13,2	1,23	21,6	2,15	76,0	1,43	14,7	1,50	26,1	2,08	73,6	-	-	-	-	-	-
M13	1,55	15,9	1,39	24,3	2,16	76,3	1,23	12,7	1,20	21,1	2,11	74,6	1,32	13,6	1,25	22,0	2,16	76,3
M17	1,20	12,4	1,23	21,6	2,03	72,0	1,36	14,0	1,25	22,0	2,12	75,0	1,23	12,7	1,32	23,1	2,08	73,6
M25	1,17	12,1	1,25	22,0	2,08	73,6	1,51	15,5	1,38	24,1	2,06	73,0	1,29	13,3	1,27	22,3	2,17	76,6

Çizelge 3.3. (Devam) EPS Üretimi İçin Seçilen İzolatların Viskoziteleri

İzolat Numarası	24 SAAT						48 SAAT						72 SAAT					
	60 rpm		100 rpm		200 rpm		60 rpm		100 rpm		200 rpm		60 rpm		100 rpm		200 rpm	
	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%
M28	1,22	12,6	1,25	22,0	2,06	73,0	1,26	13,0	1,24	21,8	2,08	73,6	1,28	13,2	1,24	21,8	2,13	75,3
M29	1,37	14,1	1,32	23,1	2,05	72,6	1,39	13,4	1,29	22,6	2,09	74,0	1,35	13,9	1,2	21,3	2,03	73,6
M30	1,16	12,0	1,24	21,8	2,06	73,0	1,24	12,8	1,24	21,8	2,11	74,6	1,24	12,8	1,19	21,0	2,07	73,3
M31	1,61	16,5	1,28	22,5	2,03	72,0	1,27	13,1	1,23	21,6	2,06	73,0	1,30	13,4	1,22	21,5	2,16	76,3
M32	1,15	11,9	1,24	21,8	2,06	73,0	1,29	13,3	1,24	21,8	2,11	74,6	1,30	13,4	1,23	21,6	2,10	74,3
M33	1,22	12,6	1,25	22,0	2,03	72,0	1,24	12,8	1,20	21,1	2,07	73,3	1,32	13,6	1,21	21,3	2,11	74,6
M34	1,20	12,4	1,26	22,1	2,08	73,6	1,26	13,0	1,27	22,3	2,08	73,6	1,25	12,9	1,22	21,5	2,11	74,6
M36	1,21	12,5	1,27	22,3	2,02	71,6	1,60	16,4	1,36	23,8	2,10	74,3	1,28	13,2	1,25	22,0	2,09	74,0
M38	1,89	19,3	1,40	24,5	2,03	72,0	1,24	12,8	1,22	21,5	2,08	73,6	1,29	13,3	1,22	21,5	2,14	75,6
M39	1,22	12,6	1,22	21,5	2,06	73,0	1,48	15,2	1,28	22,5	2,08	73,6	1,34	13,8	1,24	21,8	2,12	75,0
M40	1,24	12,8	1,24	21,8	2,11	74,6	1,51	15,5	1,33	23,3	2,15	76,0	1,29	13,3	1,26	2,1	2,11	4,6
M43	1,20	12,4	1,22	21,5	2,07	73,3	1,23	12,7	1,23	21,6	2,06	73,0	1,35	13,9	1,32	23,1	2,16	76,3
M48	1,26	13,0	1,27	22,3	2,14	75,6	1,28	13,2	1,23	21,6	1,16	76,3	1,33	13,7	1,26	22,1	2,16	76,3
M49	1,21	12,5	1,26	22,1	2,05	72,6	1,18	12,2	1,24	21,8	2,08	73,6	1,23	12,7	1,23	21,6	2,12	75,0
M51	1,17	12,1	1,25	22,0	2,05	72,6	1,22	12,6	1,19	21,0	2,07	73,3	1,27	13,1	1,25	22,0	2,12	75,0
M64	3,15	31,9	2,08	35,8	2,00	71,0	1,26	13,0	1,23	21,6	2,11	74,6	1,43	14,7	1,30	22,8	2,10	74,3
M66	1,25	12,9	1,21	21,3	2,06	73,0	1,26	13,0	1,25	22,0	2,12	75,0	1,26	13,0	1,23	21,6	2,13	75,3

Çizelge 3.3. (Devam) EPS Üretimi İçin Seçilen İzolatların Viskoziteleri

İzolat Numarası	24 SAAT						48 SAAT						72 SAAT					
	60 rpm		100 rpm		200 rpm		60 rpm		100 rpm		200 rpm		60 rpm		100 rpm		200 rpm	
	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%
M74	1,25	12,9	1,25	22,0	2,16	76,3	1,31	13,5	1,27	22,3	2,16	76,3	1,30	13,4	1,27	22,3	2,13	75,3
M78	1,22	11,6	1,21	21,3	2,0	71,0	1,38	14,2	1,25	22,0	2,11	74,6	1,28	13,2	1,23	21,6	2,06	73,0
M80	1,24	12,8	1,17	20,6	2,01	71,3	1,38	14,2	1,29	22,6	2,15	76,0	1,48	15,2	1,32	23,1	2,04	72,3
M82	1,19	12,3	1,24	21,8	2,04	72,3	1,22	12,6	1,20	21,1	2,07	73,3	1,32	13,6	1,28	22,5	2,12	75,0
M82.1	1,18	12,2	1,24	21,8	2,06	73,0	1,24	12,8	1,21	21,3	2,08	73,6	1,27	13,1	1,24	21,8	2,12	75,0
M82.2	1,14	11,8	1,28	22,5	2,04	72,3	1,25	12,9	1,23	21,6	2,10	74,3	1,30	13,4	1,26	22,1	2,13	75,3
M83	1,16	12,0	1,22	21,5	2,08	73,6	1,24	12,8	1,21	21,3	2,09	74,0	-	-	-	-	-	-
M84	1,19	12,3	1,24	21,8	2,06	73,0	1,17	12,1	1,20	21,1	2,11	74,6	1,31	13,5	1,27	22,3	2,13	75,3
M85	1,20	12,4	1,23	21,6	2,07	73,3	1,21	12,5	1,25	22,0	2,07	73,3	1,29	13,3	1,25	22,0	2,13	75,3
M88	1,24	12,8	1,25	22,0	2,15	76,0	1,29	13,3	1,27	22,3	2,16	76,3	1,31	13,5	1,25	22,0	2,11	74,6
M96.1	1,18	12,2	1,26	22,1	2,06	73,0	1,23	12,7	1,20	21,1	2,10	74,3	1,25	12,9	1,26	22,1	2,11	74,6
M96.2	1,19	12,3	1,25	22,0	2,05	72,6	1,24	12,8	1,23	21,6	2,10	74,3	1,48	15,2	1,43	25,0	2,12	75,0
M97	1,30	13,4	1,26	22,1	2,06	73,0	1,23	12,7	1,21	21,3	2,08	73,6	1,23	12,7	1,26	22,1	2,11	74,6
M99	1,25	12,9	1,23	21,6	2,18	77,0	1,31	13,5	1,26	22,1	2,14	75,6	1,28	13,2	1,23	21,6	2,12	75,0
M100	1,27	13,1	1,27	22,3	2,14	75,6	1,28	13,1	1,24	21,8	2,16	76,3	1,25	12,9	1,25	22,0	2,10	74,3
İM13	1,21	12,5	1,25	22,0	2,01	71,3	1,39	14,3	1,26	22,1	2,11	74,6	1,24	12,8	1,27	22,3	2,04	72,3
KM5	1,25	12,9	1,22	21,5	2,04	72,3	1,27	13,1	1,23	21,6	2,12	75,0	1,28	13,2	1,28	22,5	2,15	76,0

Çizelge 3.3. (Devam) EPS Üretimi İçin Seçilen İzolatların Viskoziteleri

İzolat Numarası	24 SAAT						48 SAAT						72 SAAT					
	60 rpm		100 rpm		200 rpm		60 rpm		100 rpm		200 rpm		60 rpm		100 rpm		200 rpm	
	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%	mpas	%
TM4	1,24	12,8	1,22	21,5	2,04	72,3	1,21	12,5	1,22	21,5	2,11	74,6	1,30	13,4	1,26	22,1	2,15	76,0
TM13	1,21	12,5	1,26	22,1	2,04	72,3	2,28	13,2	1,23	21,6	2,16	76,3	2,76	18,0	1,44	25,1	2,13	75,3
TM15	1,88	19,2	1,64	28,5	2,22	78,3	1,89	19,3	1,78	30,8	2,25	79,3	1,77	18,1	1,64	28,5	2,27	80,0
TM17	1,20	12,4	1,22	21,5	2,02	71,6	1,25	12,6	1,23	21,6	2,12	75,0	1,32	13,6	1,23	21,6	2,02	71,6
TM18	1,22	12,6	1,24	21,8	2,08	73,6	1,25	12,9	1,22	21,5	2,13	75,3	1,62	16,6	1,36	23,8	2,11	74,6
9	1,20	12,4	1,22	21,5	2,08	73,6	1,32	13,6	1,27	22,3	2,17	76,6	1,29	13,3	1,27	22,3	2,09	74,0
10	-	-	1,24	21,8	-	-	-	-	1,21	21,3	-	-	-	-	-	-	-	-
11	1,28	13,2	1,24	21,8	2,17	76,6	1,26	13,0	1,24	21,8	2,16	76,3	1,32	13,6	1,28	22,5	2,13	75,3
12	1,27	13,1	1,25	22,0	2,15	76,0	1,25	12,9	1,26	22,1	2,12	75,0	1,30	13,4	1,21	21,3	2,14	75,6
13	1,27	13,1	1,22	21,5	2,17	76,6	1,29	13,3	1,25	22,0	2,02	71,6	1,29	13,3	1,24	21,8	2,12	75,0
14	1,29	13,2	1,25	22,0	2,15	76,0	1,23	12,7	1,26	22,1	2,13	75,3	1,29	13,3	1,18	20,8	2,15	76
15	1,29	13,3	1,28	22,5	2,16	76,3	1,30	13,4	1,27	22,3	2,11	74,6	1,26	13,0	1,25	22,0	2,10	74,3
16	-	-	2,21	38,0	-	-	-	-	1,32	23,1	-	-	-	-	-	-	-	-
84	1,18	12,2	1,22	21,5	2,06	73,0	1,27	13,1	1,21	21,3	2,07	73,3	1,24	12,8	1,18	20,8	2,06	73,0
92	1,26	13,0	1,21	21,3	2,06	73,0	1,26	13,0	1,23	21,6	2,11	74,6	1,26	13,0	1,23	21,6	2,14	75,6
120	1,25	12,9	1,23	21,6	2,08	73,6	1,25	12,9	1,21	21,3	2,07	73,3	1,20	12,4	1,23	21,6	2,04	72,3
109.1	-	-	1,22	21,5	-	-	-	-	1,37	24,0	-	-	-	-	-	-	-	-
109.2	-	-	1,29	22,5	-	-	-	-	1,33	23,3	-	-	-	-	-	-	-	-
14 Y	-	-	1,36	23,8	-	-	-	-	1,24	21,8	-	-	-	-	-	-	-	-
Standart	1,26	13,0	1,23	21,6	2,09	74,0												

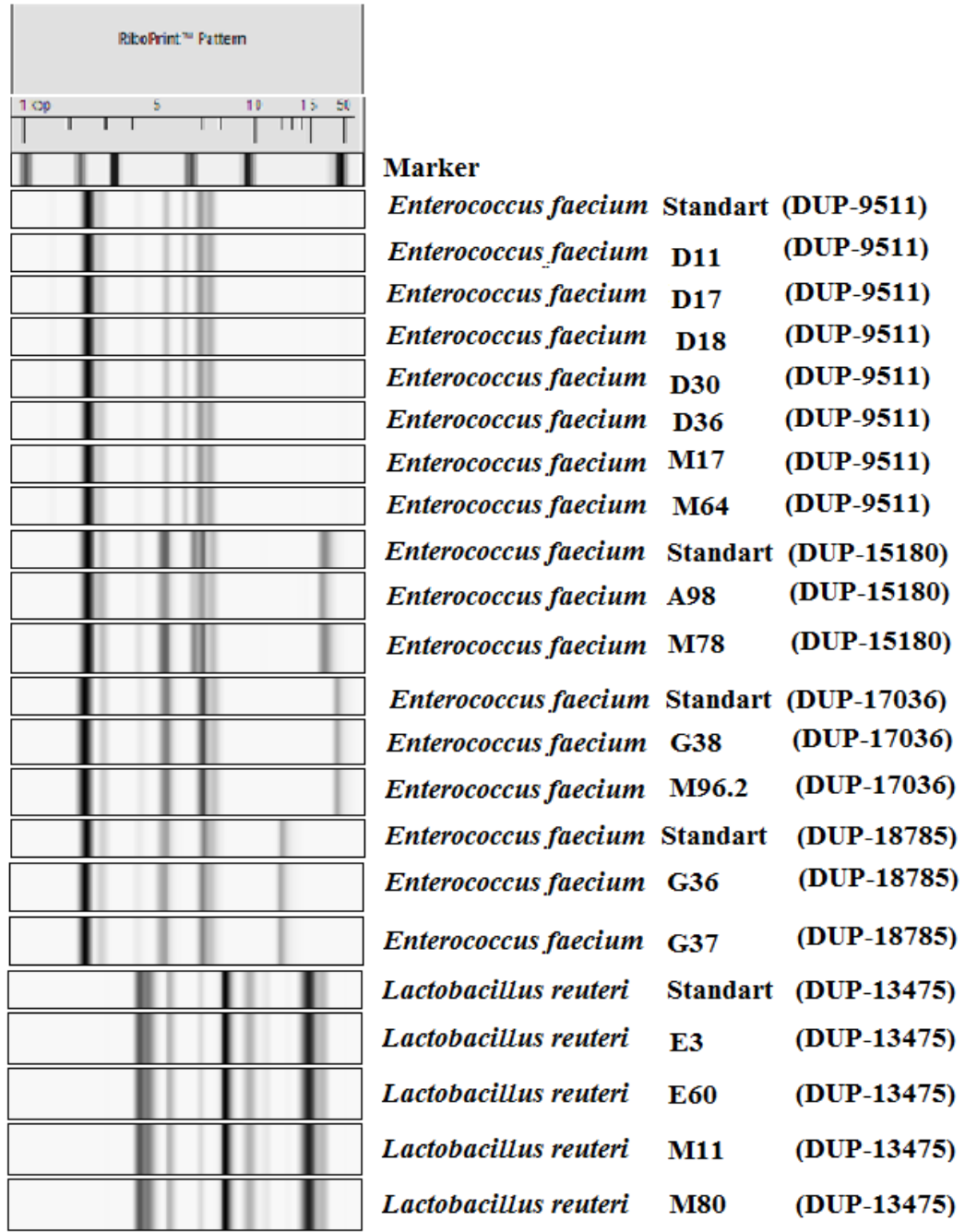
LAB' nin EPS üretimleri MRS broth içerisinde viskozite değişimleri ölçülerek değerlendirilmiş ve sonuçlar çizelge 3.3' te verilmiştir.

Yapılan çalışmada izolatların viskozitelerinin zamana bağlı olarak değişiklik gösterdiği bulunmuştur. Viskoziteleri ölçülen izolatların 100 rpm 'deki ölçümleri dikkate alınmıştır. 100 rpm' deki ölçümlere göre izolatlardan 15 tanesinin (B15, B26, D7, D17, D30, E3, E79, E1246, İ20, M13, M29, M38, M64, 16, 14 Y) 24. saatte viskozitesi 1,31-2,21 mPas arasında bulunmuştur, 21 izolatın (A4, A5, A84, D3, D11, D14, D18, E60, E63.1, E9761, G33, G35, G36, G37, M11, M25, M36, M40, TM15, 109.1, 109.2) 48. saatte viskozitesi 1,31-1,78 arasında bulunmuştur ve 12 izolatın (A96, A109, D16, D20, D27, G20, G32, M3, M17, M80, M96.2, TM18) ise 72. saatte viskozitesinin 1,31-1,92 arasında olduğu bulunmuştur. Yapılan çalışmada izolatların viskozitelerinin fazla olmadığı tespit edilmiştir. İzolatlardan en yüksek viskozite değerine ve EPS üretim yeteneğine sahip olanlardan 10 izolat (B26, B31, E60, G36, G37, G38, M78, M80, M96.2, 109.1) seçilerek daha ileriki çalışmalarda kullanılmak üzere ayrılmıştır.

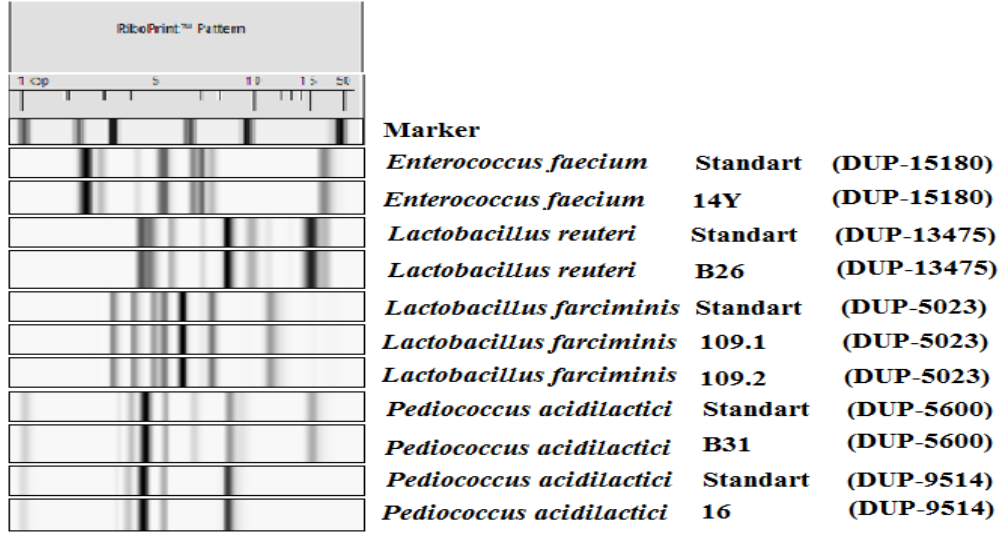
3.4. Laktik Asit Bakteri İzolatlarının Riboprinter Sistem İle Tanımlanması

Riboprinter sistem ile yapılan tanımlamalar sonucunda seçilmiş olan izolatlardan 6 tanesi *Lactobacillus reuteri* (B26, E60, E9761, M11, M80, İ20,), 29 tanesi *Enterococcus faecium* (A84, D2, D11, D17, D18, D21, D30, D31, D34, E65, E79, G22, G36, G37, G38, M13, M17, M25, M38, M40, M64, M74, M78, M83, M96.2, TM18, TM17, 12, 14 Y). 2 tanesi *Lactobacillus farciminis* (109.1, 109.2), 2 tanesi *Pediococcus acidilactici* (B31, 16), 1 tanesi *Leuconostoc mesenteroides* (92), 1 tanesi *Enterococcus faecalis* (M3), 2 tanesi (D36, G20) *Leuconostoc gelidum* olarak bulunmuştur.

LAB' lerinin ribotiplendirme sistemi ile tanımlanması sonucunda elde edilen türler Çizelge 3.4. de gösterilmiştir. Ayrıca riboprinter sistemi ile yapılan çalışma sonucunda elde edilen bant profilleri Şekil 3.1., Şekil 3.2.' de ve izolatların mikroskopik görüntüleri Şekil 3.3., Şekil 3.4, Şekil 3.5, Şekil 3.6, Şekil 3.7, Şekil 3.8, Şekil 3.9, Şekil 3.10, Şekil 3.11 ve Şekil 3.12' de verilmiştir.



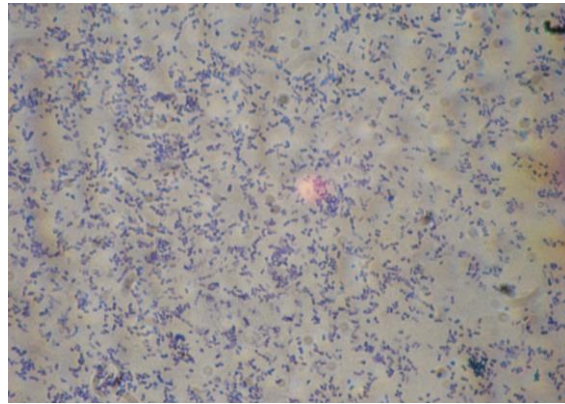
Şekil 3.1. Peynir örneklerine ait riboprinter sisteminden elde edilen bant profilleri ile iki türe ait standart bant profilleri



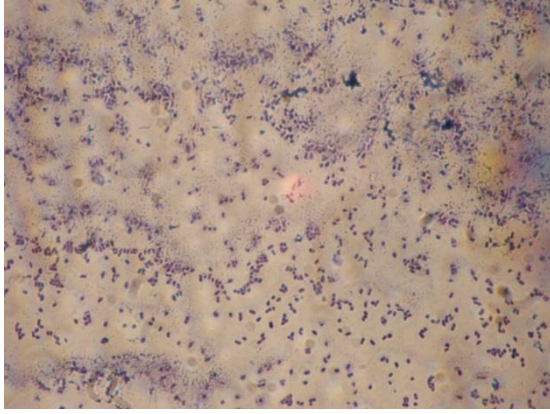
Şekil 3.2. Süt örneklerine ait riboprinter sisteminden elde edilen bant profilleri ile dört türe ait standart bant profilleri

Çizelge 3.4. Laktik Asit Bakteri İzolatlarının Riboprinter Sistem İle Tanımlanması

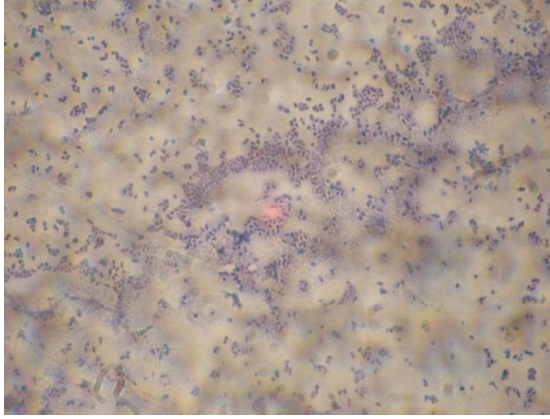
İzolat Numarası	Tanımlanan Tür	İzolat Numarası	Tanımlanan Tür
B26	<i>Lactobacillus reuteri</i>	G38	<i>Enterococcus faecium</i>
B31	<i>Pediococcus acidilactici</i>	M11	<i>Lactobacillus reuteri</i>
D11	<i>Enterococcus faecium</i>	M17	<i>Enterococcus faecium</i>
D17	<i>Enterococcus faecium</i>	M64	<i>Enterococcus faecium</i>
D18	<i>Enterococcus faecium</i>	M78	<i>Enterococcus faecium</i>
D30	<i>Enterococcus faecium</i>	M80	<i>Lactobacillus reuteri</i>
D36	<i>Leuconostoc gelidum</i>	M96.2	<i>Enterococcus faecium</i>
E3	<i>Lactobacillus reuteri</i>	14 Y	<i>Enterococcus faecium</i>
E60	<i>Lactobacillus reuteri</i>	109.1	<i>Lactobacillus farciminis</i>
G36	<i>Enterococcus faecium</i>	109.2	<i>Lactobacillus farciminis</i>
G37	<i>Enterococcus faecium</i>		



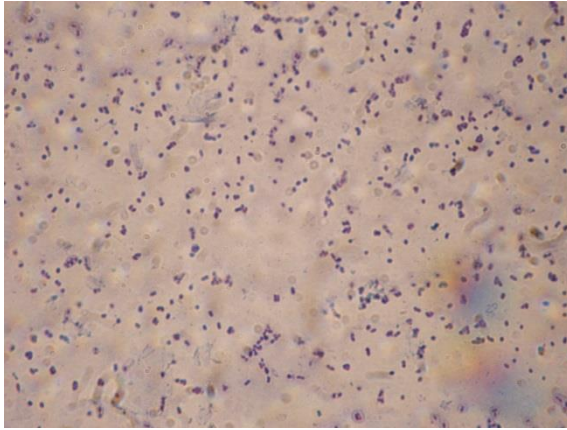
Şekil 3.3. G36 (*Enterococcus faecium*), izolatının ışık mikroskopunda görüntüsü. Büyütme; 100X, Boyama yöntemi; gram boyama.



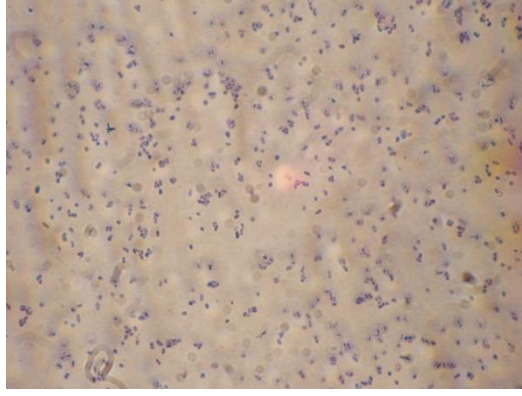
Şekil 3.4. G37 (*Enterococcus faecium*), izolatının ışık mikroskopunda görüntüsü. Büyütme; 100X, Boyama yöntemi; gram boyama.



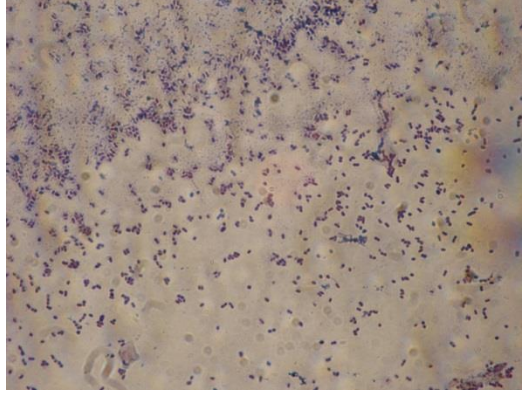
Şekil 3.5. G38 (*Enterococcus faecium*), izolatının ışık mikroskopunda görüntüsü. Büyütme; 100X, Boyama yöntemi; gram boyama.



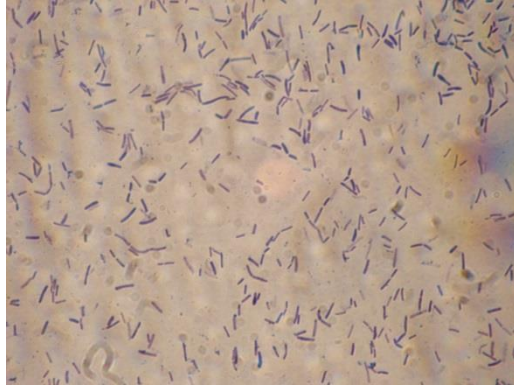
Şekil 3.6. M78 (*Enterococcus faecium*), izolatının ışık mikroskopunda görüntüsü. Büyütme; 100X, Boyama yöntemi; gram boyama.



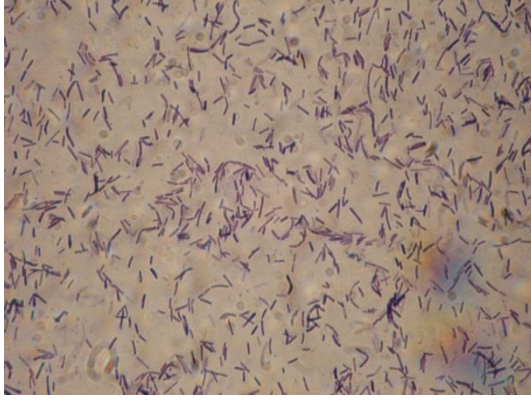
Şekil 3.7. M96.2 (*Enterococcus faecium*), izolatının ışık mikroskopunda görüntüsü. Büyütme; 100X, Boyama yöntemi; gram boyama.



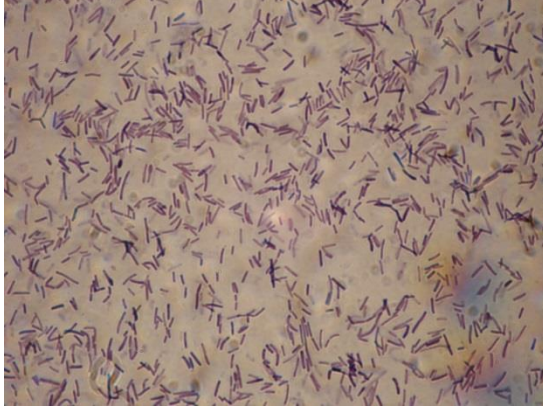
Şekil 3.8. B31 (*Pediococcus acidilactici*), izolatının ışık mikroskopunda görüntüsü. Büyütme; 100X, Boyama yöntemi; gram boyama.



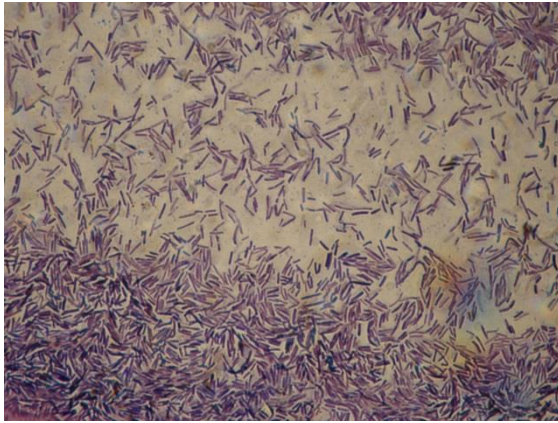
Şekil 3.9. B26 (*Lactobacillus reuteri*), izolatının ışık mikroskopunda görüntüsü. Büyütme; 100X, Boyama yöntemi; gram boyama.



Şekil 3.10. E60 (*Lactobacillus reuteri*), izolatının ışık mikroskopunda görüntüsü. Büyütme; 100X, Boyama yöntemi; gram boyama



Şekil 3.11. M80 (*Lactobacillus reuteri*), izolatının ışık mikroskopunda görüntüsü. Büyütme; 100X, Boyama yöntemi; gram boyama



Şekil 3.12. 109.1 (*Lactobacillus farciminis*), izolatının ışık mikroskopunda görüntüsü. Büyütme; 100X, Boyama yöntemi; gram boyama

3.5. Laktik Asit Bakteri İzolatlarının Ekzopolisakkarit Üretimini Belirlenmesi

LAB' nin farklı karbon kaynaklarında EPS üretimleri mikrotitre plaklarında incelenmiştir. Sonuçlar çizelge 3.5'de verilmiştir.

(OD: boyanmış örnekler, ODc: boyanmamış örnekler)

$OD \leq ODc$ biofilm oluşumu yok (-)

$ODc < OD \leq 2 \times ODc$ zayıf biofilm (+)

$2 \times ODc < OD \leq 4 \times ODc$ orta biofilm (++)

$4 \times ODc < OD$ kuvvetli biofilm (+++)

LAB' lerinin EPS üretiminin belirlenmesinde kullanılan bir başka yöntem olan BHI + % 1 laktoz +konsantre kongo kırmızısı veya ruthenium red (CRA metodu) içeren besi ortamında izolatların ekstraselüler polisakkarit üretimleri incelenmiştir. EPS üretimi olan izolatlar besi ortamında siyah renkli koloniler oluştururken, EPS üretimi olmayan izolatlar renksiz koloniler oluşturmuştur (şekil 3.13).

Yapılan çalışmada 7 izolatta EPS üretimi gözlenmemiştir, 14'ünde EPS üretimi çok az miktarda gözlemlenmiştir. Diğer izolatlarda EPS üretiminin fazla miktarda olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar çizelge 3.5.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.13. CRA metoduna göre LAB gelişimleri

Çizelge 3.5. Laktik Asit Bakteri İzolatlarının EPS Üretim Aktivitesinin Belirlenmesi (+++:çok gelişmiş, ++: orta gelişmiş, +: az gelişmiş -: gelişim yok)

İzolat Numarası	Farklı Şeker Kaynakları				BHI + Laktoz + Kongo Kırmızısı Agar
	Glikoz	Fruktoz	Sükroz	Laktoz	
A4	-	-	+	-	+
A5	-	++	-	+	+
A84	+	+++	-	+	++
A96	-	-	-	-	+
A98	-	+++	+	+++	++
A109	-	+++	+	+++	-
B2	-	+++	-	+++	-
B15	-	+++	-	+++	++
B26	-	+++	-	+++	++
B31	-	+++	+	+++	++
D1	-	-	++	-	++
D2	-	-	-	-	++
D3	-	-	+	-	++
D4	-	-	++	-	+
D5	-	-	++	+	±
D6	-	-	+	-	++
D7	+++	-	-	-	+
D8	++	-	-	-	±
D9	+++	-	-	-	+
D10	-	-	-	-	+
D11	-	-	-	-	+
D12	-	-	+	+	++
D13	+	-	++	-	++
D14	-	-	-	+++	+
D15	+	-	++	-	++
D16	-	-	-	-	+
D17	+	-	+	-	+
D18	-	-	+	-	+
D19	-	-	-	-	+
D20	-	-	-	++	+

Çizelge 3.5. (Devam) Laktik Asit Bakteri İzolatlarının EPS Üretim Aktivitesinin Belirlenmesi
(+++ : çok gelişmiş, ++ : orta gelişmiş, + : az gelişmiş - : gelişim yok)

İzolat Numarası	Farklı Şeker Kaynakları				BHI + Laktoz + Kongo Kırmızısı Agar
	Glikoz	Fruktoz	Sükroz	Laktoz	
D21	-	-	-	+	+
D22	-	-	-	-	+
D24	-	-	-	-	+
D25	-	-	-	+	+
D27	-	-	-	+	++
D28	-	-	-	-	+
D29	-	-	-	-	+
D30	-	-	+	-	+
D31	+++	-	-	-	+
D33	+++	-	++	+++	++
D34	+++	-	+++	+	+
D35	+	-	-	-	+
D36	-	-	-	+++	+
E3	-	+++	-	+++	++
E9	+	-	+++	-	++
E15	-	-	-	-	±
E48.1B	+++	-	-	-	++
E48.2K	+++	-	-	-	++
E58	-	+++	-	+++	+
E60	-	+++	-	+++	+
E62	-	-	-	-	+
E63.1	+++	+	+	-	±
E63.2	-	-	+++	-	++
E65	-	-	+	+++	+
E70	+++	-	+	+	-
E79	+	-	-	-	+
E123	-	-	-	-	±
E130.1	-	-	-	-	+
E130.2	+	-	-	-	+
E1206	-	-	-	-	±

Çizelge 3.5. (Devam) Laktik Asit Bakteri İzolatlarının EPS Üretim Aktivitesinin Belirlenmesi
(+++ : çok gelişmiş, ++ : orta gelişmiş, + : az gelişmiş - : gelişim yok)

İzolat Numarası	Farklı Şeker Kaynakları				BHI + Laktoz + Kongo Kırmızısı Agar
	Glikoz	Fruktoz	Sükroz	Laktoz	
E1246	-	+	-	+	++
E1346	+	-	-	-	-
E9761	+	-	-	-	+
G20	-	-	-	-	+
G21	+	-	+	++	+
G22	+	-	-	++	+
G24	+	-	+	+	+
G32	++	+	+++	-	±
G33	-	-	-	-	+
G34	+	+	+++	-	±
G35	-	-	+++	-	±
G36	+	-	++	++	+
G37	+++	-	+++	+++	+
G38	++	-	++	+++	+
İ20	+	-	-	-	+
M3	-	-	-	-	++
M4	+++	-	-	+	+
M9 Y	-	-	-	-	±
M11	-	-	-	+	++
M13	-	-	+++	-	++
M17	+++	-	+	++	+
M25	-	-	+++	-	+
M28	-	-	+++	-	+
M29	-	-	+	-	±
M30	-	-	+++	+	+
M31	+++	+	-	-	+
M32	++	-	-	-	+
M33	-	-	+++	-	+
M34	-	-	+++	-	++
M36	-	-	+++	+	++

Çizelge 3.5. (Devam) Laktik Asit Bakteri İzolatlarının EPS Üretim Aktivitesinin Belirlenmesi
(+++ : çok gelişmiş, ++ : orta gelişmiş, + : az gelişmiş - : gelişim yok)

İzolat Numarası	Farklı Şeker Kaynakları				BHI + Laktoz + Kongo Kırmızısı Agar
	Glikoz	Fruktoz	Sükroz	Laktoz	
M38	+++	+	+	-	+
M39	+	-	-	-	+
M40	-	-	+++	+	-
M43	++	-	-	+	+
M48	+	+	+	-	++
M49	+	+	-	+	++
M51	-	-	+++	-	++
M64	-	-	-	+++	++
M66	-	-	-	+++	++
M74	+	-	+	+++	++
M78	+++	+	++	+	+
M80	+++	-	+++	+++	+
M82	-	-	-	++	++
M82.1	-	+	+++	+++	-
M82.2	-	-	+++	+++	+
M83	-	-	-	+++	++
M84	-	-	+++	+++	++
M85	-	-	+++	+++	+
M88	-	+	+++	+++	±
M96.1	-	+	+++	+++	++
M96.2	-	+	+++	+++	++
M97	-	-	+++	+++	++
M99	-	+	+++	+++	-
M100	-	+	+++	+++	+
İM13	+	-	+	+++	+
KM5	-	-	-	+++	++
TM4	-	-	-	+++	++
TM13	-	-	-	+	++
TM15	-	-	-	-	+
TM17	-	+	-	-	+

Çizelge 3.5. (Devam) Laktik Asit Bakteri İzolatlarının EPS Üretim Aktivitesinin Belirlenmesi
(+++ : çok gelişmiş, ++ : orta gelişmiş, + : az gelişmiş - : gelişim yok)

İzolat Numarası	Farklı Şeker Kaynakları				BHI + Laktoz + Kongo Kırmızısı Agar
	Glikoz	Fruktoz	Sükroz	Laktoz	
TM18	-	-	-	+++	+
9	-	-	-	+	+
10	-	-	-	-	+
11	-	-	-	+	++
12	-	-	+	+	++
13	-	-	+	-	±
14	+	+	+	-	++
15	+	-	++	-	++
16	-	+	+	+	+
84	-	++	++	++	+
92	-	-	-	-	++
120	-	+	++	+	±
109.1	-	+	+++	+++	+
109.2	-	+	+++	++	+
14 Y	-	+++	-	+++	+

3.6. Laktik Asit Bakterilerinin Ekstraselüler Polisakkarit Üretimine Karbon ve Azot Kaynaklarının Etkisi

LAB' lerinden yüksek EPS üretimi olan 10 izolat (B26, B31, E60, G36, G37, G38, M78, M96.2, M80, 109.1) seçilerek EPS üretiminin yüksek olduğu karbon kaynağı ile pepton, et ekstraktı, maya ekstraktı, cazamino asit ve yeast nitrojen base (maya azot bazı) olmak üzere 5 farklı azot kaynağındaki EPS miktarları çizelge 3.6., çizelge 3.7., çizelge 3.8., çizelge 3.9., çizelge 3.10., çizelge 3.11., çizelge 3.12., çizelge 3.13., çizelge 3.14. ve çizelge 3.15. 'de verilmiştir.

Çizelge 3.6. *L.reuteri*-E60 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi

FARKLI KAYNAKLAR	ÖRNEK ALMA SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (g)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
			mpas	%			
Pepton- Glikoz	6. SAAT	5,99	1,40	24,5	0,75	1,09x 10 ⁷	44,509
	12.SAAT	5,30	1,35	23,6	0,76	1,28x10 ¹¹	47,911
	24.SAAT	4,58	1,30	22,8	0,88	1,2 x 10 ¹¹	46,505
	48.SAAT	4,52	1,33	23,3	0,96	1,35x10 ¹¹	47,165
	72.SAAT	4,31	1,48	25,8	0,84	1,18x10 ¹⁰	44,821
Pepton- Laktoz	6.SAAT	6,46	1,41	24,6	0,76	0,99 x 10 ⁷	45,116
	12.SAAT	6,27	1,38	24,1	0,98	0,28 x 10 ⁹	47,252
	24.SAAT	5,82	1,46	25,5	0,81	1,80x10 ¹²	46,349
	48.SAAT	5,86	1,40	24,5	0,91	0,78x10 ¹¹	47,564
	72.SAAT	5,85	1,46	25,5	0,92	1,31 x 10 ⁹	43,398
Et ekstraktı – Glikoz	6.SAAT	6,11	1,38	24,1	0,92	0,34 x 10 ⁷	45,568
	12.SAAT	5,41	1,36	23,8	0,95	0,60 x 10 ⁹	44,769
	24.SAAT	4,71	1,34	23,5	0,66	1,75x10 ¹⁰	44,717
	48.SAAT	4,45	1,35	23,6	0,93	2,04x10¹²	49,040
	72.SAAT	4,20	1,45	25,3	0,98	1,28x10 ¹²	43,432
Et ekstraktı – Laktoz	6.SAAT	6,50	1,39	24,3	0,90	0,3 x 10 ⁷	46,957
	12.SAAT	6,47	1,40	24,5	0,97	0,46 x 10 ⁹	45,464
	24.SAAT	6,01	1,42	24,8	0,95	0,26x10 ¹²	46,332
	48.SAAT	5,99	1,42	24,8	0,85	0,22x10 ¹¹	49,335
	72.SAAT	6,02	1,42	24,8	0,85	1,05x10 ¹¹	43,762
Maya ekstraktı - Glikoz	6.SAAT	6,08	1,40	24,5	0,69	0,42 x 10 ⁷	46,644
	12.SAAT	5,58	1,35	23,6	0,83	1,8 x 10 ¹⁰	46,280
	24.SAAT	4,60	1,34	23,5	0,89	2,32x10 ¹²	47,061
	48.SAAT	4,48	1,40	24,5	0,98	2,08x10 ¹²	47,581
	72.SAAT	4,20	1,43	25,0	0,94	1,99x10 ¹¹	42,460

Çizelge 3.6. (Devam) *L.reuteri*-E60 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi

FARKLI KAYNAKLAR	ÖRNEK ALMA SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (g)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
			mpas	%			
Maya ekstraktı - Laktöz	6.SAAT	6,51	1,42	24,8	0,96	$0,56 \times 10^7$	46,123
	12.SAAT	6,31	1,35	23,6	0,69	$0,21 \times 10^{11}$	45,776
	24.SAAT	5,79	1,48	25,8	0,78	$4,28 \times 10^{12}$	45,811
	48.SAAT	5,78	1,37	24,0	0,92	$1,06 \times 10^{12}$	47,703
	72.SAAT	5,79	1,43	25,0	0,87	$0,26 \times 10^9$	44,821
Yeast Base- Glikoz	6.SAAT	6,19	1,28	22,5	0,79	$0,2 \times 10^7$	46,470
	12.SAAT	6,24	1,29	22,6	0,87	$0,32 \times 10^7$	47,525
	24.SAAT	6,10	1,30	22,8	0,96	$0,38 \times 10^8$	45,845
	48.SAAT	6,09	1,30	22,8	0,86	$0,21 \times 10^8$	47,391
	72.SAAT	5,65	1,35	23,6	0,97	$1,53 \times 10^{10}$	43,033
Yeast Base- Laktöz	6.SAAT	6,57	1,31	23,0	0,75	$1,6 \times 10^6$	44,368
	12.SAAT	6,58	1,29	22,6	0,96	$0,4 \times 10^7$	40,533
	24.SAAT	6,36	1,34	23,5	0,85	$0,96 \times 10^7$	443665
	48.SAAT	6,42	1,33	23,3	0,95	$1,41 \times 10^7$	47,530
	72.SAAT	6,34	1,38	24,1	1,02	$1,7 \times 10^7$	42,825
Casamino - Glikoz	6.SAAT	5,87	1,33	23,3	0,81	$0,42 \times 10^7$	47,599
	12.SAAT	5,83	1,38	24,1	0,85	$0,3 \times 10^8$	46,905
	24.SAAT	5,67	1,37	24,0	0,82	$0,28 \times 10^9$	45,030
	48.SAAT	5,56	1,40	24,5	1,00	$0,32 \times 10^8$	47,495
	72.SAAT	5,45	1,40	24,5	0,93	$0,32 \times 10^8$	42,911
Casamino - Laktöz	6.SAAT	6,38	1,43	25,0	0,83	$1,4 \times 10^6$	48,797
	12.SAAT	6,30	1,37	24,0	0,89	$0,7 \times 10^7$	47,877
	24.SAAT	6,20	1,40	24,5	1,20	$0,28 \times 10^8$	45,793
	48.SAAT	6,10	1,34	23,5	0,89	$1,88 \times 10^8$	47,634
	72.SAAT	6,02	1,46	25,5	0,97	$0,41 \times 10^8$	44,109

E60 izolatı (*L.reuteri*-E60) karbon kaynağı olarak glikoz, azot kaynağı olarak da et ekstraktını içeren besi ortamında 48 saatte en yüksek EPS üretilmiştir

(49,04 mg/L). Çizelge 3.6’ da görüldüğü gibi bu ortamda bakteri iyi gelişmiştir. Viskozitesi 1,35 mpas olarak ölçülmüştür.

Çizelge 3.7. *L. reuteri*-B26 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi

FARKLI KAYNAKLAR	ÖRNEK ALMA SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (g)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
			mpas	%			
Pepton- Glikoz	6. SAAT	6,38	1,37	24,0	0,982	$1,05 \times 10^4$	41,089
	24.SAAT	5,18	1,31	23,0	1,181	$3,07 \times 10^8$	42,460
	48.SAAT	4,97	1,38	24,1	1,237	$2,96 \times 10^8$	41,436
	72.SAAT	4,83	1,28	22,5	1,093	$2,21 \times 10^7$	45,307
Pepton- Laktoz	6.SAAT	6,94	1,42	24,8	1,222	7×10^3	41,939
	24.SAAT	5,61	1,37	24,0	1,374	$4,51 \times 10^9$	41,280
	48.SAAT	5,15	1,45	25,3	1,453	$3,97 \times 10^8$	42,148
	72.SAAT	5,00	1,36	23,8	0,952	$2,49 \times 10^7$	45,585
Et ekstraktı - Glikoz	6.SAAT	6,49	1,35	23,6	0,957	$2,55 \times 10^4$	42,130
	24.SAAT	5,02	1,32	23,1	1,262	$3,23 \times 10^9$	45,047
	48.SAAT	4,90	1,39	24,3	1,428	$1,78 \times 10^8$	44,422
	72.SAAT	4,78	1,31	23,0	0,937	$1,38 \times 10^7$	45,550
Et ekstraktı - Laktoz	6.SAAT	6,75	1,38	24,1	1,317	$1,6 \times 10^4$	41,905
	24.SAAT	5,43	1,41	24,6	1,261	$2,92 \times 10^9$	42,234
	48.SAAT	5,18	1,47	25,6	1,264	$3,59 \times 10^8$	44,215
	72.SAAT	5,06	1,37	24,0	1,324	$2,35 \times 10^7$	47,738
Maya ekstraktı - Glikoz	6.SAAT	6,44	1,33	23,3	1,298	$7,5 \times 10^3$	44,457
	24.SAAT	5,07	1,33	23,3	1,215	$3,46 \times 10^8$	43,467
	48.SAAT	4,86	1,38	24,1	1,186	$2,96 \times 10^8$	43,484
	72.SAAT	4,74	1,32	23,1	1,524	$2,09 \times 10^7$	45,273

Çizelge 3.7. (Devam) *L. reuteri*-B26 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi

FARKLI KAYNAKLAR	ÖRNEK ALMA SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (g)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
			mpas	%			
Maya ekstraktı - Laktöz	6.SAAT	6,82	1,37	24,0	1,424	$9,5 \times 10^3$	43,363
	24.SAAT	5,69	1,38	24,1	1,333	$2,90 \times 10^9$	44,057
	48.SAAT	5,27	1,45	25,3	1,401	$2,96 \times 10^8$	42,564
	72.SAAT	5,13	1,36	23,8	1,263	$2,38 \times 10^7$	46,227
Yeast Base-Glikoz	6.SAAT	6,57	1,32	23,1	1,968	2×10^3	41,835
	24.SAAT	6,40	1,28	22,5	1,226	4×10^3	44,109
	48.SAAT	6,50	1,27	22,3	1,287	3×10^3	44,283
	72.SAAT	6,51	1,27	22,3	1,535	1×10^3	45,255
Yeast Base-Laktöz	6.SAAT	6,96	1,28	22,5	1,867	2×10^3	39,474
	24.SAAT	6,79	1,35	23,6	1,372	1×10^4	42,339
	48.SAAT	6,84	1,29	22,6	1,367	$1,7 \times 10^3$	44,283
	72.SAAT	6,93	1,28	22,5	1,303	5×10^3	46,106
Casamino - Glikoz	6.SAAT	6,24	1,30	22,8	2,52	5×10^3	42,877
	24.SAAT	6,18	1,37	24,0	1,123	$1,5 \times 10^4$	42,981
	48.SAAT	6,18	1,29	22,6	1,41	4×10^3	44,057
	72.SAAT	6,13	1,27	22,3	1,42	2×10^3	44,856
Casamino - Laktöz	6.SAAT	6,64	1,29	22,6	2,326	$1,8 \times 10^4$	44,543
	24.SAAT	6,58	1,29	22,6	1,333	7×10^3	44,561
	48.SAAT	6,57	1,35	23,6	1,361	5×10^3	45,759
	72.SAAT	6,58	1,31	23,0	1,308	3×10^3	46,540

B26 izolatı (*L. reuteri*-B26) en yüksek EPS değerini ($47,738 \text{ mg/L}$) karbon kaynağı olarak laktöz, azot kaynağı olarak et ekstraktı içeren besi ortamında 72 saatte üretmiştir ve viskozitesi $1,37 \text{ mpas}$ olarak ölçülmüştür.

Çizelge 3.8. *L. reuteri*-M80 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi

FARKLI KAYNAKLAR	ÖRNEK ALMA SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (g)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
			mpas	%			
Pepton-Glikoz	6. SAAT	6,50	1,73	30,0	1,475	1,5 x10 ⁴	40,845
	24.SAAT	5,25	1,56	27,1	2,388	5,13 x 10 ⁹	45,429
	48.SAAT	5,09	1,72	29,8	1,391	6,01x 10 ⁸	41,210
	72.SAAT	5,03	1,54	26,8	1,474	4,18x 10 ⁸	44,839
Pepton-Laktoz	6.SAAT	6,77	1,82	31,5	1,484	3 x10 ³	43,155
	24.SAAT	5,36	1,64	28,5	1,070	1,71x 10 ⁹	45,984
	48.SAAT	5,32	1,92	33,1	1,484	3,11x 10 ⁸	41,158
	72.SAAT	5,31	1,58	27,5	1,452	4,17x 10 ⁷	45,307
Et ekstraktı - Gikoz	6.SAAT	6,23	1,79	31,0	1,455	6 x10 ³	43,380
	24.SAAT	5,33	1,62	28,1	1,860	3,43x 10 ⁸	42,773
	48.SAAT	5,07	1,69	29,3	1,441	3,31x 10 ⁸	41,957
	72.SAAT	4,98	1,63	28,3	1,440	5,01x 10 ⁷	42,234
Et ekstraktı - Laktoz	6.SAAT	6,65	1,76	30,5	1,445	2,35 x10 ⁴	42,356
	24.SAAT	5,42	1,67	29,0	1,607	3,97x 10 ⁸	45,967
	48.SAAT	5,30	1,76	30,5	1,419	3,8x 10 ⁸	43,345
	72.SAAT	5,34	1,62	28,1	1,254	1,68x 10⁸	47,408
Maya ekstraktı - Glikoz	6.SAAT	6,44	1,61	28,0	1,446	1,95 x10 ⁴	44,474
	24.SAAT	5,39	1,57	27,3	2,495	2,65x 10 ⁸	45,950
	48.SAAT	5,19	1,66	28,8	1,420	2,12x 10 ⁸	44,075
	72.SAAT	5,11	1,54	26,8	1,040	3,93x 10 ⁷	45,932

Çizelge 3.8. (Devam) *L. reuteri*-M80 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi

FARKLI KAYNAKLAR	ÖRNEK ALMA SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (g)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
			mpas	%			
Maya ekstraktı - Laktoz	6.SAAT	6,70	1,82	31,5	1,436	$1,2 \times 10^4$	44,196
	24.SAAT	5,55	1,63	28,3	1,410	$3,64 \times 10^9$	44,023
	48.SAAT	5,44	1,65	28,6	1,482	$1,96 \times 10^8$	43,172
	72.SAAT	5,43	1,59	27,6	1,356	$3,54 \times 10^7$	45,464
Yeast Base-Glikoz	6.SAAT	6,62	1,68	29,1	1,434	8×10^3	42,911
	24.SAAT	6,59	1,68	29,1	1,805	$1,6 \times 10^4$	45,516
	48.SAAT	6,56	1,65	28,6	1,328	8×10^3	42,425
	72.SAAT	6,58	1,66	28,8	1,090	1×10^3	47,251
Yeast Base-Laktoz	6.SAAT	7,01	1,75	30,3	1,399	6×10^3	42,321
	24.SAAT	6,94	1,59	27,6	1,101	4×10^3	43,519
	48.SAAT	6,94	1,63	28,3	1,492	1×10^1	41,644
	72.SAAT	6,97	1,49	26,0	1,485	1×10^1	44,439
Casamino - Glikoz	6.SAAT	6,37	1,73	30,0	1,442	6×10^3	43,484
	24.SAAT	6,30	1,64	28,5	0,899	$1,1 \times 10^4$	45,359
	48.SAAT	6,27	1,75	30,3	1,397	7×10^3	43,432
	72.SAAT	6,29	1,58	27,5	1,322	4×10^3	42,078
Casamino - Laktoz	6.SAAT	6,65	1,80	31,1	1,418	9×10^3	45,134
	24.SAAT	6,55	1,67	29,0	0,671	$1,85 \times 10^4$	43,970
	48.SAAT	6,58	1,73	30,0	1,367	$1,1 \times 10^4$	45,377
	72.SAAT	6,55	1,59	27,6	1,237	<30	44,092

M80 izolatı (*L. reuteri*-M80) en yüksek EPS değerini (47,408mg/L) karbon kaynağı olarak laktoz, azot kaynağı olarak et ekstraktının bulunduğu besi ortamında 72 saatte üretmiştir ve viskozitesi 1,62 mpas olarak ölçülmüştür.

Çizelge 3.9. *E. faecium*-M96.2 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi

FARKLI KAYNAKLAR	ÖRNEK ALMA SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (g)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
			mpas	%			
Pepton- Glikoz	6. SAAT	5,99	1,28	22,5	1,169	1,52x 10 ⁸	42,651
	12.SAAT	5,71	1,30	22,8	1,348	2,08x 10 ⁸	45,845
	24.SAAT	4,90	1,39	24,3	1,052	3,08x 10 ⁹	42,842
	48.SAAT	4,81	1,41	24,6	1,023	4,48x 10 ⁸	46,523
	72.SAAT	4,75	1,46	25,5	1,070	6,04x 10 ⁸	46,783
Pepton- Laktoz	6.SAAT	6,51	1,29	22,6	1,231	8,6 x 10 ⁶	45,793
	12.SAAT	6,41	1,40	24,5	1,321	7,44x 10 ⁹	46,158
	24.SAAT	5,10	1,38	24,1	1,192	3,57x 10 ⁸	46,627
	48.SAAT	5,01	1,33	23,3	1,205	1,23x 10 ⁶	44,839
	72.SAAT	4,98	1,35	23,6	1,044	1,10x 10 ⁶	47,148
Et ekstraktı - Gikoz	6.SAAT	6,01	1,30	22,8	1,055	3,25x 10 ⁷	42,425
	12.SAAT	5,82	1,34	23,5	0,995	2,12x 10 ⁸	45,012
	24.SAAT	4,97	1,35	23,6	1,313	2,41x 10 ⁸	43,450
	48.SAAT	4,87	1,36	23,8	1,209	2,61x 10 ⁸	43,293
	72.SAAT	4,76	1,38	24,1	1,145	1,40x 10 ⁸	45,863
Et ekstraktı - Laktoz	6.SAAT	6,41	1,31	23,0	1,135	2,75x 10 ⁷	44,543
	12.SAAT	6,33	1,42	24,8	1,277	1,48x 10 ⁸	47,043
	24.SAAT	5,14	1,49	26,0	1,189	3,89x 10 ⁸	43,467
	48.SAAT	5,04	1,50	26,1	0,944	2,24x 10 ⁸	45,255
	72.SAAT	4,97	1,38	24,1	1,026	1,20x 10 ⁸	45,984
Maya ekstraktı - Glikoz	6.SAAT	6,03	1,32	23,1	1,129	1 x 10 ¹	46,401
	12.SAAT	6,05	1,30	22,8	1,289	3,20x 10 ⁸	46,141
	24.SAAT	5,22	1,54	26,8	1,099	3,58x 10 ⁸	45,811
	48.SAAT	5,00	1,57	27,3	1,022	2,86x 10 ⁸	45,498
	72.SAAT	4,88	1,32	23,1	1,056	2,56x 10 ⁸	47,217

Çizelge 3.9 (Devam) *E. faecium*-M96.2 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi

FARKLI KAYNAKLAR	ÖRNEK ALMA SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (g)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBONHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
			mpas	%			
Maya ekstraktı - Laktoz	6.SAAT	6,45	1,30	22,8	0,989	1 x10 ¹	45,620
	12.SAAT	6,40	1,30	22,8	1,216	5,09x 10 ⁹	46,991
	24.SAAT	5,46	1,46	25,5	1,212	4,79x 10⁸	47,634
	48.SAAT	5,27	1,41	24,6	1,075	3,22x 10 ⁸	46,939
	72.SAAT	5,18	1,34	23,5	1,173	2,61x 10 ⁸	45,220
Yeast Base-Glikoz	6.SAAT	6,49	1,29	22,6	1,205	1 x10 ¹	44,891
	12.SAAT	6,54	1,32	23,1	1,200	2,5 x 10 ⁶	45,481
	24.SAAT	6,48	1,42	24,8	1,269	5 x10 ³	46,835
	48.SAAT	6,42	1,51	26,3	1,125	2,9 x10 ⁴	46,956
	72.SAAT	6,34	1,27	22,3	1,103	1 x10 ¹	45,359
Yeast Base-Laktoz	6.SAAT	6,53	1,29	22,6	1,152	5 x10 ³	45,012
	12.SAAT	6,61	1,28	22,5	1,159	1,7 x10 ⁴	45,186
	24.SAAT	6,43	1,35	23,6	1,277	1,2 x10 ⁴	45,533
	48.SAAT	6,47	1,35	23,6	1,187	1,4 x10 ⁴	42,668
	72.SAAT	6,45	1,29	22,6	1,154	1 x10 ¹	43,623
Casamino - Glikoz	6.SAAT	5,96	1,32	23,1	0,901	8 x10 ³	44,405
	12.SAAT	5,94	1,34	23,5	1,286	2,85 x10 ⁴	42,512
	24.SAAT	5,90	1,41	24,6	1,167	4,7 x 10 ⁶	46,314
	48.SAAT	5,87	1,44	25,1	1,083	2 x10 ³	42,755
	72.SAAT	5,83	1,32	23,1	1,206	1 x10 ¹	45,429
Casamino - Laktoz	6.SAAT	6,42	1,33	23,3	1,018	1,7 x10 ⁴	43,727
	12.SAAT	6,40	1,30	24,0	1,226	3,1 x 10 ⁶	45,811
	24.SAAT	6,33	1,39	24,3	1,224	8,1 x 10 ⁶	47,148
	48.SAAT	6,20	1,50	26,1	1,134	7,2 x 10 ⁶	46,661
	72.SAAT	6,08	1,30	22,8	1,303	6,6 x 10 ⁶	47,148

M96.2 izolatı (*E. faecium*-M96.2) karbon kaynağı olarak laktoz, azot kaynağı olarak maya ekstraktı içeren besi ortamında 24 saatte en yüksek EPS ‘yi

üretmiştir (47,634 mg/L). Çizelge 3.7’de de görüldüğü gibi bu ortamda bakteri iyi gelişmiştir ve viskozitesi 1,46 mpas olarak ölçülmüştür.

Çizelge 3.10. *E. faecium*-G37 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi

FARKLI KAYNAKLAR	ÖRNEK ALMA SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (g)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
			mpas	%			
Pepton- Glikoz	6. SAAT	6,32	1,36	23,8	1,06	2 x 10 ⁴	45,238
	12.SAAT	6,24	1,35	23,6	1,11	5,0 x 10 ⁶	47,408
	24.SAAT	5,10	1,41	24,6	1,23	4,35x 10 ⁹	40,307
	48.SAAT	4,83	1,37	24,0	1,22	2,11x 10 ⁹	46,575
	72.SAAT	4,60	1,39	24,3	1,29	2,62x 10 ⁷	41,800
Pepton- Laktoz	6.SAAT	6,67	1,35	23,6	1,09	8,9 x 10 ⁶	44,890
	12.SAAT	6,61	1,28	22,5	1,22	1,5 x 10 ⁷	47,529
	24.SAAT	5,17	1,35	23,6	1,26	4,11x 10 ⁸	42,356
	48.SAAT	5,11	1,47	25,6	1,27	7,77x 10 ⁸	45,759
	72.SAAT	5,02	1,47	25,6	1,24	4,52x 10 ⁷	44,023
Et ekstraktı - Glikoz	6.SAAT	6,27	1,34	23,5	0,78	1,6 x 10 ³	46,366
	12.SAAT	6,22	1,28	22,5	0,85	3,05x 10 ⁷	45,516
	24.SAAT	5,18	1,36	23,8	0,98	3,28x 10 ¹⁰	42,321
	48.SAAT	4,88	1,40	24,5	1,41	2,37x 10 ⁹	46,384
	72.SAAT	4,60	1,39	24,3	1,26	4,05x 10 ⁸	42,651
Et ekstraktı - Laktoz	6.SAAT	6,68	1,34	23,5	1,01	7,7 x 10 ⁶	44,439
	12.SAAT	6,61	1,28	22,5	1,02	5,66x 10 ⁷	47,269
	24.SAAT	5,20	1,30	22,8	1,18	3,64x 10 ⁸	42,217
	48.SAAT	5,11	1,35	23,6	1,05	3,83x 10 ⁹	45,220
	72.SAAT	4,98	1,44	25,1	1,20	3,45x 10 ⁸	44,179
Maya ekstraktı - Glikoz	6.SAAT	6,32	1,37	24,0	1,62	3,9 x 10 ⁶	47,252
	12.SAAT	6,25	1,25	22,0	1,02	5,58x 10 ⁷	44,213
	24.SAAT	5,22	1,37	24,0	0,57	9,02x 10 ⁸	44,561
	48.SAAT	4,94	1,32	23,1	1,05	4,84x 10 ⁸	45,186
	72.SAAT	4,76	1,36	23,8	1,12	2,55x 10 ⁷	45,047

Çizelge 3.10. (Devam) *E. faecium*-G37 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi

FARKLI KAYNAKLAR	ÖRNEK ALMA SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (g)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
			mpas	%			
Maya ekstraktı - Laktoz	6.SAAT	6,62	1,39	24,3	1,23	8 x10 ³	47,946
	12.SAAT	6,57	1,32	23,1	1,06	2,42x 10 ⁷	47,668
	24.SAAT	5,27	1,40	24,5	1,42	1,44x 10 ⁹	44,734
	48.SAAT	5,19	1,38	24,1	1,14	5,45x 10⁸	48,068
	72.SAAT	5,03	1,38	24,1	1,21	1,65x 10 ⁷	44,231
Yeast Base- Glikoz	6.SAAT	6,43	1,31	23,0	1,05	1,4 x10 ⁴	46,453
	12.SAAT	6,37	1,29	22,6	1,13	1,9 x10 ⁴	47,582
	24.SAAT	6,31	1,26	22,1	1,27	2,4 x10 ⁴	44,630
	48.SAAT	6,31	1,25	22,0	1,15	2,6 x10 ⁴	47,998
	72.SAAT	6,29	1,35	23,6	1,19	1,2 x10 ⁴	43,936
Yeast Base- Laktoz	6.SAAT	6,72	1,33	23,3	1,10	1,3 x10 ⁴	45,984
	12.SAAT	6,62	1,30	22,8	1,05	2,2 x10 ⁴	45,620
	24.SAAT	6,54	1,28	22,5	1,42	3,2 x 10 ⁶	42,616
	48.SAAT	6,50	1,35	23,6	1,20	2,6 x10 ⁴	44,509
	72.SAAT	6,45	1,30	22,8	1,19	1,5 x10 ⁴	43,693
Casamino - Glikoz	6.SAAT	6,07	1,28	22,5	1,08	1 x10 ¹	46,661
	12.SAAT	6,06	1,31	23,0	1,12	1,2 x10 ⁴	44,283
	24.SAAT	6,01	1,30	22,8	1,22	3,4 x 10 ⁶	28,640
	48.SAAT	5,97	1,30	22,8	1,08	2 x10 ⁴	46,089
	72.SAAT	5,90	1,33	23,3	1,12	6 x10 ³	43,536
Casamino - Laktoz	6.SAAT	6,52	1,31	23,0	1,12	1 x10 ¹	46,453
	12.SAAT	6,48	1,30	22,8	1,06	2,5 x10 ⁴	45,811
	24.SAAT	6,30	1,31	23,0	1,79	4,3 x 10 ⁶	44,925
	48.SAAT	6,05	1,31	23,0	1,07	3,0 x 10 ⁶	47,790
	72.SAAT	6,00	1,40	24,5	1,20	1,5 x10 ⁴	44,925

G37 izolatının (*E. faecium*-G37) en yüksek EPS değeri (48,068 mg/L) karbon kaynağı olarak laktoz, azot kaynağı olarak maya ekstraktının bulunduğu

besi ortamında 48 saatte elde edilmiştir. Çizelge 3.8'deki verilere göre de bakteri bu ortamda iyi gelişmiştir. Viskozitesi 1,38 mpas olarak ölçülmüştür.

Çizelge 3.11. *E. faecium*-G36 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi

FARKLI KAYNAKLAR	ÖRNEK ALMA SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (g)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
			mpas	%			
Pepton- Glikoz	6. SAAT	6,36	1,51	26,3	1,344	9×10^3	42,755
	24.SAAT	5,40	1,48	25,8	0,932	$1,51 \times 10^9$	42,807
	48.SAAT	5,09	1,49	26,0	1,217	$2,59 \times 10^8$	39,856
	72.SAAT	5,11	1,51	26,3	1,345	$2,81 \times 10^7$	45,967
Pepton- Laktoz	6.SAAT	6,76	1,73	30,0	1,26	$3,8 \times 10^6$	44,144
	24.SAAT	5,44	1,52	26,5	1,245	$2,32 \times 10^9$	44,283
	48.SAAT	5,32	1,53	26,6	1,547	$3,24 \times 10^8$	42,408
	72.SAAT	5,40	1,58	27,5	1,065	$3,32 \times 10^7$	46,054
Et ekstraktı - Gikoz	6.SAAT	6,40	1,54	26,8	1,123	$1,4 \times 10^4$	40,95
	24.SAAT	5,35	1,49	26,0	1,195	$1,65 \times 10^9$	43,918
	48.SAAT	5,19	1,46	25,5	0,461	$3,27 \times 10^8$	41,991
	72.SAAT	5,09	1,44	25,1	1,304	$2,44 \times 10^8$	44,300
Et ekstraktı - Laktoz	6.SAAT	6,81	1,55	27,0	1,379	$3,5 \times 10^6$	41,141
	24.SAAT	5,51	1,55	27,0	1,349	$2,03 \times 10^9$	44,960
	48.SAAT	5,46	1,59	27,6	1,672	$3,31 \times 10^8$	43,207
	72.SAAT	5,45	1,50	26,1	1,320	3×10^8	45,012
Maya ekstraktı - Glikoz	6.SAAT	6,38	1,55	27,0	1,357	8×10^3	43,918
	24.SAAT	5,67	1,45	25,3	1,000	$1,15 \times 10^9$	45,498
	48.SAAT	5,44	1,45	25,3	1,567	$3,57 \times 10^8$	43,328
	72.SAAT	5,30	1,50	26,1	1,521	$3,88 \times 10^7$	43,068

Çizelge 3.11. (Devam) *E. faecium*-G36 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi

FARKLI KAYNAKLAR	ÖRNEK ALMA SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (g)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
			mpas	%			
Maya ekstraktı - Laktoz	6.SAAT	6,77	1,57	27,3	1,374	2,5 x 10 ⁶	42,391
	24.SAAT	5,63	1,51	26,3	1,197	1,85 x 10 ⁹	45,898
	48.SAAT	5,58	1,50	26,1	1,214	3,31 x 10 ⁸	43,641
	72.SAAT	5,58	1,60	27,8	1,308	4,32 x 10 ⁷	45,707
Yeast Base-Glikoz	6.SAAT	6,51	1,53	26,6	1,558	4 x 10 ³	44,561
	24.SAAT	6,39	1,38	24,1	1,590	5 x 10 ³	43,745
	48.SAAT	6,49	1,51	26,3	1,539	3 x 10 ³	43,780
	72.SAAT	6,50	1,33	23,3	1,289	1 x 10 ¹	44,300
Yeast Base-Laktoz	6.SAAT	6,85	1,42	24,8	1,329	7 x 10 ³	44,022
	24.SAAT	6,69	1,44	25,1	1,489	3,6 x 10 ⁶	44,943
	48.SAAT	6,78	1,40	24,5	1,309	6 x 10 ³	42,078
	72.SAAT	6,75	1,47	25,6	1,105	1 x 10 ¹	41,748
Casamino - Glikoz	6.SAAT	6,20	1,48	25,8	1,397	1,7 x 10 ⁴	42,547
	24.SAAT	6,08	1,51	26,3	1,317	1,2 x 10 ⁴	45,238
	48.SAAT	6,14	1,45	25,3	1,443	9 x 10 ³	42,547
	72.SAAT	6,12	1,50	26,1	1,205	1 x 10 ¹	43,311
Casamino - Laktoz	6.SAAT	6,65	1,48	25,8	1,701	1,4 x 10 ⁴	42,026
	24.SAAT	6,46	1,51	26,3	1,397	4,7 x 10 ⁶	44,821
	48.SAAT	6,55	1,44	25,1	1,407	3 x 10 ⁶	44,075
	72.SAAT	6,56	1,44	25,1	1,311	1 x 10 ¹	44,491

G36 izolatı (*E. faecium*-G36) karbon kaynağı olarak laktoz, azot kaynağı olarak pepton içeren besi ortamında 72 saatte en yüksek EPS değerini (46,054 mg/L) üretmiştir Çizelge 3.11’de de görüldüğü gibi bu ortamda bakteri iyi gelişmiştir. Viskozitesi 1,58 mpas olarak ölçülmüştür.

Çizelge 3.12. *E. faecium*-G38 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi

FARKLI KAYNAKLAR	ÖRNEK ALMA SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (g)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
			mpas	%			
Pepton- Glikoz	6. SAAT	6,40	1,53	26,6	1,305	2 x10 ³	40,394
	24.SAAT	5,35	1,45	25,3	1,423	2,86 x 10 ⁹	45,238
	48.SAAT	5,21	1,49	26,0	1,591	3,83 x 10 ⁸	40,359
	72.SAAT	5,05	1,43	25,0	1,240	2,55 x 10 ⁷	43,779
Pepton- Laktoz	6.SAAT	6,78	1,61	28,0	1,672	1,5 x10 ⁴	44,786
	24.SAAT	5,59	1,49	26,0	1,325	4,71 x 10 ⁸	45,220
	48.SAAT	5,38	1,48	25,8	1,250	2,56 x 10 ⁸	43,137
	72.SAAT	5,35	1,53	26,6	1,579	3,12 x 10 ⁷	43,606
Et ekstraktı - Glikoz	6.SAAT	6,42	1,50	26,1	1,554	4 x10 ³	42,130
	24.SAAT	5,37	1,42	24,8	1,056	3,68 x 10 ⁸	44,422
	48.SAAT	5,22	1,45	25,3	1,502	2,43 x 10 ⁸	42,443
	72.SAAT	5,13	1,39	24,3	1,485	2,82 x 10 ⁷	44,474
Et ekstraktı - Laktoz	6.SAAT	6,82	1,64	28,5	1,515	1,7 x10 ⁴	44,821
	24.SAAT	5,60	1,51	26,3	1,373	2,19 x 10 ⁹	45,342
	48.SAAT	5,37	1,48	25,8	1,038	2,49 x 10 ⁸	40,828
	72.SAAT	5,39	1,40	24,5	1,445	2,4 x 10 ⁶	43,849
Maya ekstraktı - Glikoz	6.SAAT	6,44	1,59	27,6	1,400	3 x10 ³	42,842
	24.SAAT	5,81	1,48	25,8	1,273	3,18 x 10 ⁹	44,752
	48.SAAT	5,60	1,59	27,6	0,999	2,58 x 10 ⁸	42,998
	72.SAAT	5,37	1,46	25,5	1,213	1,88 x 10 ⁷	43,936

Çizelge 3.12. (Devam) *E. faecium*-G38 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi

FARKLI KAYNAKLAR	ÖRNEK ALMA SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (g)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
			mpas	%			
Maya ekstraktı - Laktoz	6.SAAT	6,83	1,55	27,0	1,384	$2,4 \times 10^6$	43,450
	24.SAAT	5,90	1,45	25,3	1,374	$2,69 \times 10^9$	45,481
	48.SAAT	5,72	1,53	26,6	1,400	$1,31 \times 10^7$	42,304
	72.SAAT	5,37	1,46	25,5	1,374	$1,12 \times 10^7$	44,422
Yeast Base-Glikoz	6.SAAT	6,54	1,42	24,8	1,738	3×10^3	43,727
	24.SAAT	6,44	1,48	25,8	1,281	$1,3 \times 10^4$	44,509
	48.SAAT	6,56	1,42	24,8	1,422	1×10^1	44,526
	72.SAAT	6,47	1,36	23,8	0,998	1×10^1	43,901
Yeast Base-Laktoz	6.SAAT	6,85	1,48	28,8	1,419	1×10^1	41,835
	24.SAAT	6,66	1,43	25,0	1,417	$1,1 \times 10^4$	45,082
	48.SAAT	6,84	1,40	24,5	1,552	1×10^4	44,439
	72.SAAT	6,80	1,39	24,3	1,230	1×10^1	42,859
Casamino - Glikoz	6.SAAT	6,19	1,53	26,6	1,236	9×10^3	42,946
	24.SAAT	6,11	1,36	23,8	1,286	1×10^3	45,272
	48.SAAT	6,13	1,45	25,3	1,418	4×10^3	42,356
	72.SAAT	6,08	1,42	24,8	1,115	1×10^1	42,182
Casamino - Laktoz	6.SAAT	6,62	1,54	26,8	1,430	7×10^3	45,047
	24.SAAT	6,43	1,42	24,8	1,082	3×10^4	44,717
	48.SAAT	6,54	1,51	26,3	1,120	$1,1 \times 10^4$	41,575
	72.SAAT	6,54	1,45	25,3	1,236	1×10^1	42,599

G38 izolatı (*E. faecium*-G38) karbon kaynağı olarak laktoz, azot kaynağı olarak maya ekstraktı içeren besi ortamında 24 saatte en yüksek EPS miktarını (45,481mg/L) üretmiştir ve viskozitesi 1,45 mpas olarak ölçülmüştür.

Çizelge 3.13. *E. faecium*-M78 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi

FARKLI KAYNAKLAR	ÖRNEK ALMA SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (g)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
			mpas	%			
Pepton- Glikoz	6. SAAT	6,30	1,34	23,5	1,254	5,3 x10 ⁶	40,394
	24.SAAT	4,77	1,50	26,1	1,264	4,17 x10 ⁹	44,231
	48.SAAT	4,52	1,39	24,3	1,448	1,91 x10 ⁹	41,957
	72.SAAT	4,63	1,47	25,6	1,172	2,57 x10 ⁸	44,161
Pepton- Laktoz	6.SAAT	6,75	1,36	23,8	1,213	7,1 x10 ⁶	43,345
	24.SAAT	4,75	1,57	27,3	1,346	3,43 x10 ¹⁰	42,911
	48.SAAT	4,49	1,50	26,1	1,348	2,59 x10 ⁸	42,738
	72.SAAT	4,55	1,51	26,3	1,566	2,99 x10 ⁷	44,960
Et ekstraktı - Glikoz	6.SAAT	6,35	1,34	23,5	1,244	5,8 x10 ⁶	40,099
	24.SAAT	4,83	1,48	25,8	1,371	2,56 x10 ¹⁰	43,641
	48.SAAT	4,54	1,44	25,1	0,651	1,61 x10 ⁹	44,474
	72.SAAT	4,60	1,47	25,6	1,836	2,47 x10 ⁸	42,651
Et ekstraktı - Laktoz	6.SAAT	6,65	1,36	23,8	1,191	2,15 x10 ⁷	39,370
	24.SAAT	4,77	1,57	27,3	1,448	2,82 x10 ⁹	42,095
	48.SAAT	4,54	1,45	25,3	1,392	1,83 x10 ⁸	41,818
	72.SAAT	4,59	1,37	24,0	1,972	2,92 x10 ⁷	44,283
Maya ekstraktı - Glikoz	6.SAAT	6,48	1,33	23,3	1,501	4,8 x10 ⁶	40,868
	24.SAAT	4,87	1,50	26,1	1,500	2,98 x10 ⁹	41,904
	48.SAAT	4,62	1,42	24,8	1,304	3,39 x10 ⁹	43,259
	72.SAAT	4,72	1,42	24,8	1,160	1,9 x10 ⁸	44,855

Çizelge 3.13. (Devam) *E. faecium*-M78 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi

FARKLI KAYNAKLAR	ÖRNEK ALMA SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (g)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
			mpas	%			
Maya ekstraktı - Laktoz	6.SAAT	6,90	1,38	24,1	1,360	8,7 x10 ⁶	37,773
	24.SAAT	4,88	1,52	26,5	1,445	3,22 x10⁸	44,769
	48.SAAT	4,67	1,43	25,0	1,494	2,53 x10 ⁸	43,780
	72.SAAT	4,77	1,42	24,8	1,292	2,67 x10 ⁷	44,230
Yeast Base-Glikoz	6.SAAT	6,52	1,29	22,6	1,234	6 x10 ³	42,148
	24.SAAT	6,53	1,30	22,8	1,342	1,2 x10 ⁴	43,311
	48.SAAT	6,49	1,27	22,3	1,380	3 x10 ³	43,380
	72.SAAT	6,58	1,25	22,0	1,178	1 x10 ³	42,737
Yeast Base-Laktoz	6.SAAT	6,94	1,31	23,0	0,774	1,3 x10 ⁴	41,054
	24.SAAT	6,86	1,32	23,1	1,655	1,7 x10 ⁴	41,332
	48.SAAT	6,81	1,30	22,8	1,477	8 x10 ³	41,644
	72.SAAT	6,91	1,29	22,6	1,838	3 x10 ³	42,598
Casamino - Glikoz	6.SAAT	6,21	1,32	23,1	0,295	2,6 x10 ⁶	41,453
	24.SAAT	5,88	1,30	22,8	1,445	1,12 x10 ⁷	41,210
	48.SAAT	5,84	1,32	23,1	1,242	3,3 x10 ⁶	42,165
	72.SAAT	5,83	1,30	22,8	1,481	6 x10 ³	43,762
Casamino - Laktoz	6.SAAT	6,66	1,34	23,5	0,148	2,8 x10 ⁶	42,564
	24.SAAT	6,36	1,37	24,0	1,182	1,23 x10 ⁷	42,703
	48.SAAT	6,29	1,38	24,1	1,414	3,0 x10 ⁶	43,675
	72.SAAT	6,29	1,35	23,6	1,290	4 x10 ³	43,449

M78 izolatı (*E. faecium*-M78) karbon kaynağı olarak laktoz, azot kaynağı olarak maya ekstraktı içeren besi ortamında 24 saatte en yüksek EPS miktarını (44,769mg/L) üretmiştir. Viskozitesi 1,52 mpas olarak ölçülmüştür.

Çizelge 3.14. *L. farciminis*-109.1 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi

FARKLI KAYNAKLAR	ÖRNEK ALMA SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (g)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
			mpas	%			
Pepton- Glikoz	6. SAAT	6,20	1,52	26,5	0,16	$4,7 \times 10^6$	42,304
	12.SAAT	6,02	1,44	25,1	0,11	9×10^7	36,019
	24.SAAT	4,64	1,65	28,6	0,15	1×10^9	41,432
	48.SAAT	4,62	1,63	28,3	0,25	$3,35 \times 10^9$	43,085
	72.SAAT	4,60	1,58	27,5	0,28	$1,06 \times 10^8$	40,707
Pepton- Laktoz	6.SAAT	6,73	1,49	26,0	0,15	$4,1 \times 10^6$	44,734
	12.SAAT	6,33	1,51	26,3	0,15	$1,35 \times 10^8$	46,245
	24.SAAT	4,65	1,76	30,5	0,26	$9,4 \times 10^8$	43,432
	48.SAAT	4,56	1,68	29,1	0,29	$2,92 \times 10^9$	46,627
	72.SAAT	4,55	1,67	29,0	0,22	$5,1 \times 10^7$	43,102
Et ekstraktı - Glikoz	6.SAAT	6,29	1,50	26,1	0,01	$4,9 \times 10^6$	41,714
	12.SAAT	6,04	1,41	24,6	0,02	$6,4 \times 10^7$	44,717
	24.SAAT	4,83	1,65	28,6	0,03	$1,15 \times 10^9$	42,252
	48.SAAT	4,66	1,63	28,3	0,28	$3,48 \times 10^9$	48,068
	72.SAAT	4,65	1,62	28,1	0,27	$3,92 \times 10^8$	42,252
Et ekstraktı - Laktoz	6.SAAT	6,70	1,60	27,8	0,07	$2,1 \times 10^6$	42,616
	12.SAAT	6,36	1,56	27,1	0,24	$9,5 \times 10^7$	46,540
	24.SAAT	4,81	1,65	28,6	0,09	$4,51 \times 10^8$	43,120
	48.SAAT	4,64	1,67	29,0	0,21	$3,19 \times 10^8$	44,561
	72.SAAT	4,60	1,77	30,6	0,17	$2,5 \times 10^7$	41,870
Maya ekstraktı - Glikoz	6.SAAT	6,17	1,55	27,0	0,12	$1,03 \times 10^7$	44,231
	12.SAAT	5,98	1,45	25,3	0,12	$1,42 \times 10^8$	46,227
	24.SAAT	4,78	1,64	28,5	0,12	$4,48 \times 10^9$	44,491
	48.SAAT	4,66	1,66	28,8	0,12	$2,6 \times 10^8$	46,262
	72.SAAT	4,60	1,71	29,6	0,23	5×10^6	43,293

Çizelge 3.14. (Devam) *L. farciminis*-109.1 İzolatu İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi

FARKLI KAYNAKLAR	ÖRNEK ALMA SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (g)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
			mpas	%			
Maya ekstraktı - Laktoz	6.SAAT	6,78	1,61	28,0	0,22	$2,7 \times 10^6$	44,839
	12.SAAT	6,55	1,58	27,5	0,12	$2,88 \times 10^8$	44,457
	24.SAAT	4,84	1,63	28,3	0,24	$5,62 \times 10^8$	43,832
	48.SAAT	4,66	1,64	28,5	0,23	$2,81 \times 10^9$	47,668
	72.SAAT	4,60	1,74	30,1	0,27	$2,77 \times 10^8$	44,526
Yeast Base- Glikoz	6.SAAT	6,44	1,56	27,1	0,55	7×10^3	45,342
	12.SAAT	6,43	1,49	26,0	0,17	$3,8 \times 10^6$	44,509
	24.SAAT	6,42	1,43	25,0	0,13	$5,3 \times 10^6$	41,870
	48.SAAT	6,41	1,43	25,0	0,20	$1,3 \times 10^4$	46,210
	72.SAAT	6,40	1,43	25,0	0,28	8×10^3	43,415
Yeast Base- Laktoz	6.SAAT	6,84	1,57	27,3	0,14	2×10^3	44,283
	12.SAAT	6,80	1,46	25,5	0,18	$1,1 \times 10^4$	46,262
	24.SAAT	6,78	1,55	27,0	0,20	$2,9 \times 10^6$	41,766
	48.SAAT	6,77	1,51	26,3	0,41	$1,07 \times 10^7$	46,661
	72.SAAT	6,65	1,44	25,1	0,42	$5,8 \times 10^6$	42,964
Casamino - Glikoz	6.SAAT	5,99	1,58	27,5	0,39	8×10^3	43,606
	12.SAAT	5,95	1,36	23,8	0,12	3×10^6	43,311
	24.SAAT	5,93	1,53	26,6	0,04	$4,9 \times 10^6$	44,613
	48.SAAT	5,89	1,51	26,3	0,34	9×10^3	45,655
	72.SAAT	5,89	1,51	26,3	0,40	1×10^1	42,877
Casamino - Laktoz	6.SAAT	6,54	1,61	26,0	0,34	5×10^3	43,554
	12.SAAT	6,47	1,42	24,8	0,14	$4,2 \times 10^6$	45,099
	24.SAAT	6,45	1,54	26,8	0,21	$9,4 \times 10^6$	45,186
	48.SAAT	6,43	1,55	27,0	0,32	$2,47 \times 10^7$	45,429
	72.SAAT	6,37	1,58	27,5	0,37	$1,3 \times 10^7$	45,359

109.1 izolatu (*L. farciminis*-109.1) karbon kaynağı olarak glikoz, azot kaynağı olarak et ekstraktı içeren besi ortamında 48 saatte en yüksek EPS miktarını (48,068mg/L) retmiştir. Çizelge 3.9’da da görüldüğü gibi bakteri bu ortamda iyi gelişmiştir. Viskozitesi 1,63 mpas olarak ölçülmüştür.

Çizelge 3.15. *P. acidilactici*- B31 İzolatu İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi

FARKLI KAYNAKLAR	ÖRNEK ALMA SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AğIRLIK (g)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
			mpas	%			
Pepton- Glikoz	6. SAAT	6,41	1,80	31,1	1,174	8 x 10 ³	40,950
	24.SAAT	4,88	1,51	26,3	0,394	2,39 x 10⁸	45,689
	48.SAAT	4,75	1,62	28,1	1,436	4,1 x 10 ⁸	40,377
	72.SAAT	4,63	1,66	28,8	1,208	1,95 x 10 ⁸	43,606
Pepton- Laktoz	6.SAAT	6,84	1,84	31,8	1,241	1 x 10 ⁴	42,911
	24.SAAT	6,16	1,68	29,1	1,785	2,27 x 10 ⁹	45,481
	48.SAAT	6,20	1,72	29,8	1,720	1,4 x 10 ⁸	42,946
	72.SAAT	6,20	1,69	29,3	0,937	3,58 x 10 ⁷	44,231
Et ekstraktı - Glikoz	6.SAAT	6,41	1,92	33,1	0,932	2,2 x 10 ⁶	44,457
	24.SAAT	5,14	157	27,3	1,519	2,79 x 10 ⁸	44,127
	48.SAAT	4,81	1,65	28,6	1,342	2,2 x 10 ⁸	43,675
	72.SAAT	4,69	1,67	29,0	1,355	1,71 x 10 ⁸	44,821
Et ekstraktı - Laktoz	6.SAAT	6,85	1,95	33,6	1,320	2,1 x 10 ⁶	45,429
	24.SAAT	6,23	1,58	27,5	1,420	3,14 x 10 ⁹	45,429
	48.SAAT	6,16	1,70	29,5	1,271	1,3 x 10 ⁸	41,470
	72.SAAT	5,70	1,70	29,5	1,269	3,97 x 10 ⁷	42,009
Maya ekstraktı - Glikoz	6.SAAT	6,32	1,68	29,1	1,319	1,6 x 10 ⁴	44,127
	24.SAAT	4,97	1,59	27,6	0,212	2,09 x 10 ⁹	44,266
	48.SAAT	4,82	1,51	26,3	1,260	3,71 x 10 ⁹	43,450
	72.SAAT	4,76	1,64	28,5	1,393	4,16 x 10 ⁸	43,884

Çizelge 3.15. (Devam) *P. acidilactici*-B31 İzolatı İçin Uygun Azot ve Karbon Kaynağı Belirlenmesi

FARKLI KAYNAKLAR	ÖRNEK ALMA SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (g)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
			mpas	%			
Maya ekstraktı - Laktoz	6.SAAT	6,75	1,76	30,5	1,364	$1,8 \times 10^4$	43,606
	24.SAAT	6,05	1,60	27,8	1,320	$4,37 \times 10^9$	44,057
	48.SAAT	6,06	1,61	28,0	1,356	$4,18 \times 10^8$	41,470
	72.SAAT	5,96	1,64	28,3	1,320	$4,81 \times 10^7$	44,665
Yeast Base-Glikoz	6.SAAT	6,55	1,69	29,3	1,438	1×10^4	44,127
	24.SAAT	6,44	1,61	28,0	1,174	1×10^3	45,342
	48.SAAT	6,46	1,43	25,0	1,427	1×10^1	43,814
	72.SAAT	6,49	1,58	27,3	1,383	1×10^1	42,929
Yeast Base-Laktoz	6.SAAT	7,00	1,70	29,5	1,447	2×10^3	42,495
	24.SAAT	6,86	1,53	26,6	1,966	1×10^1	44,960
	48.SAAT	6,81	1,58	27,5	1,274	1×10^1	43,936
	72.SAAT	6,84	1,50	26,1	1,090	1×10^1	45,516
Casamino - Glikoz	6.SAAT	6,31	1,67	29,0	1,418	3×10^3	43,345
	24.SAAT	6,20	1,65	28,6	1,966	$3,1 \times 10^6$	43,554
	48.SAAT	6,16	1,55	27,0	1,306	$1,6 \times 10^4$	43,762
	72.SAAT	6,11	1,57	27,3	1,111	3×10^3	43,102
Casamino - Laktoz	6.SAAT	6,76	1,77	30,6	1,475	1×10^3	43,658
	24.SAAT	6,64	1,59	27,6	1,490	$3,6 \times 10^6$	45,047
	48.SAAT	6,62	1,59	27,6	1,379	$1,7 \times 10^4$	42,946
	72.SAAT	6,59	1,59	27,6	1,256	2×10^3	43,519

B31 izolatı (*P. acidilactici*-B31) karbon kaynağı olarak glikoz, azot kaynağı olarak pepton içeren besi ortamında 24 saatte en yüksek EPS miktarını (45,689mg/L) üretmiştir. Viskozitesi 1,51 mpas olarak ölçülmüştür.

3.7. Cevap-Yüzey Metodu İle EPS Üretiminin Optimizasyonu

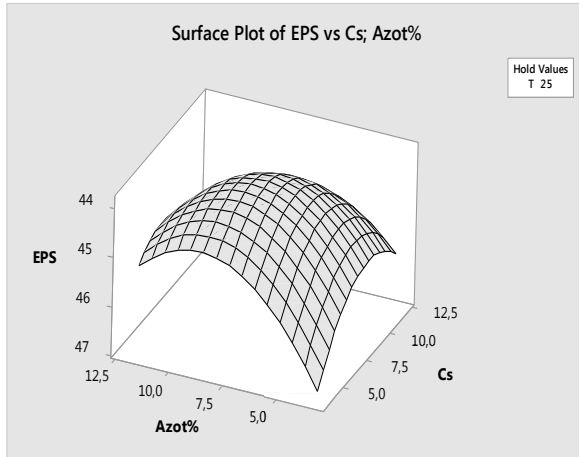
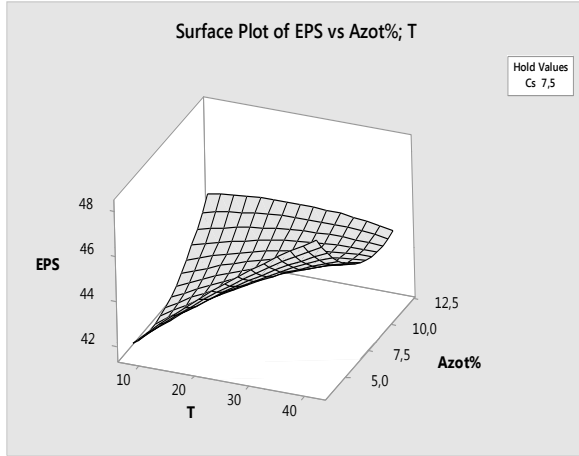
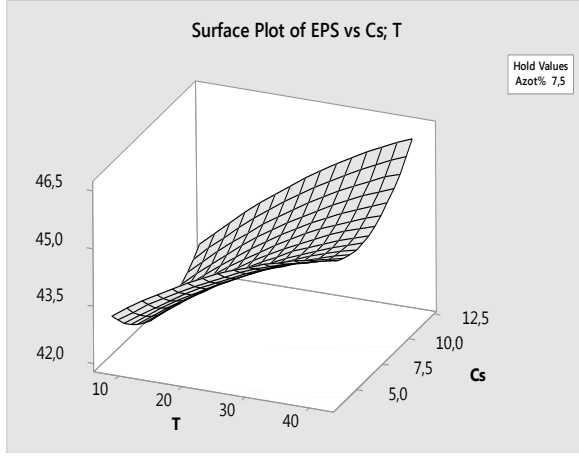
Yapılan deneyler sonucunda elde edilen değerler göz önüne alınarak besi ortamlarının farklı miktarlarında izolatların Cevap Yüzey Metodu (Response Surface Method) ile azot ve karbon konsantrasyonu ve sıcaklığın etkisi belirlenmiştir. En yüksek karbohidrat miktarlarının olduğu değerler not edilmiştir. Çalışmalar sonucunda elde edilen değerler sırası ile çizelge 3.16., çizelge 3.17., çizelge 3.18., çizelge 3.19., çizelge 3.20., çizelge 3.21., çizelge 3.22., çizelge 3.23., çizelge 3.24. ve çizelge 3.25.' de verilmiştir. Ayrıca izolatların 3 Boyutlu Cevap Yüzey (Response Surface) sonuçları da sırasıyla şekil 3.14, şekil 3.15, şekil 3.16., şekil 3.17., şekil 3.18., şekil 3.19., şekil 3.20., şekil 3.21., şekil 3.22., şekil 3.23' de verilmiştir. Yapılan deneyler ANOVA testi ile değerlendirilmiştir. ANOVA iki yada daha fazla bağımsız değişkenlerin kendi aralarında nasıl etkileşime girdiğini ve bu etkileşimlerin bağımlı değişken üzerindeki etkilerini analiz etmek için kullanılan istatistiksel bir tekniktir. ANOVA testinde F ve P değerleri bulunmaktadır. F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırır. F, deneysel uyarının etkili olduğunu söyler ama spesifik olarak etkinin ne olduğunu söylemez. P, ANOVA çizelgesunda ki anlamlılık değerini belirtmektedir. $p < 0,01$ ise bu değer istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmektedir. Bu modele göre elde edilen verilerin uygun kalitesi, deneysel ve modellenen veri arasındaki korelasyon katsayısı, R^2 dikkate alınarak değerlendirilmektedir. R^2 değerine yakın değerler testin doğruluğunu göstermektedir.

Çizelge 3.16. Et-Glikoz Besi Yeri İle *L.reuteri*-E60 İzolatının Optimizasyon Sonuçları

Sıcaklık	Karbon %	Azot %	ZAMAN (SAAT)	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (G)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
					mpas	%			
8 °C	7,5	7,5	24.SAAT	5,89	1,66	28,8	0,84	1 x 10 ⁴	41,950
15 °C	10	10	24.SAAT	5,79	1,82	31,5	0,95	1 x 10 ⁴	44,300
	5	5	24.SAAT	6,05	1,40	24,5	0,86	6 x 10 ³	43,589
	10	5	24.SAAT	5,88	1,50	26,1	0,86	6 x 10 ³	43,085
	5	10	24.SAAT	6,08	1,67	29,0	0,99	1,1 x 10 ⁴	43,953
25 °C	7,5	7,5	24.SAAT	4,90	1,57	27,3	1,01	5 x 10 ⁵	43,815
	7,5	7,5		4,89	1,63	28,3	1,01	4,7 x 10 ⁵	45,950
	7,5	7,5		4,92	1,61	28,0	1,00	4,6 x 10 ⁵	43,895
	7,5	7,5		4,90	1,57	27,3	1,01	5,3 x 10 ⁵	43,940
	7,5	7,5		4,88	1,61	28,0	1,01	4,4 x 10 ⁵	44,020
	7,5	7,5		4,89	1,57	27,3	1,00	4,7 x 10 ⁵	43,925
	7,5	3,3	24.SAAT	5,05	1,36	23,8	0,75	1,3 x 10 ⁶	45,307
	3,3	7,5	24.SAAT	5,00	1,42	24,8	0,83	9,9 x 10 ⁵	44,682
	11,7	7,5	24.SAAT	5,00	1,73	30,0	1,05	2,2 x 10 ⁶	45,040
	7,5	11,7	24.SAAT	4,92	1,82	31,5	1,05	5,4 x 10 ⁵	45,095
35 °C	10	10	24.SAAT	4,62	1,68	29,1	1,08	4,3 x 10 ⁵	45,170
	5	10	24.SAAT	4,62	1,43	25,0	0,88	2,4 x 10 ⁵	44,320
	5	5	24.SAAT	4,63	1,26	22,1	0,92	3,0 x 10⁵	46,193
	10	5	24.SAAT	4,58	1,44	25,1	0,96	3,5 x 10 ⁵	46,101
42 °C	7,5	7,5	24.SAAT	4,40	1,62	28,1	0,94	1,7 x 10 ⁶	45,175

E60 izolatının et-glikoz besi ortamında farklı sıcaklık , karbon ve azot değerlerinde toplam karbohidrat miktarları belirlenmiştir. En yüksek karbohidrat miktarını 35 °C de % 5 karbon ve % 5 azot oranlarında ürettiği belirlenmiştir.

Şekil 3.14. *L.reuteri*-E60 izolatının EPS üretiminin Cevap Yüzey (Response Surface) Grafığı



Çizelge 3.16.1. *L.reuteri*-E60 İzolatının EPS Üretimi Optimizasyonunun Varyans (ANOVA) Analizi

Kaynak	DF	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	18,9827	2,1092	238,00	0,000
Doğrusal	3	11,3325	3,7775	426,24	0,000
T	1	11,0434	11,0434	1246,10	0,000
Cs	1	0,1060	0,1060	11,96	0,006
Azot%	1	0,1832	0,1832	20,67	0,001
Köşeli	3	4,7424	1,5808	178,37	0,000
T*T	1	0,2280	0,2280	25,72	0,000
Cs*Cs	1	1,6011	1,6011	180,66	0,000
Azot%*Azot%	1	2,9642	2,9642	334,47	0,000
Etkileşim	3	2,9078	0,9693	109,37	0,000
T*Cs	1	0,1047	0,1047	11,81	0,006
T*Azot%	1	2,4013	2,4013	270,96	0,000
Cs*Azot%	1	0,4019	0,4019	45,34	0,000

R-Sq = 99,54% R-Sq(pred) = 97,20% R-Sq(adj) = 99,12%

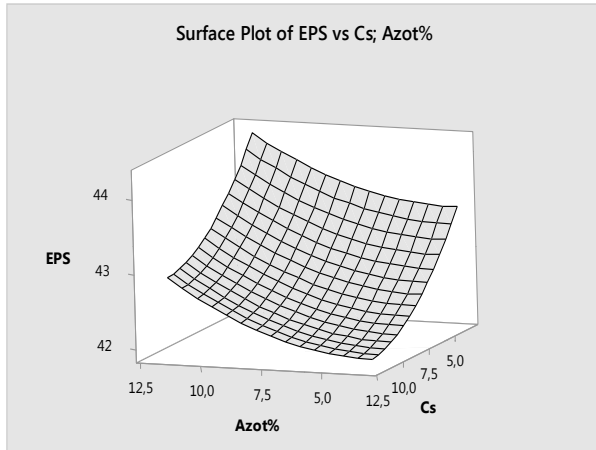
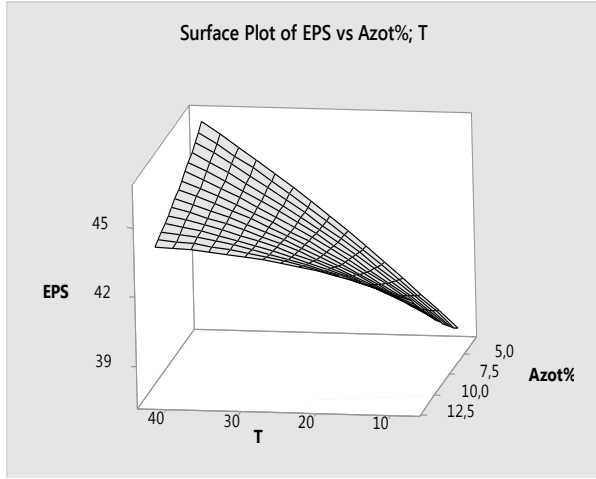
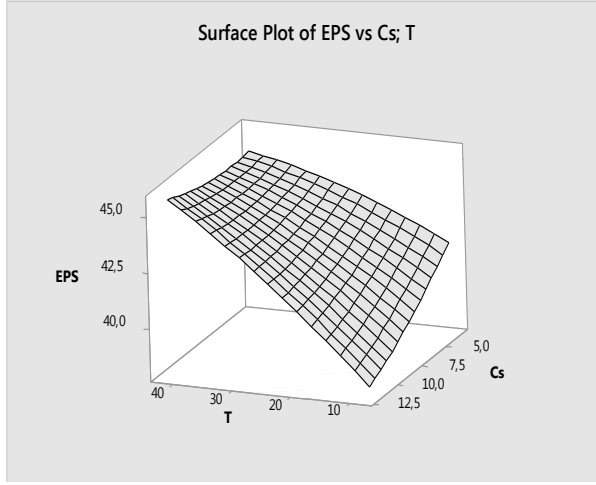
E60 izolatu için yapılan Cevap Yüzey (Response Surface) metodunda minimum ve maksimum noktadaki yüksek EPS değerleri verilmiştir. EPS üretimindeki artış değişkenlerin minimum ve maksimum nokta aralığında görülmüştür, ara değere yaklaştıkça azalma göstermiştir. EPS üretimi 45°C’de iken karbon ve azot miktarlarının en düşük ve en yüksek değerlerinde EPS üretimi fazla olmuştur. Karbon ve azot değerlerinin uç değerlerinden orta değerlere doğru gidildikçe EPS üretiminde azalma meydana gelmiştir. E60 izolatu için optimum üreme sıcaklığının 42°C , karbon ve azot miktarlarının % 3,3 olduğu ve EPS üretiminin 49,07 olduğu not edilmiştir. ANOVA testine göre karbon, azot ve sıcaklık değişkenlerin ve etkileşimlerinin model üzerine olan etkileri F ve P değerleri ile verilmiştir. İzolatın büyümesinde karbon ve azot kaynakları daha çok etkili olmaktadır. R² değeri %99,12 olarak bulunmuş ve yapılan deneylerin sonuçlarının model ile uyumlu olduğunu göstermiştir.

Çizelge 3.17. Maya-Laktoz Besi Yeri İle *E.faecium*-M96.2 Bakterisinin Optimizasyon Sonuçları

Sıcaklık	Karbon %	Azot %	ZAMAN (SAAT)	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (G)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
					mpas	%			
8 °C	7,5	7,5	24.SAAT	6,73	1,74	30,1	1,227	<30	39,856
15 °C	10	10	24.SAAT	6,73	1,85	32,0	1,117	<30	40,932
	5	5	24.SAAT	7,04	1,44	25,1	1,107	5,5 x10 ⁴	41,019
	10	5	24.SAAT	6,80	1,64	28,5	1,02	1,40 x10 ⁷	39,179
	5	10	24.SAAT	7,04	1,52	26,5	1,096	1,31 x10 ⁷	42,807
25 °C	7,5	7,5	24.SAAT	6,82	1,67	29,0	1,294	1,46 x10 ⁸	42,095
	7,5	7,5		6,85	1,70	29,5	1,225	1,95 x10 ⁹	42,495
	7,5	7,5		6,80	1,66	28,8	1,226	1,40 x10 ⁸	42,929
	7,5	7,5		6,78	1,63	28,3	1,220	1,28 x10 ⁸	42,807
	7,5	7,5		6,82	1,67	29,0	1,286	1,38 x10 ⁸	42,981
	7,5	7,5		6,81	1,66	28,8	1,225	2,10 x10 ⁸	42,373
	7,5	3,3	24.SAAT	6,49	1,50	26,1	0,999	1,23 x10 ⁸	42,408
	3,3	7,5	24.SAAT	6,65	1,47	25,6	0,94	1,33 x10 ⁸	43,259
	11,7	7,5	24.SAAT	6,77	1,92	33,1	1,074	1,26 x10 ⁸	42,477
	7,5	11,7	24.SAAT	6,76	1,95	33,6	1,261	1,96 x10 ⁸	43,172
35 °C	10	10	24.SAAT	6,52	1,85	32,0	1,157	1,87 x10 ⁸	43,953
	5	10	24.SAAT	6,34	1,54	26,8	1,029	1,23 x10 ⁹	44,241
	5	5	24.SAAT	6,12	1,44	25,1	1,205	2,17 x10⁸	44,908
	10	5	24.SAAT	6,25	1,56	27,1	0,918	2,40 x10 ⁸	44,509
42 °C	7,5	7,5	24.SAAT	6,77	1,70	29,5	1,144	1,97 x10 ⁸	44,491

M96,2 izolatının maya-laktoz besi ortamında farklı sıcaklık , karbon ve azot değerlerinde toplam karbohidrat miktarları belirlenmiştir. En yüksek karbohidrat miktarını 35°C de % 5 karbon ve % 5 azot oranlarında ürettiği belirlenmiştir.

Şekil 3.15. *E.faecium*-M96.2 izolatının EPS Üretiminin Cevap Yüzey (Response Surface) Grafiği



Çizelge 3.17.1. *E.faecium*-M96.2 İzolatının EPS Üretimi Optimizasyonunun Varyans (ANOVA) Analizi

Kaynak	DF	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	41,6668	4,6296	34,33	0,000
Doğrusal	3	37,0942	12,3647	91,68	0,000
T	1	33,7503	33,7503	250,24	0,000
Cs	1	2,3934	2,3934	17,75	0,002
Azot%	1	0,9505	0,9505	7,05	0,024
Köşeli	3	0,5889	0,1963	1,46	0,285
T*T	1	0,2743	0,2743	2,03	0,184
Cs*Cs	1	0,1668	0,1668	1,24	0,292
Azot%*Azot%	1	0,0923	0,0923	0,68	0,427
Etkileşim	3	3,9838	1,3279	9,85	0,002
T*Cs	1	1,1461	1,1461	8,50	0,015
T*Azot%	1	2,8370	2,8370	21,03	0,001
Cs*Azot%	1	0,0007	0,0007	0,01	0,94

$$R-Sq = 96,86\% \quad R-Sq(pred) = 84,95\% \quad R-Sq(adj) = 94,04\%$$

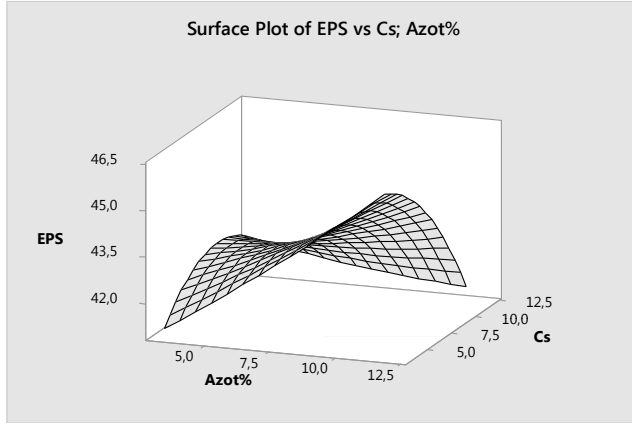
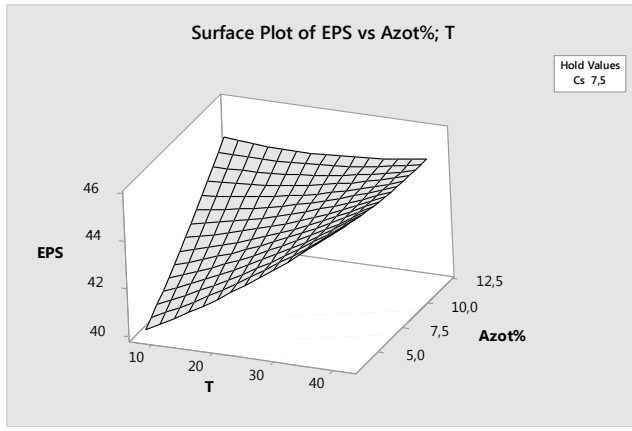
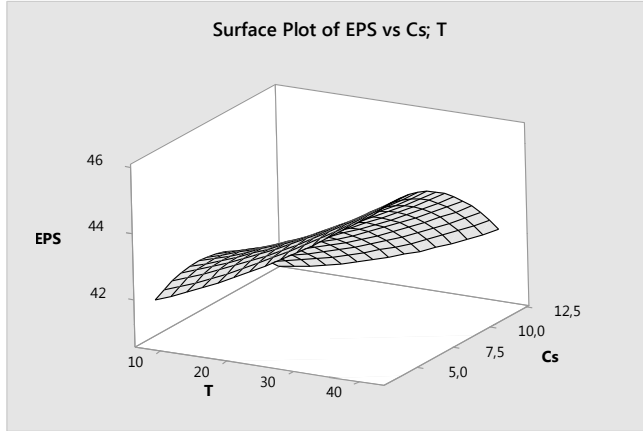
M96.2 izolatu için yapılan Cevap Yüzey (Response Surface) metoduna göre elde edilen sonuçlar süreç değişkenlerinin artışıdaki değerleri göstermektedir. EPS üretimindeki artış değişkenlerin minimum değerinde görülmüştür, orta değere yaklaştıkça azalma göstermiştir. EPS üretimi 45 °C’de iken karbon en yüksek değerde yüksek, azot miktarlarının en düşük ve en yüksek değerlerinde EPS üretimi fazla olmuştur. Karbon ve azot değerlerinin uç değerlerinden orta değerlere doğru gidildikçe EPS üretiminde azalma meydana gelmektedir. EPS üretimi minimum karbon değerinde ve maksimum azot değerinde en yüksek miktarda üretilmektedir. M96.2 izolatu için optimum üreme sıcaklığının 42 °C, karbon miktarının % 11,7, azot miktarının da % 3,3 olduğu not edilmiştir. EPS üretiminin 46,97 olduğu bulunmuştur. ANOVA testine göre P değeri 0,05’den küçük olan parameter model üzerinde etkilidir. Buna göre Cs*Cs’nin P değeri 0,292 , Azot% *Azot%’un P değeri 0,427 , Cs*Azot%’ un P değeri 0,94 olduğu için etkisizdir. R^2 değeri %94,04 olarak bulunmuş ve yapılan deneylerin sonuçlarının model ile uyumlu olduğunu göstermiştir.

Çizelge 3.18. Maya-Laktoz Besi Yeri İle *E.faecium*-G37 Bakterisinin Optimizasyon Sonuçları

Sıcaklık	Karbon %	Azot %	ZAMAN (SAAT)	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (G)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI
					mpas	%			
									Toplam EPS (mg/L)
8 °C	7,5	7,5	24.SAAT	6,49	1,71	29,6	1,131	<30	42,043
15 °C	10	10	24.SAAT	6,66	1,88	32,5	1,32	<30	42,251
	5	5	24.SAAT	7,03	1,44	25,1	1,275	<30	41,366
	10	5	24.SAAT	6,82	1,62	28,1	1,149	<30	41,852
	5	10	24.SAAT	7,10	1,51	26,3	1,18	<30	44,839
25 °C	7,5	7,5	24.SAAT	6,70	1,66	28,8	1,426	1,61 x10 ⁸	43,606
	7,5	7,5		6,68	1,62	28,1	1,401	1,45 x10 ⁸	43,485
	7,5	7,5		6,71	1,67	29,0	1,415	1,55 x10 ⁸	42,950
	7,5	7,5		6,70	1,64	28,5	1,410	1,68 x10 ⁸	43,797
	7,5	7,5		6,72	1,66	28,8	1,422	1,19 x10 ⁷	43,293
	7,5	7,5		6,74	1,67	29,0	1,426	1,58 x10 ⁷	43,821
	7,5	3,3	24.SAAT	6,29	1,47	25,6	1,305	1,52 x10 ⁹	42,378
	3,3	7,5	24.SAAT	6,41	1,51	26,3	1,313	1,40 x10 ⁹	43,172
	11,7	7,5	24.SAAT	6,65	1,83	31,6	1,346	1,37 x10 ⁸	41,976
	7,5	11,7	24.SAAT	6,72	1,90	32,8	1,38	1,60 x10 ⁸	44,856
35 °C	10	10	24.SAAT	6,28	1,83	31,6	1,35	1,26 x10 ⁹	43,068
	5	10	24.SAAT	6,05	1,58	27,5	1,013	2,10 x10 ⁹	45,22
	5	5	24.SAAT	5,96	1,44	25,1	1,291	2,40 x10 ⁹	44,542
	10	5	24.SAAT	6,02	1,63	28,3	1,225	1,87 x10 ⁸	43,554
42 °C	7,5	7,5	24.SAAT	6,70	1,58	27,5	1,283	<30	45,446

G37 izolatının maya-laktoz besi ortamında farklı sıcaklık , karbon ve azot değerlerinde toplam karbohidrat miktarları belirlenmiştir. En yüksek karbohidrat miktarını 42 °C' de % 7,5 karbon ve % 7,5 azot oranlarında ürettiği belirlenmiştir.

Şekil 3.16. *E.faecium*-G37 izolatının EPS Üretiminin Cevap Yüzey (Response Surface) Grafiği



Çizelge 3.18.1. *E.faecium*-G37 İzolatının EPS Üretimi Optimizasyonunun Varyans (ANOVA) Analizi

Kaynak	DF	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	24,8439	2,7604	16,34	0,000
Doğrusal	3	19,0080	6,3360	37,50	0,000
T	1	10,1941	10,1941	60,34	0,000
Azot%	1	4,9614	4,9614	29,37	0,000
Cs	1	3,8524	3,8524	22,80	0,001
Köşeli	3	1,7633	0,5878	3,48	0,058
T*T	1	0,1350	0,1350	0,80	0,392
Azot%*Azot%	1	0,0385	0,0385	0,23	0,643
Cs*Cs	1	1,4486	1,4486	8,57	0,015
Etkileşim	3	4,0726	1,3575	8,04	0,005
T*Azot%	1	1,6928	1,6928	10,02	0,010
T*Cs	1	0,1347	0,1347	0,80	0,393
Azot%*Cs	1	2,2451	2,2451	13,29	0,004

R-Sq = 93,63% R-Sq(pred) = 61,64% R-Sq(adj) = 87,90%

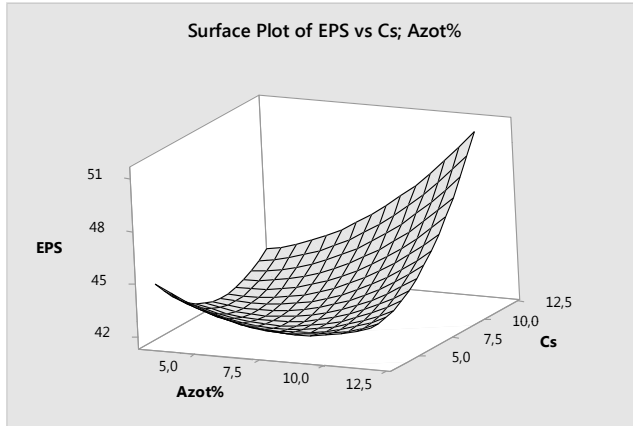
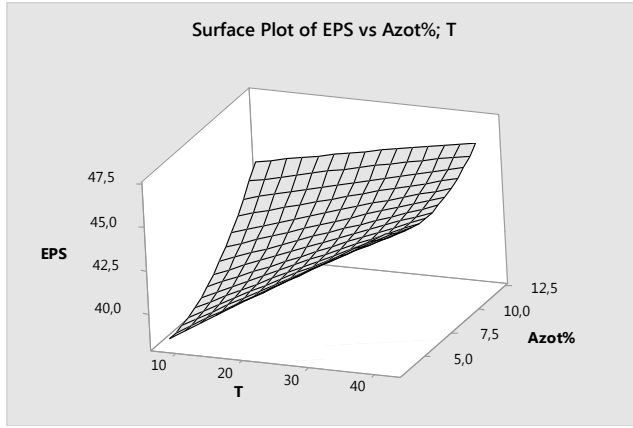
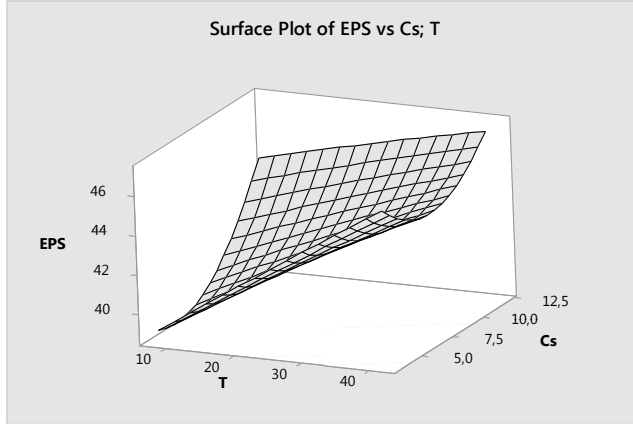
G37 izolatu için yapılan Cevap Yüzey (Response Surface) metoduna göre elde edilen sonuçlar süreç değişkenlerinin artışındaki değerleri göstermiştir. EPS üretiminde ki artış karbonun orta değerlerinde, azot değerlerinin ise uç değerlerinde yüksek olarak bulunmuştur. Azot miktarında ki değerleri ara değerleri doğru gidildikçe EPS miktarında azalma görülmüştür. G37 izolatu için optimum üreme sıcaklığı 42°C, karbon miktarının %3,3 ve azot miktarının % 11,7 olduğu bulunmuştur. Maksimum EPS üretimi 46,94 olarak bulunmuştur. ANOVA testine göre izolatu EPS üretiminde karbon değerinin anlamlı olduğu gösterilmiştir. T*T' nin P değeri 0,392 ve Azot%*Azot%'un P değeri 0,643 olduğu için etkisizdir. R² değeri % 87,90 olarak bulunmuştur ve deneysel sonuçların model ile uyumlu olduğu gösterilmiştir.

Çizelge 3.19. Et-Glikoz Besi Yeri İle *L.farciminis*-109.1 Bakterisinin Optimizasyon Sonuçları

Sıcaklık	Karbon %	Azot %	ZAMAN (SAAT)	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (G)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI
					mpas	%			
									Toplam EPS (mg/L)
8 °C	7,5	7,5	24.SAAT	5,59	1,79	31,0	1,471	<30	39,318
15 °C	10	10	24.SAAT	5,33	2,24	38,5	1,389	<30	45,873
	5	5	24.SAAT	5,51	1,70	29,5	1,045	<30	40,429
	10	5	24.SAAT	5,39	1,83	31,6	1,09	<30	41,54
	5	10	24.SAAT	5,45	1,99	34,3	1,698	<30	41,679
25 °C	7,5	7,5	24.SAAT	5,42	1,95	33,6	1,299	<30	42,425
	7,5	7,5		5,43	1,90	32,8	1,290	<30	42,373
	7,5	7,5		5,41	1,90	32,8	1,292	<30	42,252
	7,5	7,5		5,43	1,95	33,6	1,298	<30	42,321
	7,5	7,5		5,42	1,90	32,8	1,294	<30	42,668
	7,5	7,5		5,43	1,95	33,6	1,298	<30	42,148
	7,5	3,3	24.SAAT	5,55	1,70	29,5	1,107	2,10 X10 ⁸	41,748
	3,3	7,5	24.SAAT	5,66	1,72	29,8	1,077	2,29 X10 ⁸	42,321
	11,7	7,5	24.SAAT	5,38	1,90	32,8	0,945	<30	45,429
	7,5	11,7	24.SAAT	5,43	2,19	37,6	1,366	<30	44,786
35 °C	10	10	24.SAAT	5,43	1,69	29,3	1,103	2,46 X10⁹	47,148
	5	10	24.SAAT	5,51	1,57	27,3	1,221	2,78 X10 ⁹	44,439
	5	5	24.SAAT	5,24	1,77	30,6	0,962	2,39 X10 ⁹	45,116
	10	5	24.SAAT	5,35	1,79	31,0	1,018	2,83 X10 ⁹	44,387
42 °C	7,5	7,5	24.SAAT	5,36	1,74	30,1	1,225	2,87 X10 ⁹	44,335

109.1 izolatının et-glikoz besi ortamında farklı sıcaklık , karbon ve azot değerlerinde toplam karbohidrat miktarları belirlenmiştir. En yüksek karbohidrat miktarını 35 °C’ de % 10 karbon ve % 10 azot oranlarında ürettiği belirlenmiştir.

Şekil 3.17. *L.farciminis*-109.1 izolatının EPS Üretiminin Cevap Yüzey (Response Surface) Grafiği



Çizelge 3.19.1. *L.farciminis*-109.1 İzolatının EPS Üretimi Optimizasyonunun Varyans (ANOVA) Analizi

Kaynak	DF	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	70,8536	7,8726	35,32	0,000
Doğrusal	3	52,7242	17,5747	78,84	0,000
T	1	29,3085	29,3085	131,47	0,000
Cs	1	11,4631	11,4631	51,42	0,000
Azot%	1	11,9525	11,9525	53,62	0,000
Köşeli	3	9,9017	3,3006	14,81	0,001
T*T	1	0,0067	0,0067	0,03	0,866
Cs*Cs	1	7,1150	7,1150	31,92	0,000
Azot%*Azot%	1	3,4275	3,4275	15,38	0,003
Etkileşim	3	8,2278	2,7426	12,30	0,001
T*Cs	1	1,3820	1,3820	6,20	0,032
T*Azot%	1	1,5304	1,5304	6,87	0,026
Cs*Azot%	1	5,3154	5,3154	23,84	0,001

R-Sq = 96,95% R-Sq(pred) = 78,26% R-Sq(adj) = 94,20%

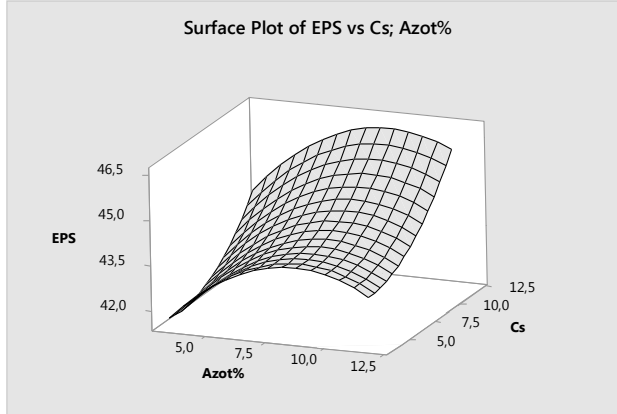
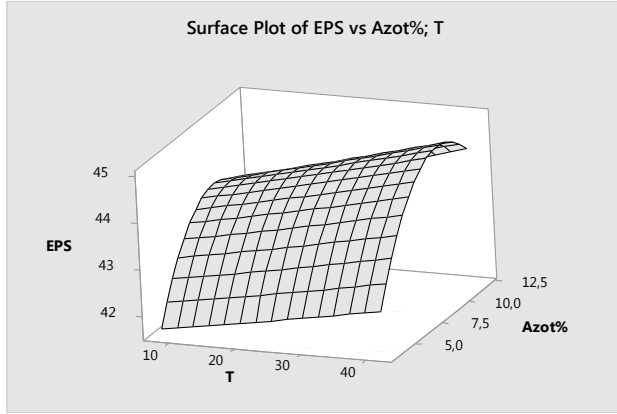
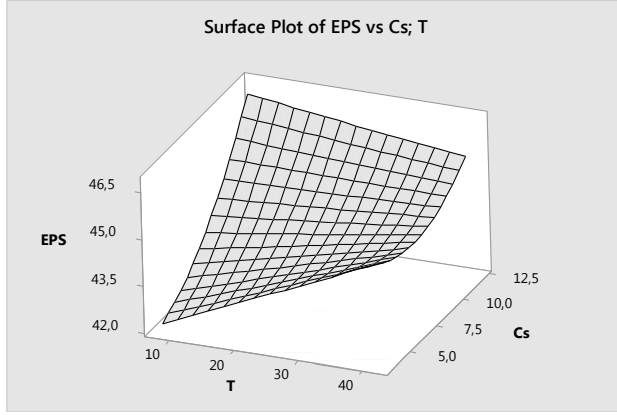
109.1 izolatu için yapılan Cevap Yüzey (Response Surface) metoduna göre elde edilen sonuçlar en yüksek EPS miktarlarını göstermiştir. EPS üretimindeki artış değişkenlerin maksimum değerinde görülmüştür, maksimum değerden aşağıya doğru gidildikçe azalma görülmüştür. 109.1 izolatu için optimum üreme sıcaklığının 32°C, karbon ve azot miktarlarının %11,7 olduğu not edilmiştir. Maksimum EPS üretimi 51,14 olarak hesaplanmıştır. EPS üretiminde azot, karbon ve sıcaklık değişkenlerinin ve etkileşimlerinin etkileri F ve P değerleri ile verilmiştir. Verilen bu değerlere göre T*T' nin P değeri 0,866 olarak bulunduğunu için bu parameter etkisiz olarak bulunmuştur. R² değeri %94,20 olarak hesaplanmış ve deneyde elde edilen sonuçlar ile model tarafından verilen değerlerin uyumlu olduğu ispatlanmıştır.

Çizelge 3.20. Et-Laktoz Besi Yeri İle *L.reuteri*-M80 Bakterisinin Optimizasyon Sonuçları

Sıcaklık	Karbon %	Azot %	ZAMAN (SAAT)	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (G)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI
					mpas	%			
									Toplam EPS (mg/L)
8 °C	7,5	7,5	24.SAAT	6,05	2,07	35,6	1,162	5,4 x 10 ⁶	43,797
15 °C	10	10	24.SAAT	5,91	2,64	45,1	1,252	7,0 x 10 ⁶	45,29
	5	5	24.SAAT	6,24	2,00	34,5	1,365	9,2 x 10 ⁶	42,304
	10	5	24.SAAT	6,03	2,30	39,5	1,273	6,5 x 10 ⁶	44,179
	5	10	24.SAAT	6,07	2,36	40,5	1,178	1,71 x 10 ⁸	43,05
25 °C	7,5	7,5	24.SAAT	5,84	2,26	38,8	1,209	1,04x 10 ¹⁰	44,092
	7,5	7,5		5,86	2,27	39,0	1,205	1,25x 10 ¹⁰	44,370
	7,5	7,5		5,85	2,28	39,1	1,210	1,32x 10 ¹⁰	44,161
	7,5	7,5		5,84	2,26	38,8	1,209	1,14x 10 ¹⁰	44,092
	7,5	7,5		5,86	2,28	39,1	1,205	1,23x 10 ¹⁰	44,526
	7,5	7,5		5,83	2,18	37,5	1,200	2,15 x 10 ⁹	44,352
	7,5	3,3	24.SAAT	6,04	2,04	35,1	1,124	1,65 x 10 ⁸	41,991
	3,3	7,5	24.SAAT	6,08	2,13	36,6	1,133	1,22x 10 ¹¹	43,45
	11,7	7,5	24.SAAT	4,71	2,77	47,3	1,116	1,18 x 10⁹	46,418
	7,5	11,7	24.SAAT	5,85	2,92	49,8	1,333	1,73 x 10 ⁸	43,71
35 °C	10	10	24.SAAT	5,39	2,76	47,1	1,308	1,38 x 10 ⁹	45,359
	5	10	24.SAAT	5,72	2,32	39,8	1,124	2,47 x 10 ⁹	44,63
	5	5	24.SAAT	5,73	1,98	34,1	1,096	1,45x 10 ¹⁰	43,571
	10	5	24.SAAT	5,51	2,18	37,5	1,259	1,83x 10 ¹⁰	44,196
42 °C	7,5	7,5	24.SAAT	5,60	2,28	39,1	1,279	1,50x 10 ¹⁰	44,561

M80 izolatının et-laktoz besi ortamında farklı sıcaklık , karbon ve azot değerlerinde toplam karbohidrat miktarları belirlenmiştir. En yüksek karbohidrat miktarını 25 °C' de % 11,7 karbon ve % 7,5 azot oranlarında ürettiği belirlenmiştir.

Şekil 3.18. *L.reuteri*-M80 izolatının EPS Üretiminin Cevap Yüzey (Response Surface) Grafiği



Çizelge 3.20.1. *L.reuteri*-M80 İzolatının EPS Üretimi Optimizasyonunun Varyans (ANOVA) Analizi

Kaynak	DF	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	18,4541	2,05045	37,07	0,000
Doğrusal	3	12,8723	4,29076	77,56	0,000
T	1	1,3027	1,30269	23,55	0,001
Cs	1	8,0123	8,01234	144,84	0,000
Azot%	1	3,5573	3,55726	64,30	0,000
Köşeli	3	4,5848	1,52826	27,63	0,000
T*T	1	0,0006	0,00063	0,01	0,917
Cs*Cs	1	1,0783	1,07826	19,49	0,001
Azot%*Azot%	1	3,0906	3,09060	55,87	0,000
Etkileşim	3	0,9970	0,33235	6,01	0,013
T*Cs	1	0,9529	0,95289	17,23	0,002
T*Azot%	1	0,0167	0,01665	0,30	0,595
Cs*Azot%	1	0,0275	0,02750	0,50	0,49

R-Sq = 97,09% R-Sq(pred) = 88,14% R-Sq(adj) = 94,47%

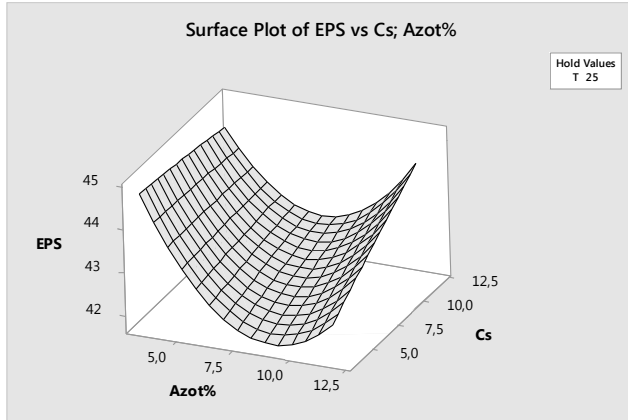
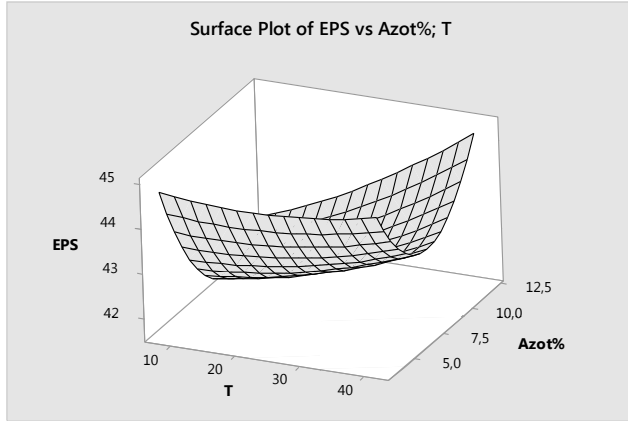
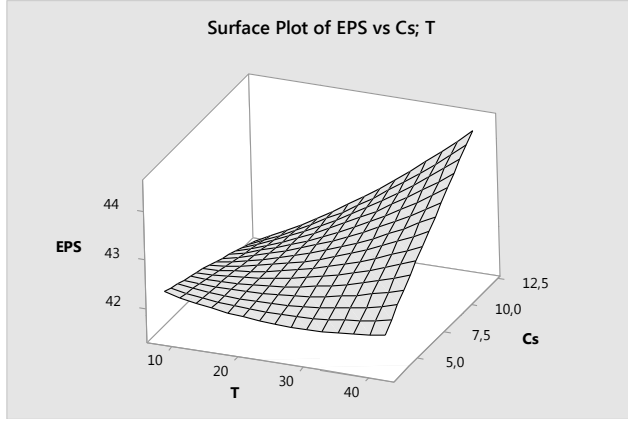
M80 izolatu için yapılan Cevap Yüzey (Response Surface) metoduna göre elde edilen sonuçlar süreç değişkenlerinin artışıdaki değerleri göstermektedir. EPS üretimindeki artış değişkenlerin farklı değerlerinde yüksek miktarda görülmektedir. Düşük sıcaklık, yüksek karbon miktarında EPS üretimi fazladır ve yüksek sıcaklık, ara azot değerinde EPS üretimi fazla olarak bulunmuştur. Karbon değerinde azalma meydana geldiğinde EPS üretimi azalmaktadır. Azot değerinde orta değerden uç değerlere doğru gidildikçe EPS üretiminde azalma meydana gelmektedir. EPS üretimi %10 karbon değerinde ve %7,5 azot değerinde en yüksek miktarda üretilmektedir. M80 izolatu için optimum üreme sıcaklığının 8°C, karbon miktarının %11,7 ve azot miktarının % 8,9 olduğu not edilmiştir. En yüksek EPS üretimi 46.9 olarak hesaplanmıştır. ANOVA testine göre T*T'nin P değeri 0,917 , T*Azot%' nin P değeri 0,595 ve Cs*Azot%'nin P değeri 0,49 olarak bulunduğundan bu değerleri etkisizdir. R² değerinin % 94,47 olarak hesaplanması yapılan deneysel sonuçların model ile uyum gösterdiği ispatlanmıştır.

Çizelge 3.21. Pepton-Laktoz Besi Yeri İle *E.faecium*-G36 Bakterisinin Optimizasyon Sonuçları

Sıcaklık	Karbon %	Azot %	ZAMAN (SAAT)	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (G)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)		
					mpas	%			Toplam (mg/L)	EPS	
8 °C	7,5	7,5	24.SAAT	6,11	1,77	30,6	1,05	<30	41,991		
15 °C	10	10	24.SAAT	5,96	1,99	34,3	1,234	<30	42,165		
	5	5	24.SAAT	6,21	1,44	25,1	0,946	<30	43,606		
	10	5	24.SAAT	6,04	1,81	31,3	1,124	<30	42,859		
	5	10	24.SAAT	6,06	1,82	31,5	1,045	<30	41,731		
25 °C	7,5	7,5	24.SAAT	5,45	1,79	31,0	1,02	2,12 X10 ⁷	42,373		
	7,5	7,5		5,48	1,77	30,6	1,00	2,08 X10 ⁷	42,599		
	7,5	7,5		5,50	1,81	31,3	1,06	2,25 X10 ⁷	42,269		
	7,5	7,5		5,48	1,79	31,0	1,03	2,06 X10 ⁷	42,425		
	7,5	7,5		5,47	1,81	31,3	1,05	2,17 X10 ⁷	42,582		
	7,5	7,5		5,45	1,77	30,6	1,00	2,05 X10 ⁷	42,113		
		7,5	3,3	24.SAAT	5,23	1,64	28,5	1,06	1,97 X10⁷	44,456	
		3,3	7,5	24.SAAT	5,40	1,45	25,3	0,968	2,28 X10 ⁷	41,887	
		11,7	7,5	24.SAAT	5,64	2,02	34,8	1,106	2,03 X10 ⁸	42,825	
		7,5	11,7	24.SAAT	5,75	1,94	33,5	1,065	2,34 X10 ⁸	43,571	
35 °C	10	10	24.SAAT	5,44	1,78	30,8	1,023	2,36 X10 ⁹	43,866		
	5	10	24.SAAT	5,29	1,71	29,6	1,102	2,66 X10 ⁸	42,72		
	5	5	24.SAAT	5,01	1,43	25,0	0,98	2,51 X10 ⁸	43,345		
	10	5	24.SAAT	4,98	1,65	28,6	1,004	1,99 X10 ⁸	44,109		
42 °C	7,5	7,5	24.SAAT	5,32	1,92	33,1	1,3	2,56 X10 ⁷	43,207		

G36 izolatının pepton-laktoz besi ortamında farklı sıcaklık , karbon ve azot değerlerinde toplam karbohidrat miktarları belirlenmiştir. En yüksek karbohidrat miktarını 25 °C’ de % 7,5 karbon ve % 3,3 azot oranlarında ürettiği belirlenmiştir.

Şekil 3.19. *E.faecium*-G36 izolatının EPS Üretiminin Cevap Yüzey (Response Surface) Grafiği



Çizelge 3.21.1. *E.faecium*-G36 İzolatının EPS Üretimi Optimizasyonunun Varyans (ANOVA) Analizi

Kaynak	DF	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	11,0840	1,23156	30,80	0,000
Doğrusal	3	4,9134	1,63781	40,96	0,000
T	1	2,3992	2,39915	60,01	0,000
Cs	1	0,7379	0,73791	18,46	0,002
Azot%	1	1,7764	1,77636	44,43	0,000
Köşeli	3	4,8858	1,62862	40,73	0,000
T*T	1	0,0873	0,08727	2,18	0,170
Cs*Cs	1	0,0009	0,00094	0,02	0,881
Azot%*Azot%	1	4,8133	4,81326	120,39	0,000
Etkileşim	3	1,2848	0,42825	10,71	0,002
T*Cs	1	0,6177	0,61772	15,45	0,003
T*Azot%	1	0,3617	0,36168	9,05	0,013
Cs*Azot%	1	0,3054	0,30537	7,64	0,020

R-Sq = 96,52% R-Sq(pred) = 81,76% R-Sq(adj) = 93,39 %

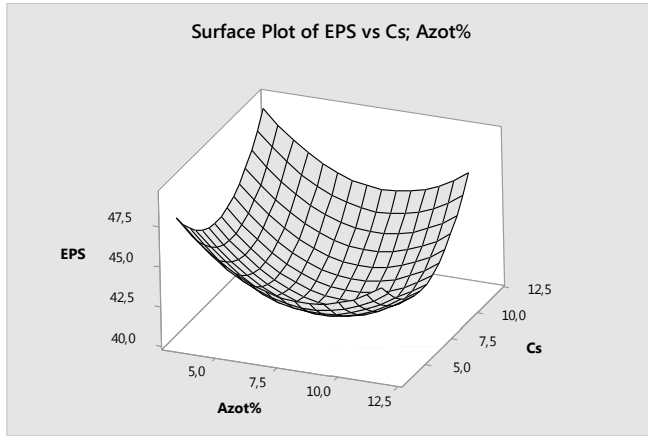
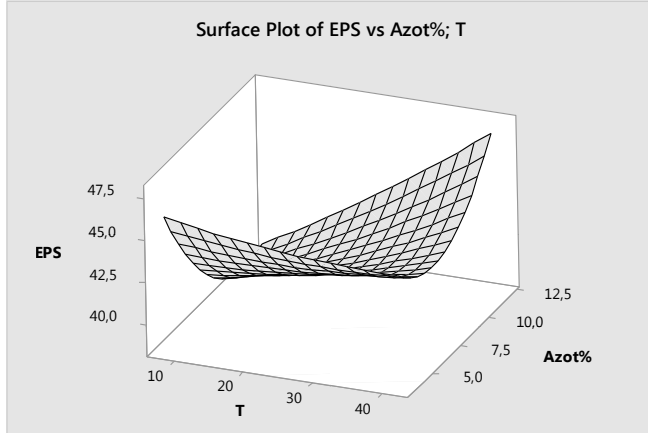
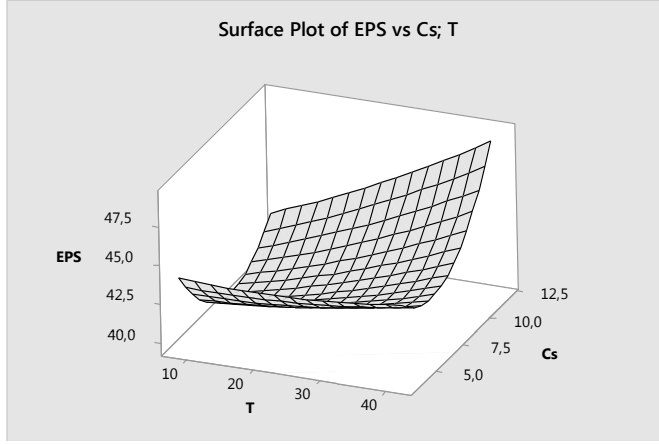
G36 izolatu için yapılan Cevap Yüzey (Response Surface) metoduna göre elde edilen sonuçlar EPS miktarındaki değişimleri göstermektedir. Yüksek sıcaklık değerinde ve yüksek karbon değerinde EPS üretimi fazladır. Düşük ve yüksek sıcaklık ve azot değerlerinde EPS üretiminin fazla olduğu bulunmuştur. G36 izolatu için optimum üreme sıcaklığının 42°C, azot ve karbon miktarlarının % 11.7 olduğu not edilmiştir. Maksimum EPS üretimi miktarı 46,65 olarak bulunmuştur. Yapılan deney sonucunda karbon ve azot kaynakları arasındaki optimal dengenin yüksek EPS veriminin elde edilmesinde gerekli olduğu gösterilmiştir. EPS üretiminde kullanılan faktörlerden T*T ve Cs*Cs parametrelerinin P değerleri 0,05'den büyük olduğu için bu değerleri etkisiz olarak bulunmuştur. R² değerinin %93,39 olarak bulunması deneysel sonuçların model ile uyumlu olduğunu ispatlamıştır.

Çizelge 3.22. Et-Laktoz Besi Yeri İle *L.reuteri*-B26 Bakterisinin Optimizasyon Sonuçları

Sıcaklık	Karbon %	Azot %	ZAMAN (SAAT)	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (G)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
					mpas	%			
8 °C	7,5	7,5	24.SAAT	6,00	2,12	36,5	1,593	<30	39,856
15 °C	10	10	24.SAAT	5,86	2,49	42,6	1,788	<30	40,828
	5	5	24.SAAT	6,24	1,91	33,0	1,38	<30	43,988
	10	5	24.SAAT	5,99	2,31	39,6	1,139	4 x 10 ⁶	44,3
	5	10	24.SAAT	6,01	2,40	41,1	1,175	3,1 x 10 ⁶	40,95
25 °C	7,5	7,5	24.SAAT	5,98	2,40	41,1	1,487	5,9 x 10 ⁶	41,61
	7,5	7,5		5,96	2,39	41,0	1,485	5,7 x 10 ⁶	41,369
	7,5	7,5		5,80	2,39	41,0	1,480	5,5 x 10 ⁶	40,168
	7,5	7,5		5,97	2,40	41,1	1,490	6,1 x 10 ⁶	41,731
	7,5	7,5		5,98	2,40	41,1	1,484	5,6 x 10 ⁶	40,644
	7,5	7,5		5,92	2,39	41,0	1,482	5,0 x 10 ⁶	42,373
	7,5	3,3	24.SAAT	6,23	2,07	35,6	1,333	4,0 x 10 ⁶	44,908
	3,3	7,5	24.SAAT	6,28	2,13	36,6	1,333	4,3 x 10 ⁶	44,144
	11,7	7,5	24.SAAT	5,88	2,77	47,3	1,555	1,92 x 10 ⁹	45,012
	7,5	11,7	24.SAAT	5,91	2,94	5,01	1,303	<30	43,137
35 °C	10	10	24.SAAT	5,81	2,92	49,8	1,297	6,3 x 10⁶	46,349
	5	10	24.SAAT	5,87	2,54	43,5	1,550	2,13 x 10 ⁹	43,658
	5	5	24.SAAT	6,15	2,09	36,0	1,09	1,89 x 10 ⁸	43,692
	10	5	24.SAAT	5,95	2,50	42,8	1,394	1,39 x 10 ⁷	45,707
42 °C	7,5	7,5	24.SAAT	5,41	2,54	45,3	1,185	1,35 x 10 ¹⁰	43,311

B26 izolatının et-laktoz besi ortamında farklı sıcaklık , karbon ve azot değerlerinde toplam karbohidrat miktarları belirlenmiştir. En yüksek karbohidrat miktarını 35 °C' de % 10 karbon ve % 10 azot oranlarında ürettiği belirlenmiştir.

Şekil 3.20. *L.reuteri*-B26 izolatının EPS Üretimini Cevap Yüzey (Response Surface) Grafiği



Çizelge 3.22.1. *L.reuteri*-B26 İzolatının EPS Üretimi Optimizasyonunun Varyans (ANOVA) Analizi

Kaynak	DF	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	65,9339	7,3260	18,24	0,000
Doğrusal	3	25,5402	8,5134	21,20	0,000
T	1	16,8077	16,8077	41,86	0,000
Cs	1	2,9579	2,9579	7,37	0,022
Azot%	1	5,7746	5,7746	14,38	0,004
Köşeli	3	31,5039	10,5013	26,15	0,000
T*T	1	0,2401	0,2401	0,60	0,457
Cs*Cs	1	20,3323	20,3323	50,63	0,000
Azot%*Azot%	1	14,1644	14,1644	35,27	0,000
Etkileşim	3	8,8898	2,9633	7,38	0,007
T*Cs	1	2,5493	2,5493	6,35	0,030
T*Azot%	1	6,3332	6,3332	15,77	0,003
Cs*Azot%	1	0,0073	0,0073	0,02	0,895

$$R-Sq = 94,26\% \quad R-Sq(pred) = 83,76\% \quad R-Sq(adj) = 89,09\%$$

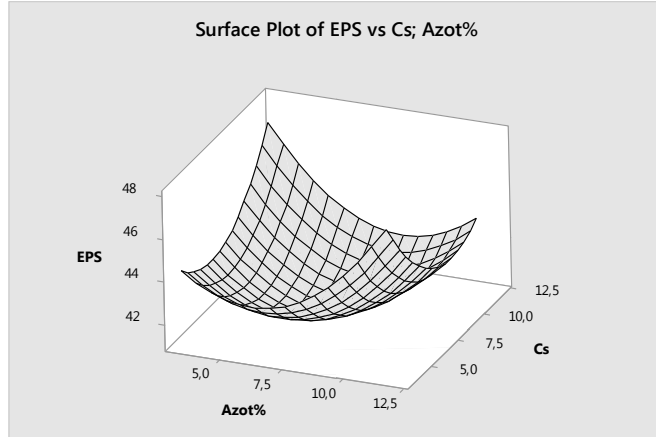
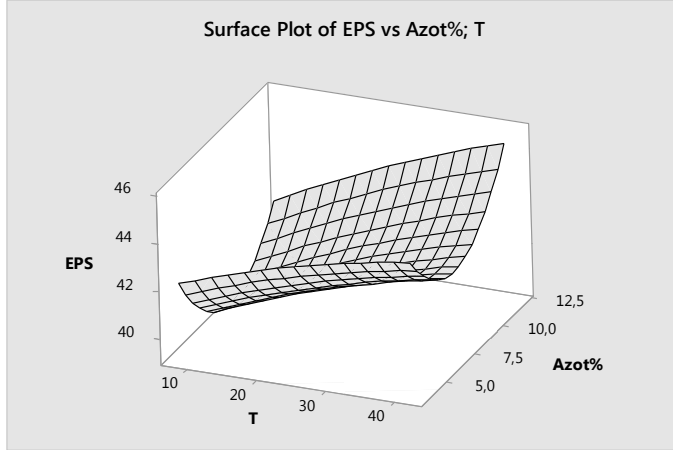
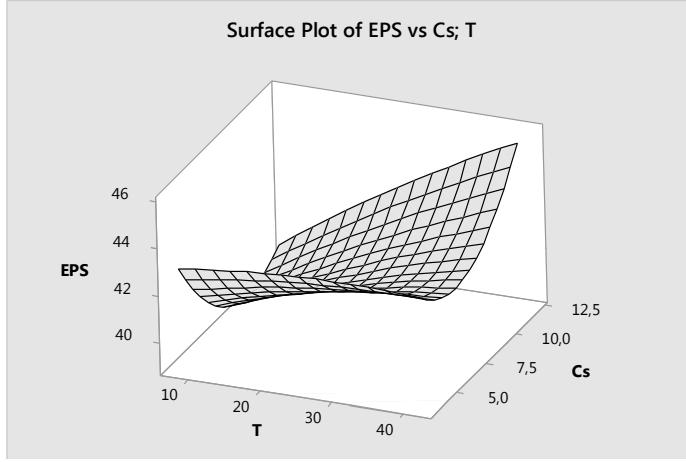
B26 izolatu için yapılan Cevap Yüzey (Response Surface) metoduna göre elde edilen sonuçlar EPS üretimi artışındaki değerleri gösterilmiştir. EPS üretimindeki artış değişkenlerin minimum ve maksimum değerlerinde görülmüştür, orta değere yaklaştıkça azalma göstermiştir. En fazla EPS düşük karbon ve yüksek azot değerinde olduğu bulunmuştur. EPS üretimi 46 °C’de iken karbon ve azot miktarlarının en düşük ve en yüksek değerlerinde EPS üretimi fazla bulunmuştur. Karbon ve azot değerlerinin uç değerlerinden ara değerlere gidildikçe EPS üretiminde azalma meydana gelmiştir. B26 izolatu için optimum üreme sıcaklığının 42°C, karbon ve azot miktarlarının % 11,7 olduğu not edilmiştir. EPS üretimi değeri 53,17 olarak hesaplanmıştır. ANOVA testine göre EPS üretiminde azot, karbon ve sıcaklık değerlerinin etkili olduğu bulunmuştur. R² değerinin %89,09 olması da deneysel sonuçların model ile uyumlu olduğunu göstermiştir.

Çizelge 3.23. Pepton-Glikoz Besi Yeri İle *P.acidilactici*-B31 Bakterisinin Optimizasyon Sonuçları

Sıcaklık	Karbon %	Azot %	ZAMAN (SAAT)	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (G)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
					mpas	%			
									Toplam EPS (mg/L)
8 °C	7,5	7,5	24.SAAT	5,64	1,79	31,0	0,841	<30	38,953
15 °C	10	10	24.SAAT	5,53	1,95	33,6	1,133	<30	40,776
	5	5	24.SAAT	5,65	1,60	27,8	1,101	<30	42,148
	10	5	24.SAAT	5,56	1,88	32,5	1,156	<30	42,234
	5	10	24.SAAT	5,62	1,85	32,0	1,087	<30	43,293
25 °C	7,5	7,5	24.SAAT	5,55	1,70	29,5	1,126	<30	41,366
	7,5	7,5		5,54	1,72	29,8	1,124	<30	41,488
	7,5	7,5		5,55	1,74	30,1	1,125	<30	41,141
	7,5	7,5		5,54	1,72	29,8	1,123	<30	41,019
	7,5	7,5		5,53	1,70	29,5	1,124	<30	41,089
	7,5	7,5		5,53	1,70	29,5	1,124	<30	41,158
	7,5	3,3	24.SAAT	5,53	1,53	26,6	1,11	<30	43,137
	3,3	7,5	24.SAAT	5,59	1,61	28,0	1,048	<30	42,964
	11,7	7,5	24.SAAT	5,47	1,90	32,8	1,133	<30	42,651
	7,5	11,7	24.SAAT	5,47	1,81	31,3	1,073	<30	43,536
35 °C	10	10	24.SAAT	5,39	1,99	34,3	1,151	1,96 X10 ⁸	44,179
	5	10	24.SAAT	5,55	1,70	29,5	1,159	2,03 X10 ⁹	44,405
	5	5	24.SAAT	5,57	1,58	27,5	1,499	2,68 X10 ⁹	43,05
	10	5	24.SAAT	5,51	1,50	26,1	1,147	2,05 X10⁸	44,769
42 °C	7,5	7,5	24.SAAT	5,33	1,52	26,5	1,124	2,77 X10 ⁹	41,905

B31 izolatının pepton-glikoz besi ortamında farklı sıcaklık , karbon ve azot değerlerinde toplam karbohidrat miktarları belirlenmiştir. En yüksek karbohidrat miktarını 35 °C’ de % 10 karbon ve % 5 azot oranlarında ürettiği belirlenmiştir.

Şekil 3.21. *P.acidilactici*-B31 izolatının EPS Üretiminin Cevap Yüzey (Response Surface) Grafiği



Çizelge 3.23.1. *P.acidilactici*-B31 İzolatının EPS Üretimi Optimizasyonunun Varyans (ANOVA) Analizi

Kaynak	DF	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	36,7509	4,0834	15,61	0,000
Doğrusal	3	12,4659	4,1553	15,89	0,000
T	1	12,2166	12,2166	46,71	0,000
Cs	1	0,1570	0,1570	0,60	0,456
Azot%	1	0,0923	0,0923	0,35	0,566
Köşeli	3	19,6294	6,5431	25,02	0,000
T*T	1	0,1314	0,1314	0,50	0,495
Cs*Cs	1	8,0079	8,0079	30,62	0,000
Azot%*Azot%	1	12,5304	12,5304	47,91	0,000
Etkileşim	3	4,6555	1,5518	5,93	0,014
T*Cs	1	1,9247	1,9247	7,36	0,022
T*Azot%	1	0,1453	0,1453	0,56	0,473
Cs*Azot%	1	2,5855	2,5855	9,89	0,010

$$R\text{-Sq} = 93,36\% \quad R\text{-Sq(pred)} = 52,12\% \quad R\text{-Sq(adj)} = 87,38\%$$

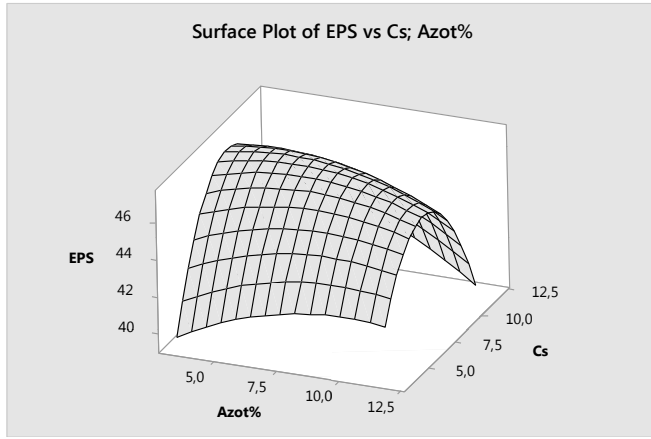
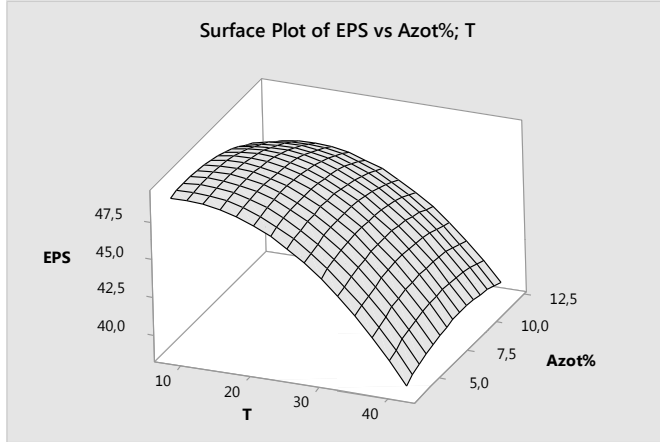
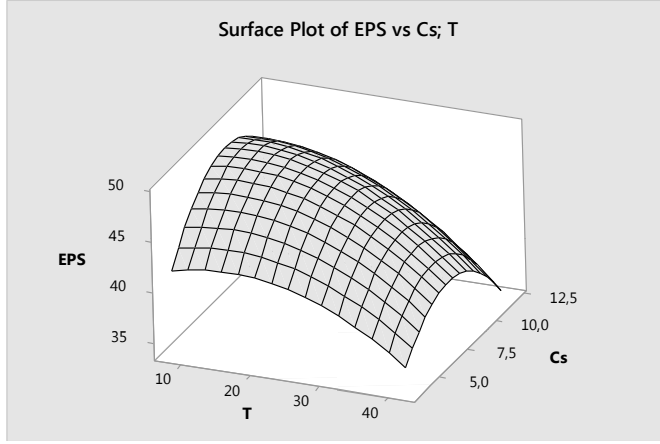
B31 izolatu için yapılan Cevap Yüzey (Response Surface) metoduna göre elde edilen sonuçlar EPS değerindeki değişimleri göstermektedir. EPS üretimindeki artış değişkenlerin minimum değerinde görülmüştür, orta değere yaklaştıkça azalma göstermiştir. EPS üretimi 45°C'de iken karbon ve azot miktarlarının en düşük ve en yüksek değerlerinde EPS üretimi fazladır. Karbon ve azot değerlerinin uç değerlerinden orta değerlere doğru gidildikçe EPS üretiminde azalma meydana gelmektedir. EPS üretimi minimum karbon değerinde ve maksimum azot değerinde en yüksek miktarda üretilmektedir. Ayrıca maksimum karbon ve minimum azot değerinde de EPS üretimi fazla miktarda görülmektedir. B31 izolatu için optimum üreme sıcaklığının 42°C, karbon miktarının % 11,7 ve azot miktarının % 3,3 olduğu not edilmiştir. Düşük azot değerinde ve yüksek karbon değerinde EPS üretimi maksimumdur. EPS üretiminin maksimum değeri 49,54 olarak not edilmiştir. ANOVA testine göre EPS üretiminde azot ve karbon değerleri etkisiz olmuştur. Çünkü P değerleri 0,05'den büyük olarak bulunmuştur. R² değerinin %87,38 olarak hesaplanması deneysel sonuçların model ile uyumunu ispatlamıştır.

Çizelge 3.24. Maya-Laktöz Besi Yeri İle *E.faecium*-G38 Bakterisinin Optimizasyon Sonuçları

Sıcaklık	Karbon %	Azot %	ZAMAN (SAAT)	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (G)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)
					mpas	%			
8 °C	7,5	7,5	24.SAAT	5,72	1,79	31,0	1,181	<30	48,016
15 °C	10	10	24.SAAT	5,74	1,94	33,5	1,180	<30	46,366
	5	5	24.SAAT	6,16	1,48	25,8	1,105	<30	46,106
	10	5	24.SAAT	5,88	1,67	29,0	1,172	<30	48,363
	5	10	24.SAAT	6,05	1,55	27,0	1,228	<30	46,540
25 °C	7,5	7,5	24.SAAT	5,71	1,67	29,0	1,452	<30	48,276
	7,5	7,5		5,69	1,64	28,5	1,432	<30	47,165
	7,5	7,5		5,70	1,70	29,5	1,445	<30	46,523
	7,5	7,5		5,69	1,67	29,0	1,451	<30	46,401
	7,5	7,5		5,66	1,64	28,5	1,430	<30	47,512
	7,5	7,5		5,72	1,67	29,0	1,455	<30	47,564
	7,5	3,3	24.SAAT	6,00	1,49	26,0	1,128	2,10 x10 ⁷	46,991
	3,3	7,5	24.SAAT	6,08	1,46	25,5	1,35	2,21 x10 ⁹	41,262
	11,7	7,5	24.SAAT	5,68	1,84	31,8	1,459	7,2 x10 ⁶	42,789
	7,5	11,7	24.SAAT	5,64	1,92	33,1	1,532	<30	45,203
35 °C	10	10	24.SAAT	5,72	1,83	31,6	1,318	<30	40,776
	5	10	24.SAAT	6,04	1,52	26,5	1,08	1,56 x10 ¹¹	42,651
	5	5	24.SAAT	6,10	1,39	24,3	1,171	1,77 x10 ⁸	41,175
	10	5	24.SAAT	5,84	1,59	27,6	1,273	1,18 x10 ⁷	41,575
42 °C	7,5	7,5	24.SAAT	5,68	1,64	28,5	1,408	1,13 x10 ⁷	40,325

G38 izolatının maya-laktöz besi ortamında farklı sıcaklık , karbon ve azot değerlerinde toplam karbohidrat miktarları belirlenmiştir. En yüksek karbohidrat miktarını 15 °C' de % 10 karbon ve % 5 azot oranlarında ürettiği belirlenmiştir.

Şekil 3.22. *E.faecium*-G38 izolatının EPS Üretiminin Cevap Yüzey (Response Surface) Grafiği



Çizelge 3.24.1. *E.faecium*-G38 İzolatının EPS Üretimi Optimizasyonunun Varyans (ANOVA) Analizi

Kaynak	DF	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	148,532	16,5036	38,93	0,000
Doğrusal	3	87,156	29,0521	68,53	0,000
T	1	85,308	85,3080	201,23	0,000
Cs	1	0,739	0,7386	1,74	0,216
Azot%	1	1,110	1,1098	2,62	0,137
Köşeli	3	56,398	18,7993	44,35	0,000
T*T	1	15,133	15,1331	35,70	0,000
Cs*Cs	1	45,820	45,8203	108,08	0,000
Azot%*Azot%	1	1,702	1,7016	4,01	0,073
Etkileşim	3	4,978	1,6593	3,91	0,044
T*Cs	1	1,582	1,5824	3,73	0,082
T*Azot%	1	0,627	0,6272	1,48	0,252
Cs*Azot%	1	2,768	2,7683	6,53	0,029

$$R-Sq = 97,23\% \quad R-Sq(pred) = 88,90\% \quad R-Sq(adj) = 94,73\%$$

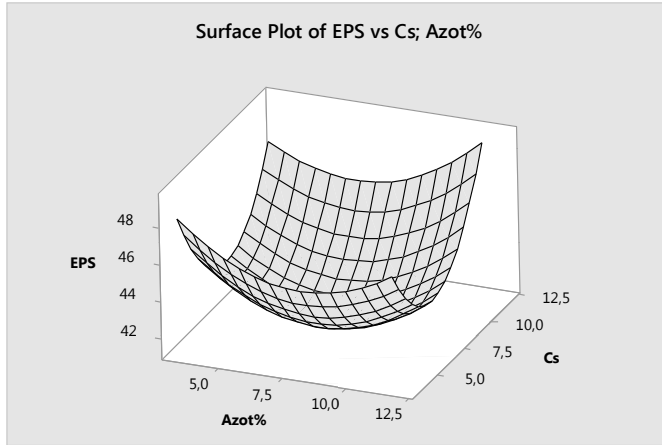
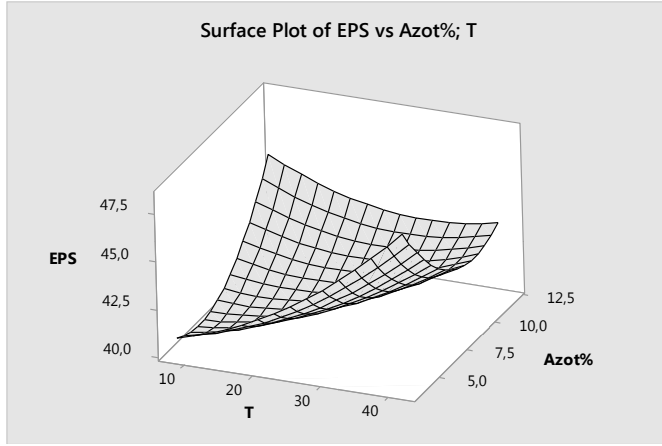
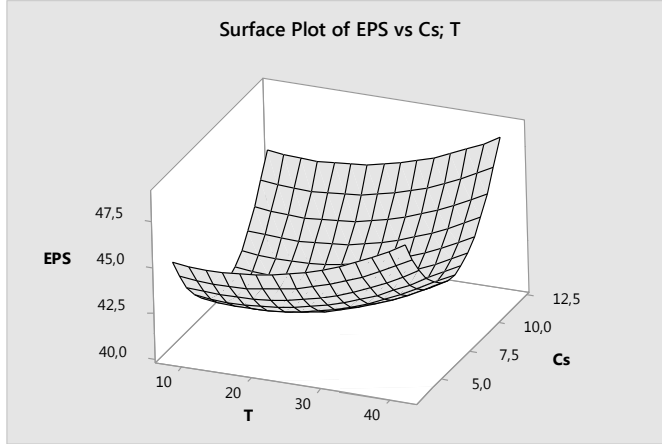
G38 izolatu için yapılan Cevap Yüzey (Response Surface) metoduna göre elde edilen sonuçlar EPS üretim artışındaki değerleri göstermiştir. EPS üretimi 15°C' de iken karbon miktarının en yüksek değerinde ve azot miktarının en düşük ve en yüksek değerlerinde EPS üretimi fazla bulunmuştur. Karbon miktarını azalttıkça EPS üretimi azalmıştır, azot miktarının orta değerlerine doğru gidildikçe EPS üretimi azalmıştır. Karbon ve azot miktarlarını beraber incelediğimiz zaman her ikisinde orta değerlerinde EPS üretiminin maksimum seviyede olduğu bulunmuştur. Üretilen maksimum EPS değeri 49,4 olarak not edilmiştir. ANOVA testine göre karbon, azot ve sıcaklık değerleri etkili olarak bulunmuştur. R² değerinin %94,73 olması deneysel sonuçlar ile model arasında uyumun olduğunu göstermiştir.

Çizelge 3.25. Maya-Laktöz Besi Yeri İle *E.faecium*-M78 Bakterisinin Optimizasyon Sonuçları

Sıcaklık	Karbon %	Azot %	ÖRNEK SAATLERİ	pH	VİSKOZİTE (100 RPM)		YAŞ AĞIRLIK (G)	TOPLAM HÜCRE SAYISI (kob/ml)	TOPLAM KARBOHİDRAT MİKTARI (EPS) (mg/L)	
					mpas	%			Toplam (mg/L)	EPS
8 °C	7,5	7,5	24.SAAT	6,13	1,81	31,3	0,704	<30	41,47	
15 °C	10	10	24.SAAT	5,89	1,99	34,3	1,149	<30	44,266	
	5	5	24.SAAT	6,21	1,82	31,5	1,014	<30	41,940	
	10	5	24.SAAT	6,01	1,89	32,6	0,506	<30	42,72	
	5	10	24.SAAT	6,09	1,90	32,8	0,841	<30	43,293	
25 °C	7,5	7,5	24.SAAT	6,07	1,65	28,6	0,996	<30	41,245	
	7,5	7,5		6,08	1,64	28,5	0,905	<30	41,192	
	7,5	7,5		6,10	1,63	28,5	0,902	<30	41,192	
	7,5	7,5		6,07	1,64	28,5	0,908	<30	41,540	
	7,5	7,5		6,09	1,65	28,6	0,907	<30	41,575	
	7,5	7,5		6,08	1,65	28,6	0,009	<30	41,314	
	7,5	3,3	24.SAAT	6,21	1,80	31,1	0,777	<30	43,207	
	3,3	7,5	24.SAAT	6,17	1,90	32,8	1,044	<30	45,984	
	11,7	7,5	24.SAAT	5,96	1,76	30,5	0,984	<30	46,002	
	7,5	11,7	24.SAAT	5,94	1,97	34,0	1,163	<30	44,127	
35 °C	10	10	24.SAAT	5,92	1,88	32,5	1,172	<30	45,012	
	5	10	24.SAAT	6,10	1,72	29,8	1,071	<30	43,241	
	5	5	24.SAAT	6,16	1,55	27,0	1,048	<30	45,967	
	10	5	24.SAAT	5,98	1,87	32,3	0,874	<30	45,776	
42 °C	7,5	7,5	24.SAAT	5,89	1,69	29,3	1,148	<30	43,675	

M78 izolatının maya-laktöz besi ortamında farklı sıcaklık , karbon ve azot değerlerinde toplam karbohidrat miktarları belirlenmiştir. En yüksek karbohidrat miktarını 25 °C’ de % 11,7 karbon ve % 7,5 azot oranlarında ürettiği belirlenmiştir.

Şekil 3.23. *E.faecium*-M78 izolatının EPS Üretiminin Cevap Yüzey (Response Surface) Grafiği



Çizelge 3.25.1. *E.faecium*-M78 İzolatının EPS Üretimi Optimizasyonunun Varyans (ANOVA) Analizi

Kaynak	DF	Adj SS	Adj MS	F	P
Regresyon	9	59,0499	6,5611	33,10	0,000
Doğrusal	3	10,5544	3,5181	17,75	0,000
T	1	9,6591	9,6591	48,73	0,000
Cs	1	0,8283	0,8283	4,18	0,068
Azot%	1	0,0670	0,0670	0,34	0,574
Köğeli	3	42,8089	14,2696	71,99	0,000
T*T	1	2,1808	2,1808	11,00	0,008
Cs*Cs	1	36,8162	36,8162	185,75	0,000
Azot%*Azot%	1	8,6775	8,6775	43,78	0,000
Etkileşim	3	5,6867	1,8956	9,56	0,003
T*Cs	1	0,0037	0,0037	0,02	0,893
T*Azot%	1	5,1024	5,1024	25,74	0,000
Cs*Azot%	1	0,5805	0,5805	2,93	0,118

R-Sq = 96,75% R-Sq(pred) = 75,83% R-Sq(adj) = 93,83%

M78 izolatu için yapılan Cevap Yüzey (Response Surface) metoduna göre elde edilen sonuçlar EPS üretim artışıdaki değerleri göstermektedir. EPS üretimi 45°C 'de iken karbon miktarının minimum ve maksimum değerlerinde fazladır. EPS üretimi 15°C' de maksimum azot miktarında ve 45°C' de minimum azot miktarında fazladır. Minimum ve maksimum azot ve karbon miktarlarında EPS üretiminin en yüksek seviyede olduğu belirlenmiştir. M78 izolatu için optimum üreme sıcaklığının 25°C olduğu ve EPS üretiminin 42 C' de en yüksek seviye de olduğu not edilmiştir. Ayrıca optimum karbon ve azot değerleri % 3,3 olarak bulunmuştur. Üretilen maksimum EPS değeri 53,13 olarak hesaplanmıştır. ANOVA testine göre T*Cs'nin P değeri 0,893 olarak bulunduğu için bu parameter etkisiz olarak bulunmuştur. R² değeri %93,83 olarak hesaplanmış ve deneysel sonuç ile model değerinin uyumlu olduğu ispatlanmıştır.

3.7.1. Deneysel modelin validasyonu

Model tarafından belirlenen koşullar altında istatistiksel modelin validasyonu yapıldı. Önceden yapılan çalışma ile validasyon arasında bazı benzerlikler görüldü (Çizelge 3.26).

Çizelge 3.26. Çalışmada Kullanılan İzolatların Cevap-Yüzey Yöntemi ve Validasyon Deneyi İle EPS Üretim Değerleri

İzolat numaraları	Cevap-yüzey yöntemi ile en yüksek EPS üretim değerleri				Validasyon EPS değerleri (mg/L)
	Sıcaklık	% karbon	%azot	EPS (mg/L)	
E60	42 °C	3,3	3,3	49,07	49,02
M96.2	42 °C	11,7	3,3	46,97	46,04
G37	42 °C	3,3	11,7	46,94	46,37
109.1	32 °C	11,7	11,7	51,14	49,81
M80	8 °C	11,7	8,9	46,90	46,36
G36	42 °C	11,7	11,7	46,65	46,08
B26	42 °C	11,7	11,7	53,17	50,38
B31	42 °C	11,7	3,3	49,54	48,35
G38	10 °C	8,7	3,9	49,40	47,07
M78	42 °C	3,3	3,3	53,13	49,19

E60 izolatinın önce ki çalışmada maksimum EPS miktarı 49,07 olarak bulunmuştur. Optimum koşullar altında model validasyonu sonuçlarına göre E60 izolatinın maksimum EPS miktarı 49,02 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre deneysel parametreler ile model validasyon değerleri birbirine uyum göstermektedir. Yapılan deneyin doğruluğunu belirtmiştir. G38 izolatinın maksimum EPS miktarı 49,04 olarak belirlenmiştir. Model validasyonu sonuçlarında G38 izolatinın toplam EPS değeri 47,07 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar arasında 1,97 ‘ lik bir fark çıkmıştır. Oluşan bu farkın karbon miktarının validasyon deneyinde %10 ‘ dan % 7,5 düşmesi ve azot miktarının % 5’den % 7,5’ a çıkmasının etkili olduğu belirlenmiştir. B31 izolatinın önce ki çalışmada toplam EPS miktarı 49,54 olarak bulunmuş ve validasyon modelinde ise bu değer 48,35 olarak bulunmuştur. İki deney arasında oluşan bu farkın önce ki çalışmada 35°C’ de maksimum EPS üretimi gerçekleşirken validasyon modelinde sıcaklığın 42°C’ye çıkmasının etkili olduğu belirlenmiştir. M96.2 izolatinın çalışmamızda ki toplam EPS miktarı 46,97, validasyon modelinde ki değeri 46,04 olarak bulunmuştur. Bu değer arasında bir uyum görülmüştür ve buna göre 35°C’de ve 42°C’de M96.2 izolatinın EPS miktarının aynı olduğu sıcaklığın belirli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. G37 izolatinın validasyon modelinde toplam EPS miktarı 46,37 olarak bulunmuştur ve önce ki çalışmanın doğru olduğunu göstermiştir. 109.1 izolatinın validasyon deneyi sonucunda toplam EPS miktarı

51,14 olarak beklenirken 49,81 olarak bulunmuştur. Aralarında ki bu farkın karbon ve azot değerlerinin %10'dan % 11,7' ye çıkmasının ve sıcaklığın 35°C'den 32°C'ye düşmesinin etkili olduğu düşünülmüştür. M80 izolatu için validasyon deneyi sonucunda toplam EPS miktarı 46,36 olarak bulunmuştur ve bu değer validasyon sonucunda istenilen değeri vermektedir. G36 izolatu'nun validasyon deneyi sonucunda EPS miktarı 46,08 olarak bulunmuştur. Bu sonuca göre deneysel parametreler ile model validasyonu arasında benzerlik olduğu görülmüştür. B26 izolatu'nun validasyon deneyi sonucunda EPS miktarı 50,384 olarak bulunmuş ama beklenen değer ise 53,17 olarak belirlenmiştir. Aralarında oluşan bu farkın sıcaklığın 35°C'den 42°C'ye çıkarılmasının etkili olduğu ve yüksek sıcaklıkta bakterinin EPS üretiminin azaldığı belirlenmiştir. M78 izolatu için validasyon deneyi sonucunda istenen değer 53,13 iken hesaplanan değer 49,19 olarak bulunmuştur. M78 izolatu'nun en yüksek EPS miktarının 25°C de % 11,7 karbon ve % 7,5 azot oranlarında ürettiği belirlenmiştir. Model validasyonunda ise bu değerler 42°C karbon ve azot değerleri % 3,3 olarak belirlenmiştir. İki parametre arasında oluşan bu farkın sıcaklığın düşürülmesi ve karbon ve azot miktarlarının azaltılması izolatu'nun EPS üretiminin azalmasına neden olduğu belirlenmiştir.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

İnsan sağlığına bakterilerin olumlu etkilerinde özellikle fonksiyonel gıda gelişiminde büyük ölçüde ekzopolisakkaritlerden yararlanılmıştır. Salminen ve arkadaşları (2009) tarafından bu bakterilerin bazıları probiyotikler olarak adlandırılmıştır ve insan sağlığına yararlı olan canlı mikrobiyal gıda bileşenleri olarak tanımlanmıştır. Probiyotiklerin sağlığı geliştirmede ki etkilerinde kısmen ekzopolisakkaritlerden yararlanılmaktadır. Bu ekzopolisakkaritlerin sağlıkta ki yararlarından bazıları antitümör, anti ülser, immünomodülatör, antiviral ve kolesterol düşürücü faaliyetleri sıralanabilir (Ruas-Madiedo 2002a). *Lactobacillus lactis subsp. cremoris* özel reolojik özelliklerinden dolayı yoğurt üretimi için süt endüstrisinde geniş uygulama alanına sahiptir; ayrıca bu organizmanın sağlıkta bazı geliştirici özelliklere sahip olduğu düşünölmektedir.

Çalışmamızda kullanılan süt ve süt ürünlerinden izole edilen 163 laktik asit bakteri izolatının antimikrobiyal aktivitesi sandvic overlay yöntemi ile test edilmiş. Test edilen edilen laktik asit bakterileri bir veya daha fazla Gram (+) veya Gram (-) bakteri ile mayalara karşı inhibitör aktivite göstermiştir. Elde edilen sonuçlara göre izolatların bir kısmı *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes 1* ve *Candida glabrata*' ya karşı düşük antimikrobiyal aktivite gösterirken, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans* üzerine yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmamızda kullandığımız B26, B31, E60, G36, G37, G38, M78, M96.2, M80 ve 109.1 izolatları test bakterilerinden en az birisine karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Çizelge 3.1). Maldonado ve arkadaşlarının (2011) yaptığı çalışmada *E.coli* üzerine uygulanan izolatlardan %10'unun etkili olduğu belirlenmiştir. Barefoot ve Klaenhammer (1983) ile Holo (1991) laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal aktivitelerinin dar spektrumlu olduğunu bildirirken, Ogunbanwo ve ark. (2003) izole edilen *L. plantarum* F 1'in geniş spektrumlu bir inhibisyon gösterdiğini bildirmişlerdir. Carrasco ve ark. (2002) Arjantin süt ürünlerinden izole ettikleri laktik asit bakterilerinin gram (+) ve gram (-) bakterilere etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal etkisinin laktik asit, hidrojen peroksit, asetik asit, hidrojen sülfür, bakteriyosin ya da bakteriyosin benzeri maddelerden meydana geldiği bildirilmiştir (Gilliand, 1990; Lewus ve ark., 1991).

İzolatların gram boyama ve katalaz aktivitesi sonucuna bakıldığında, hepsinin gram (+) katalaz (-) olduğu tespit edilmiştir.

İzolatların farklı sıcaklık koşulları, farklı tuz konsantrasyonları, farklı pH'larda gelişimleri incelenmiştir. İzolatlar düşük ve yüksek sıcaklıklarda gelişim göstermektedir. Bu gelişim izolatların türüne göre ve gelişim koşullarına göre farklılık göstermektedir. Ayrıca izolatların pH 3,9 ve pH 9,6 da gelişimleri incelenmiştir ve izolatların pH değişimlerinde üremelerine göre türleri hakkında yorum yapılabilmektedir. Bazı izolatların yüksek pH seviyelerinde gelişebildiği gözlemlenirken bazılarının gelişmediği belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre Enterokoklar ile Laktokoklar birbirinden ayırt edilebilmiştir. Çünkü laktokoklar yüksek pH değerlerinde gelişim göstermemektedir. Tuz konsantrasyonlarında ki farklılıklar göz önüne alındığı zaman düşük tuz konsantrasyonunda gelişimlerinin daha iyi olduğu tuz konsantrasyonu arttıkça gelişiminin azaldığı görülmüştür (Çizelge 3.2). Bazı izolatların arjininden amonyak oluşturduğu görülmüştür. Buna göre arjininden amonyak oluşumu düşük pH değerlerine sahip asidik ortamlarda mikroorganizmaları çevrenin yaratabileceği zararlardan koruduğu için, önem taşımaktadır (Rollan ve ark., 2003).

Laktik asit bakterilerinin farklı karbon kaynaklarını kullanabildiği ve bu karbon kaynaklarında ekzopolisakkarit üretebildiği daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (van Geel Schutten ve ark., 1998). Bu gelişmeler bakteriden bakteriye farklılık göstermektedir. İzolatlar tüm karbon kaynaklarında az da olsa gelişim gösterebilirken en çok gelişiminin olduğu karbon kaynağı laktoz olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda E60, M80 ve B26 izolatları L.reuteri olarak tanımlanmasına rağmen izolatların farklı kaybon kaynaklarınıkullandıkları belirlenmiştir. B26 ve M80 izolatları karbon kaynağı olarak laktozu, E60 izolatu glikozu kullanmıştır.

Evrensel olarak genotipik sınıflandırmalar daha geçerli ve güvenilir kabul edildiği için çalışmamızda kullanılan izolatların tanımlanmalarında Riboprinter sistem ile yapılan çalışmaların sonuçları dikkate alınmıştır (Tannock, 1999).

Çalışmamızda viskozitesi yüksek olarak seçilen 43 izolatın riboprinter sistemi ile tanımlamaları sonucunda izolatlardan 6 tanesi *Lactobacillus reuteri* (B26, E60, E9761, M11, M80, G20), 2 izolat (B31, 16) *Pediococcus acidilactici*, 2 izolat (D36, G20) *Leuconostoc gelidum*, bir izolatta *Leuconostoc mesenteroides* (92) olarak tespit edilmiştir. Çalışmada 2 izolat *Lactobacillus farciminis* (109.1, 109.2) olarak tanımlanmıştır. 29 izolat ise *Enterococcus faecium* (A84, D2, D11, D17, D18, D21, D30, D31, D34, E65, E79, G22, G36, G37, G38, M13, M17, M25, M38, M40, M64, M74, M78, M83, M96.2, TM18, TM17, 12, 14 Y) ve bir tanesi *Enterococcus faecalis* (M3) olarak tanımlanmıştır.

Enterococcus faecium ve *Enterococcus faecalis* insanlarda ve özellikle süt ürünlerinde en çok rastlanan türler olarak görülmektedir. Bu bakteriler özellikle çeşitli peynirlerde, pastörize sütlerde, inek sütlerinde bulunmakta ve peynirin kalitesinde önemli rol üstlenmektedir. Bir diğer yandan ise Enterokoklar fekal kontaminasyon indikatörü olarak kullanılmakta ve hastane ile ilişkili hastalarda çeşitli enfeksiyonlara yol açtığı bilinmektedir (Jurkovic ve ark., 2007).

Diğer *Lactobacillus* suşları *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus* ve *Lactobacillus rhamnosus*' dur. Ayrıca Martin ve arkadaşları (1984) tarafından yapılan çalışmalarda bazı bakteriyel ekzopolisakkaritlerin, tek başına veya birleşimler halinde çok güçlü yapışkan olarak hareket edebileceği gösterilmiştir, böylece uyku verici özelliği olan ksenobiyotiklerin bağımlılığı ortadan kaldırmaktadır.

İzolatların viskoziteleri 24, 48 ve 72. saatlerde ölçülmüştür. 100 rpm 'deki ölçümlere göre izolatlardan 15 tanesinin (B15, B26, D7, D17, D30, E3, E79, E1246, G20, M13, M29, M38, M64, 16, 14 Y) 24. saatte viskozitesi 1,31-2,21 mPas arasında ve % 23-38 aralığında bulunmuştur, 21 izolatın (A4, A5, A84, D3, D11, D14, D18, E60, E63.1, E9761, G33, G35, G36, G37, M11, M25, M36, M40, TM15, 109.1, 109.2) 48. saatte viskozitesi 1,31-1,78 mPas arasında % 23- 30,8 aralığında bulunmuştur ve 12 izolatın (A96, A109, D16, D20, D27, G20, G32, M3, M17, M80, M96.2, TM18) ise 72. saatte viskozitesinin 1,31-1,92 mPas arasında % 23- 33,1 aralığında olduğu bulunmuştur. Benzer bir çalışmada Fukuda ve ark. (2010) kullandıkları LAB'lerinin MRS besiyeri içeriğinde viskozitelerinin 0,88-1,27 Pa s arasında ve %43-65 aralığında bulmuşlardır. LAB' lerinin üreme

ortamlarında ki karbon kaynaklarının da viskoziteyi etkilediği gösterilmiştir. Alternan ve levanın bulunduğu besi ortamında viskozite değeri düşük olarak bulunmuştur (Leathers ve ark., 2003; Patel ve ark., 2012).

Ekzopolisakkaritlerin miktarı, molekül ağırlığı, yan bağlarının sertliği, yarıçapları ve kimyasal kompozisyonları viskozite üzerinde önemli rol oynamaktadır (Broadbent ve ark., 2001). LAB'lerinin bulunduğu ortamda viskozitenin zamana bağlı olarak artması, yalnızca oluşan polimer miktarına değil polimerin tipi ve laktik asit gibi oluşan metabolik ürünlere de bağlıdır. Hatta ortamdaki polisakkaritlerle kazein ve bakteri hücreleri arası etkileşimler ürünün viskozitesi ve yapının kalınlaşmasına etki etmektedir (Kılıç 2001).

Yapılan bir çalışmada *Lc. lactis ssp. cremonis*'in farklı suşları tarafından üretilen EPS'nin, fermente süt ürünlerinin viskozitesi üzerine etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. İncelemeler sonucunda, pıhtısı parçalanmış fermente süt ürünlerinin viskozitesinin LAB'leri tarafından üretilen EPS'lerin viskozitesine bağlı olduğu ve viskozitesi $1,5 \text{ m}^3/\text{kg}$ 'ın altında olan ekzopolisakkaritlerin, ürünün viskozitesi üzerine herhangi bir etkide bulunmadığı tespit edilmiştir (Ruas-Madiedo ve ark., 2002b).

Viskozite üzerine tekili olan diğer bir faktör ekzopolisakkaritlerin zincir sertliğidir. *Lactobacillus sake* 0-1 suşu tarafından oluşturulan ekzopolisakkaritlerin ksantan gamı ile yaklaşık olarak aynı molekül ağırlığına (6.0×10^6 Da) sahip olmasına rağmen viskozitesi daha yüksektir. Polisakkarit kimyası ve zincir sertliği arasındaki ilişki oldukça karmaşıktır. Bu özelliğin ekzopolisakkaritin kimyasal yapısının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Örneğin b-(1-4) bağlarını içeren monosakkaritlerin, a-(1-4) ve b-(1-3) bağ özelliği gösteren monosakkaritlere kıyasla daha sert zincir yapısına sahip olduğu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra dallanma ve yan gruplar da sertlik üzerine önemli derecede etki etmektedir (Ruas-Madiedo ve ark., 2002a).

Bu izolatların eps üretimi ile hücreyi dış ortamdan koruduğu belirlenmiştir (Ruas-Madiedo ve ark., 2002a).

LAB nin EPS üretimi CRA besi ortamında ve çok kuyucuklu eliza petriyelerinde farklı şekerler kullanılarak belirlenmiştir. CRA agarda EPS üreten koloniler koyu siyah renkli görülürken EPS üretmeyenler açık renkli koloniler

oluşturmaktadır. Test edilen izolatlardan 7 tanesi (A109, B2, E70, E1346, M40, M82.1, M99) hariç diğer izolatların farklı oranlarda EPS üretimi pozitif olarak saptanmıştır. İzolatların 14'ünde EPS üretimi çok az miktarda gözlemlenmiştir. Diğer izolatlarda EPS üretiminin fazla miktarda olduğu tespit edilmiştir (Stingele ve ark., 1996).

Çok kuyucuklu eliza petrilerinde izolatların glikoz, sükroz, fruktoz ve laktoz içeren farklı şeker kaynaklarında EPS üretiminin değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Sükroz ve laktozda EPS üretimi daha yüksek olurken früktoz da daha az sayıda izolatta EPS üretimi görülmüştür. Büyüme koşulları (pH, sıcaklık ve inkübasyon süresi), ve orta bileşimi (karbon, nitrojen kaynakları ve diğer besinler) polimer verimini ve şeker kompozisyonunu etkileyebilir (Looijesteijn ve ark., 2000; Torino ve ark., 2000; Grobber ve ark., 2000).

Yüksek EPS üretimi olan 10 izolat (E60, M96.2, G37, 109.1, G36, M80, B26, B31, G38, M78) seçilerek EPS üretimi için en uygun karbon ve azot kaynakları ve optimum üreme süreleri belirlenmiştir. Bu amaçla glikoz, laktoz, sükroz, fruktoz olmak üzere 5 farklı karbon kaynağı ile pepton, et ekstraktı, maya ekstraktı, cizamino asit ve yeast nitrojen base (maya azot bazı) olmak üzere 5 farklı azot kaynağı kullanılarak EPS miktarları belirlenmiştir. *L.reuteri*-E60 izolatu karbon kaynağı olarak glikoz, azot kaynağı olarak et ekstraktını içeren besi ortamında 48 saatte en yüksek EPS' yi elde etmiştir (49,04 mg/L). *Enterococcus faecium*-M96.2 izolatu karbon kaynağı olarak laktoz, azot kaynağı olarak maya ekstraktı içeren besi ortamında 24 saatte en yüksek EPS' yi elde etmiştir (47,634 mg/L). *Enterococcus faecium*-G37 izolatu en yüksek EPS değeri (48,068 mg/L) karbon kaynağı olarak laktoz, azot kaynağı olarak maya ekstraktının bulunduğu besi ortamında 48 saatte elde edilmiştir. *Lactobacillus farciminis*-109.1 izolatu karbon kaynağı olarak glikoz, azot kaynağı olarak et ekstraktı içeren besi ortamında 48 saatte en yüksek EPS miktarını (48,068mg/L) elde etmiştir. *Enterococcus faecium*-G36 izolatu karbon kaynağı olarak laktoz, azot kaynağı olarak pepton içeren besi ortamında 72 saatte en yüksek EPS değerini (46,054 mg/L) elde etmiştir. *Lactobacillus reuteri*-B26 izolatu en yüksek EPS değerini (47,738mg/L) karbon kaynağı olarak laktoz, azot kaynağı olarak et ekstraktı içeren besi ortamında 72 saatte elde etmiştir. *Pediococcus acidilactici*-B31 izolatu

karbon kaynağı olarak glikoz, azot kaynağı olarak pepton içeren besi ortamında 24 saatte en yüksek EPS miktarını (45,689mg/L) elde etmiştir. *Enterococcus faecium*-G38 izolatu karbon kaynağı olarak laktoz, azot kaynağı olarak maya ekstraktı içeren besi ortamında 24 saatte en yüksek EPS miktarını (45,481mg/L) elde etmiştir. *Enterococcus faecium*-M78 izolatu karbon kaynağı olarak laktoz, azot kaynağı olarak maya ekstraktı içeren besi ortamında 24 saatte en yüksek EPS miktarını (44,769mg/L) elde etmiştir. Bu konuya benzer yapılan bir çalışmada en yüksek EPS miktarı *S.thermophilus* için 50-350 mg/L, *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* için 60-150mg/L, *L. lactis subsp. cremoris* için 25-600 mg/L ve *Lb. casei* için 50-60 mg/L değerleri arasında rapor edilmiştir (Cerning, 1995).

EPS üretimi türlere hatta izolatlara ve büyüme koşullarına göre değiştiği görülmüştür. Bu nedenle EPS üretiminde çevresel koşulların optimize edilmesi gerekmektedir. Benzer bulgular Macedo ve ark. (2002a), Velasco ve ark. (2006) tarafından yüksek EPS elde etmek için kültür koşullarının optimize edilmesi gerektiğini bildirmiştir. Burada farklı karbon kaynakları ve azot kaynakları ile mikroorganizmaya göre EPS üretiminin değiştiği vurgulanmaktadır (Aslim ve ark., 2005). EPS sentezi süresince sıcaklık ve karbon/ azot oranı çok önemli faktörler olduğu bildirilmiştir (Duenas ve ark., 2003; Velasco ve ark., 2006). Yapılan bir çok çalışmada LAB'leri tarafından EPS üretiminde ortam kompozisyonunun etkili olduğu rapor edilmiştir (Petry ve ark., 2000).

Belirlenen azot ve karbon kaynaklarına göre izolatlar cevap – yüzey metoduna göre ortam koşullarının optimizasyonu yapılmıştır. İzolatların toplam EPS miktarları fenol-sülfürik asit yöntemine göre hesaplanmıştır.

Benzer bir çalışma sonucunda *L.delbrurckii subsp. bulgaricus* SZ2 tarafından üretilen EPS miktarı $22,9 \pm 4$ ile $74,3 \pm 2$ mg/ L arasında değiştiğini bildirmiştir Ayrıca minimum ve maksimum EPS üretimleri belirlenmiştir. 3 boyutlu şekillerinde EPS seviyesinin bakto-kasiton ve glikoz konsantrasyonlarında 24,5 ile 29,6 g/L arasında yükseldiği bildirilmiştir (Abdi ve ark., 2012).

L. reuteri-B26, *L. reuteri*-E60 ve *L. reuteri*-M80 izolatlarında EPS miktarı sırası ile 53,17 mg/L, 49,07 mg/L ve 46,90 mg/L olarak bulunmuştur. Ancak bu

izolatların optimum sıcaklıkları ile optimum karbon ve azot miktarları birbirinden farklılık göstermektedir. *E.faecium*-G36, *E.faecium*-G37, *E.faecium*-G38, *E.faecium*-M78 ve *E.faecium*-M96.2 larında EPS miktarı sırası ile 46,66 mg/L, 46,94 mg/L, 49,40 mg/L, 53,13 mg/L, 46,97 mg/L olarak bulunmuştur. Ancak bu izolatların optimum sıcaklıkları ile optimum karbon ve azot miktarları birbirinden farklılık göstermektedir. *L.farciminis*-109.1 izolatının EPS miktarı 51,14 mg/L, *P.acidilactici*-B31 izolatının EPS miktarı 49,54 mg/L olarak bulunmuştur.

L. reuteri-B26 izolatu için optimum büyüme sıcaklığı 35 °C iken optimum EPS üretimi 42 °C olarak bulunmuştur. *L. reuteri*-M80 izolatu için optimum büyüme sıcaklığı 25 °C iken 8°C' de en yüksek EPS üretimini sağlamıştır. Abdi ve ark. (2012), maksimum EPS üretiminin optimum gelişme sıcaklığının altında olduğunu bildirmiştir. Bizim çalışmamızda ise *L. reuteri*-M80 izolatu için benzer bulgular söz konusu iken *L. reuteri*-B26 ve *L. reuteri*-E60 izolatları için optimum gelişme sıcaklıkları daha üst bir değer olarak bulunmuştur. Bu farklılığın en önemli nedenlerinden birisi izolat farklılığı olabileceği gibi (Macedo ve ark., 2002a) kullanılan azot ve karbon kaynaklarındanda kaynaklanabilir (Duenas ve ark., 2003; Velasco ve ark., 2006).

Masuko ve ark. (2005) mikrotitre plak ile fenol-sülfürik asit yöntemini kullanarak toplam EPS miktarını belirlemişlerdir. Bu yöntem ile litrede ne kadar EPS üretildiği belirlenmiştir. Macedo ve ark. (2002b). EPS üretiminde karbon/azot oranının önemli olduğunu belirtmiştir. Yaptıkları çalışmada yüksek EPS miktarının sükrozlu besi ortamında olduğunu belirtmişlerdir. Karbon ve azot kaynakları arasındaki optimal dengenin yüksek EPS veriminin elde edilmesinde gerekli olduğu gösterilmiştir. LAB' leri hücre sentezi için azot kaynağına, enerji üretimi için karbon kaynağına bağımlıdır. 20 g glikoz / L içeren modifiye edilmiş aynı MRS ortamı içinde *L. delbrueckii subsp bulgaricus* RR tarafından EPS üretimi için optimum Bacto-casitone konsantrasyonunun 30 g / L olduğu rapor edilmiştir (De Vuyst & Degeest, 1999; Degeest et al., 2001). İstatistiksel bir analiz olan ANOVA farklı varyasyonlar arasında model parametreleri oluşturmaktadır. Buradaki p değeri 0,01'den küçük olduğu zaman test anlamlı olarak yorumlanmaktadır (Kim ve ark., 2003).

Model validasyonu, çeşitli alanlarda yapılan kimyasal ölçümlerin sonucuna dayanılarak karar verilmesini, doğru karar verebilmek için analitik ölçüm sonucunun doğru ve güvenilir (tekrarlanabilir) olmasını sağlamıştır. Bu nedenle metodun ölçüm sonucuna etki eden parametreleri tek tek ölçülerek ölçüm sonucuna etkileri belirlenerek ölçülebilmektedir (Akdağ 2004).

Model validasyonu deneysel parametrelerin doğruluğunu test etmek için yapılmaktadır. Bizim çalışmamızda *L. reuteri*-E60 izolatının toplam EPS miktarı 49,07, model validasyonu sonucunda EPS miktarı 49,023 olarak bulunmuştur. Deneysel parametreler ile model validasyon değerleri birbirine uyum göstermiştir. *E.faecium*-G38 izolatının toplam EPS miktarı 49,04 iken model validasyona göre 47,07 olarak bulunmuştur. Deneysel parametreler ile model validasyonu arasında farklılığın olmasının nedeni karbon ve azot miktarlarında ki değişimlerden ve sıcaklığın daha alt değere indirilmesinden kaynaklanabilir (Duenas ve ark., 2003; Velasco ve ark., 2006). *P.acidilactici*-B31 izolatının toplam EPS miktarı 49,54, model validasyon sonucu 48,35 olarak bulunmuştur ve bu farklılığın sıcaklık değişmesinden kaynaklandığı belirlenmiştir. *E.faecium*-M96.2 izolatının toplam EPS miktarı 46,97, model validasyon sonucu 46,045 olarak hesaplanmış ve her iki değer birbirini ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. *E.faecium*-G37 izolatının validasyon modelinde toplam EPS miktarı 46,378 olarak bulunmuştur ve önceki çalışmanın doğru olduğunu göstermiştir. *L.farciminis*-109.1 izolatının validasyon deneyi sonucunda toplam EPS miktarı 51,14 olarak beklenirken 49,813 olarak bulunmuştur. İki parametre arasında oluşan bu farkın sıcaklık değerinin ve karbon, azot değerlerinin değişmesinden kaynaklanabilir (Cerning 1995). *L.reuteri*-M80 izolatı için validasyon deneyi sonucunda toplam EPS miktarı 46,366 olarak bulunmuştur ve bu değer validasyon sonucunda istenilen değeri vermiştir. *E.faecium*-G36 izolatının validasyon deneyi sonucunda EPS miktarı 46,089 olarak bulunmuş ve sonucun deneysel parametre sonucu ile benzerlik gösterdiği görülmüştür. *L.reuteri*-B26 izolatının validasyon deneyi sonucunda EPS miktarı 50,384 olarak bulunmuş ama beklenen değer ise 53,17 olarak belirlenmiştir. Aralarında oluşan bu farkın sıcaklığın 35 °C'den 42 °C'ye çıkarılmasının etkili olduğu ve yüksek sıcaklıkta bakterinin EPS üretiminin azaldığından kaynaklanabilir. *E.faecium*-M78 izolatı için validasyon deneyi

sonucunda istenen değer 53,13 iken hesaplanan değer 49,192 olarak bulunmuştur. Her iki değer arasında ki bu farkın sıcaklığın 25 °C'den 42 °C'ye yükselmesi ve karbon, azot değerlerinin maksimum değerlerin altında bir değer olan %3,3' e indirilmesinin etkili olduğu düşünülmektedir. Law ve ark. (2001) yaptıkları bir çalışmada izolatların düşük sıcaklık değerlerinde daha yüksek EPS ürettiğini sıcaklık değerinin yükseldikçe EPS veriminin azaldığını bildirmiştir.

DeneySEL parametreler ile model validasyonları arasında benzerliklerin olduğu ve bazı örneklerde farklılıkların olduğu görülmüştür. Oluşan bu farklılıklar optimum koşulların değişmesinden kaynaklanmıştır.

EPS'ler yeni işlevsellikleri ile çok farklı fiziki, kimyasal ve reholoğical özelliklerinden dolayı yeni biyomateryaller gibi hareket ederler ve tekstil, deterjan, yapıştırıcı, mikrobiyal olarak zenginleştirilmiş petrol iyileştirmeleri (NEOR), atık su iyileştirmeleri, dere yatağı temizlemeleri, mayalanma, akarsu işleme sürecinde, kozmetik, eczacılık ve gıda katkı maddesi olarak oldukça geniş alanlarda kullanılmaktadırlar (Yalpani ve Sandford 1987, Becker ve ark. 1998). Gıdalarda katkı maddesi olarak EPS kullanımının başarı ile sonuçlanabilmesi için üreticilerin uygun ortamda, dondurularak ya da kurutularak konsantre hale getirilmiş kültürün stabilizasyonunu, tekrar eldesini ve istenilen ürün eldesini sağlaması zorunludur. EPS üretimi temel olarak straine bağlı olarak gelişmekle birlikte; yüksek seviyelerde EPS üretimi için karbon ve nitrojen kaynakları arasında denge olması gerekmektedir.

Aslim ve ark. (2005), yoğurttan izole ettikleri *L. bulgaricus* ssp. *delbrueckii* B3 suşunun farklı pH' larda (pH 4-7) EPS üretimlerini araştırmışlar ve maximum EPS üretiminin pH 7,0' de (211 mg/L) olduğunu bildirmişlerdir.

Vijayendra ve ark. (2008) Hint geleneksel fermente süt ürünlerinden izole edilen Laktik asit bakterilerinde ekzopolisakkarit aktivitesini araştırmıştır. Ekzopolisakkarit aktivitesine sahip olan izolatların morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testler ile *Leuconostoc* sp. *CFR 2181* olduğunu belirlemişlerdir.

Kanmani ve ark. (2011) bir deniz straini olan *Streptococcus phocae* den yeni EPS' nin sentezi ile ilgili çalışma yapmışlardır. Bu suşun gelişimi için optimum koşullar 35 ° C, pH 7.0 ve NaCl (% 2) en iyi karbon ve azot kaynağı olarak laktoz ve maya özü olarak belirlenmiştir. EPS 2.8×10^5 Da moleküler kütleyle sahip

arabinoz, fruktoz ve galaktoz şeker birimleri varlığında fenil sepharose kolon kullanılarak jel filtrasyon kromatografisi ile saflaştırılmıştır.

Bakteriyel ekzopolisakkarit uygulamaları sanayi (tekstil, süt, kozmetik, vb), sağlık (tıp ve eczacılık) ve çevre (iyileştirme, flokülasyon vb) gibi alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca ekzopolisakkaritler flokülasyon sürecindeki uygulama sağlığın geliştirilmesi ve özellikle belediye, atık su arıtma süreçlerinde çevre dostu kullanım için önemli bir kilometre taşı olacaktır. Su arıtma tesisleri içinde süspansiyon halinde partiküllerin flokülasyonlarına, alüminyum sülfat ve poli-alüminyum klorür ve poliakrilamid türevlerinin organik sentetik polimerler ve polietilen imin gibi alüminyum inorganik tuzların kullanımını uygulanmıştır. Bu flokülantlar Alzheimer hastalığı ve karsinojenik gibi nörotoksisite gösteren olumsuz sağlık etkilerinde güvenli bir alternatif ihtiyaç göstermektedir. Bu görev, bazı bakteriyel ürünlerin (ekzopolisakkaritler ve diğer biyopolimerlerin) flokülant özelliklerinin araştırılmasında itici güç olmuştur. Cosa ve arkadaşları (2011), Piyo ve arkadaşları (2011), Mabinya ve arkadaşları (2012) tarafından tatlı su ve deniz suyundan izole edilen *Virgibacillus sp. rob*, *Bacillus sp. gilbert* ve *Arthrobacter sp. raats*'ın yüksek flokülasyon verimliliğine aracılık ettiği bildirilmiştir. *Virgibacillus sp. rob* ve *Bacillus sp. gilbert*' in flokülasyon aracı biyopolimerlerin parçacıkları temelde karbohidrattan oluşurken, *Arthrobacter sp. raats* yaklaşık %25 polisakkarit içeriği göstermektedir. Bu bulgular bakteri ekzopolisakkaritlerinin etkili flokülasyonlarını, su ve atık su için büyük ölçekli endüstriyel işlemlerde uygulanabilirliğini göstermiştir.

Biyofilm özelliği gösteren EPS'ler bakteriyi deterjanlara ve antibiyotiklere karşı dirençli hale getirirler (Wolfaardt ve ark., 1994; Krylova ve ark., 2000). Yine biyofilm bakteriyi yalnızca dış ortamdan koruyarak yaşayabilmesi için değil aynı zamanda genetik özelliklerinin korunmasında ve genetik bilgi değişiminde de daha iyi ortamlar hazırlamaktadır (Moller, 1998). Biyofilm oluşumu şeker kaynağına göre farklılık göstermektedir. LAB'lerinin EPS üretim aktivitelerinin farklı şeker kaynaklarında ki sonuçları yapılan deneylerle belirlenmiştir.(Çizelge 3.5)

Biyofilmler, bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri polimerik yapıda jelsi bir tabaka içinde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu topluluk olarak

tanımlanabilir. Bu jelsi tabaka, bakteri hücreleri tarafından üretilen terminolojide “hücre dışı polimerik yapı”, “ekzopolisakkarit” ya da “ekzopolimer (EPS)” adı verilen polisakkarit bazlı bir ağ yapısıdır (Leone ve ark. , 2006). Biyofilmler bakterileri nem, ısı ve pH değişiklikleri gibi çevresel koşullardaki değişimlerin ve ultraviyole ışığa maruz kalmanın doğuracağı zararlardan korur (Çiftçi, 2005).

Yapılan deneyler ve sonuçları göz önüne alındığında optimum EPS miktarları ile en yüksek EPS miktarlarının farklılık gösterebildiği bulunmuştur. Bunun nedeni izolatların farklı olması, kullanılan karbon ve azot değerlerinin farklı olması, sıcaklığın değişmesinden kaynaklandığı bulunmuştur. Sıcaklık değerleri arttıkça izolatların EPS üretim miktarlarının azaldığı görülmüştür. İlerde yapılacak çalışmalar tüm bu parametreler göz önüne alınarak hazırlanabilir. Çalışmamızda kullanılan izolatların EPS üretmeleri başta gıda olmak üzere tüm sanayi kuruluşlarında avantaj sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdi R., Zeinoddin M.S., and Zad S.S. (2012), Efficiency of modified skimmed milk base media to achieve high exopolysaccharide/cell ratios by *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* SZ2 in optimised conditions defined by the Response surface methodology. International Journal of Food Science and Technology; 47, 768–775.
- Adebayo- tayo B.C. and Onilude A.A. (2008), Screening of Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Some Nigerian Fermented Foods for EPS Production. World Applied Sciences Journal 4 (5): 741-747.
- Ahi S. (2011), Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Ekzopolisakkarit (Eps) Üretimi İle Antibiyotik Dirençliliklerinin Araştırılması Yüksek Lisans Tezi Biyoloji Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Ekim, Ankara.
- Akalın S., Gonc S. ve Senderya S. (2000), “Probiyotik süt ürünleri ve probiyotikler,” VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu (Ed: Demirci, M.), Tekirdağ, 29-35.
- Akçelik M. ve Ayhan K. (1988), Laktik Asit Bakterilerinin Tedavi Edici Rolü Biyoteknoloji Haber Bülteni, 2:2-3.
- Akçelik, M., Ayhan, K., Çakır, İ., Doğan, H.B., Gürgün, V., Halkman, A., Kaleli, D., Kuleasan, H., Özkaya, D.F., Tunail, N., Tükel, Ç. (2000), *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Birimi, Ankara, 2. Baskı, 229-275,514-515.
- Akdağ İ. (2004), Metot Validasyonu ve Önemi. UME-Tübitak. www.ume.tubitak.gov.tr
- Akgün S. (1995), Beyaz peynir üretiminde *Lactobacillus sake*'nin starter kültür olarak kullanılması. Ank. Üniv. Vet. Fak. Dergi, 42: 271-279.
- Aktan N., Kalkan H. ve Yücel U. (1999), Turşu Teknolojisi. Ege Üniversitesi Ege Meslek Yüksek Okulu Yayınları No:23, 148 s, İzmir.
- Alan D., Welman and Ian S.M. (2003), Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: perspectives and challenges. TRENDS in Biotechnology Vol.21 No.6.



- Almiron-Roig E., Mulholland F., Gasson M. J., & Griffin A. M. (2000), The complete cps gene cluster from *Streptococcus thermophilus* NCFB 2393 involved in the biosynthesis of a new exopolysaccharide. *Microbiology*, 146, 2793–2802.
- Alperden İ. (1993), Et ve su ürünleri mikrobiyolojisi. Gıda Sanayiinde Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Marmara Araştırma Merkezi Gıda ve Soğutma Teknolojileri Bölümü Yayın No:124, s101, Kocaeli.
- Altuğ B. (2013), Laktik Asit Bakterilerinden Elde Edilen Ekzopolisakkaritlerin (EPS) Memeli Kültür Hücrelerinde Biyolojik Aktivitesinin İncelenmesi. Anadolu Üniversitesi İleri Teknolojiler Anabilim Dalı Biyoteknoloji Yüksek Lisans Tezi.
- Amatayakul T., Halmos A.L., Sherkat F., Shah N.P. (2006), Physical characteristics of yoghurts made using exopolysaccharide-producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. *Int Dairy J*;16:40–51.
- Angula L., Lopez E. and Lema C. (1993), Microflora present in kefir grains of the Galician Region (North-West of Spain), *J. Dairy Research*, 60, 263-267.
- Anon (2009), Criterionlactobacilli MRS Broth [http:// www.hardydiagnostics.com/catalog2/hugo/CRITNLactobacilliMRSBroth.html](http://www.hardydiagnostics.com/catalog2/hugo/CRITNLactobacilliMRSBroth.html) (Erişim; 11 Mayıs)
- Anonymous (2010), [http:// www.food.hacettepe.edu.tr/turkish/ouyeleri /gmu809/enzim%20 ve %20 mikroorganizma. Pdf](http://www.food.hacettepe.edu.tr/turkish/ouyeleri/gmu809/enzim%20ve%20mikroorganizma.Pdf)
- Arda M., Minbay A., Leloğlu N., Aydın N. ve Akay O. (1992), Özel Mikrobiyoloji, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Yay., No: 741.
- Arıcı M. (2005), ‘Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Çoğalması Üzerine Patulinin Etkisi,’ *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2 (1), 36–43.
- Asköld E., Svebsson M., Grage H., Roos S., Radström P., van Niel Ed.W.J. (2007), Environmental influences on exopolysaccharide formation in *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730. *International Journal of Food Microbiology* 116; 159–167.
- Badel S., Bernardi T., Michaud P. (2011), New perspectives for Lactobacilli exopolysaccharides. *Biotechnology Advances* 29,54–66.

- Balows, A., Trüper, H.G., Dworkin, M., Harder, W., Schleifer, K.H. (1992), *The Prokaryotes, A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications*, Volume II, Springer-Verlag, New York, 1483-1581.
- Barath A., Corsetti A., Halasz A. and Gelencser E. (1999), New aspect for selection criteria of lactic acid starter cultures, in: Proceedings of Euro Food Chemistry X., 22-24 September, Budapest, Hungary, FECS-Event No:234, Vol. 1, pp. 37-45.
- Barefoot, S.F. ve Klaenhammer, T.R. (1983), "Detection and activity of lactacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*," *Appl. Environ. Microbiol.*, **45**, 1808-1815.
- Bauer G. (2001), "Lactobacilli-mediated control of vaginal cancer through specific reactive oxygen species interaction," *Med. Hypotheses*, *57* (2),252–257.
- Becker A., Katzen F., Pühler A., and Ielpie L. (1998), Xanthan Gum Biosynthesis and Application: a Biochemical/Genetic Perspective, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, *50*, 145-152.
- Bergmaier D., Lacroix C., Macedo M. G., and Champagne P. (2001), New method for exopolysaccharide determination in culture Broth using stirred ultrafiltration cells. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* *57*:401–406.
- Bills D.D., Yang C.S., Morgan M.E. and Bodyfelt F.W. (1972), Effect of sucrose on the production of acetaldehyde and acids by Yogurt culture bacteria, *J. Dairy Scien.*, *55*(11), 1570-1573.
- Boels I.C., van Kranenburg R., Hugenholtz J., Kleerebezem M., de Vos W.M. (2001b), Sugar catabolism and its impact on the biosynthesis and engineering of exopolysaccharides production in lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.* *11*, 723–732.
- Bouzar F., Cerning J., Desmazeaud M. (1996), 'Exopolysaccharide Production in Milk by *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* CNRZ 1187 and by Two Kolonial Variants,' *Journal of Dairy Science*, **79** (2), 205–211.

- Bouzar F., Cerning J., Desmazeaud M. (1997), Exopolysaccharide production and texture-promoting abilities of mixed-strain starter cultures in yogurt production. *J Dairy Sci*;80:2310–7.
- Bozkurt O. ve Gürbüz O. (2008), Comparison of lactic acid contents between dried and frozen tarhana. *Food Chemistry*, 108, 198–204.
- Böke H. (2005), “*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* türüne ait suşların bazı probiyotik özelliklerinin belirlenmesi ve tutuklamanın bu özellikler üzerine etkisi” Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 4-52.
- Broadbent J.R., McMahon D.J., Oberg C.J. and Welker D.L. (2001), Use of exopolysaccharide-producing cultures to improve the functionality of low fat cheese. *International Dairy journal*, 11: 433-439.
- Broadbent J.R., McMahon D.J., Welker D.L., Oberg C.J., Moineau S. (2003), Biochemistry, genetics, and applications of exopolysaccharides production in *Streptococcus thermophilus*: a review. *J. Dairy Sci.* 86, 407–423.
- Brull L.P., Samuelsen, A. B., Cohen, E. H., Paulsen, B. S., Thomas-Oates, J. E. (1999), *Carbohydr. Res.*, 315, 312–318.
- Calazans G. M. T., Lopes C. E., Lima R. M. O. C., de Franc F.P. (1997), Antitumor Activities of Levans Produced by *Zymomonas mobilis* Strains, *Biotechnol Lett*, 19, 19-21.
- Calvo C., Martínez-Checa F., Toledo F., Porcel J., Quesada E. (2002), Characteristics of bioemulsifiers synthesised in crude oil media by *Halomonas eurihalina* and their effectiveness in the isolation of bacteria able to grow in the presence of hydrocarbons. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 60, 347-351.
- Canan E., Bige, Neslihan Ö. Utku Tamer C.E., Karaman B., Aydoğan N., Çopur Ö.U. (2004), Bazı geleneksel fermente gıdalarımız ve sağlık üzerindeki etkileri. *Geleneksel Gıdalar Sempozyumu*, 23-24 Eylül, Van.
- Canbaş A. ve Deryaoğlu A. (1993), Şalgam Suyunun Üretim Tekniği ve Bileşimi Üzerinde Bir Araştırma. *Doğa-Turkish Journal of Agricultural and Forestry*, 17:119-129.

- Carrasco, N.S., Scarinci H.E. ve Simonetta, A.C. (2002), “Antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from Argentinan dairy products,” *Australian J. of Dairy Technol.*, **57** (1),15-19.
- Casas, I.A.,Dobrogosz, J. (2000), Validation of the probiotic concept: *Lactobacillus reuteri* confers broad-spectrum protection against disease in humans and animals. *Microb. Ecol. Health Dis.* 12, 247–285.
- Cerning J., Bouillanne M., Desmazeaud M., Landon M. (1986), Isolation and characterization of exocellular polysaccharides by *Lactobacillus bu/garicus*. *Biotechno/vLett* 8, 625-628.
- Cerning J. (1990), Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 87, 113–130.
- Cerning J. (1994), Polysaccharides exocellulaires produits par les bacteries lactiques. In H. de Roissart, & F. M. Luquet, *Bacteries Lactiques. Aspects Fondamentaux et Technologiques.*, Vol. I (pp (pp. 309–329). France: Lorica
- Cerning, J. (1995), Production of exopolysaccharides by lactic acid bacteria and dairy propionibacteria. *Lait*, 75, 463–472.
- Chabot S., Yu H.L., De Léséleuc L., et al. (2001), Exopolysaccharides from *Lactobacillus rhamnosus* RW-9595M stimulate TNF, IL-6 and IL-12 in human and mouse culture immunocompetent cells, and INF- α in mouse splenocytes. *Lait* 81, 683–697.
- Champagne C.P., Gardner N.J., Lacroix C. (2007), ‘Fermentation Technologies for the production of exopolysaccharide synthesizing *Lactobacillus rhamnosus* concentrated cultures,’ *Journal of Biotechnology*, **10** (2), 211–220.
- Christensen M.D. ve Pederson C.S. (1958), ‘Factors Affecting Diacetyl Production by Lactic Acid Bacteria,’ *Applied and Environmental Microbiology*, **6** (5); 319–322.
- Cieslewicz M. J., Kasper D. L., Wang Y., & Wessels M. R. (2001), Functional analysis in type Ia group B Streptococcus of a cluster of genes involved in extracellular polysaccharide production by diverse species of Streptococci. *Journal of Biological Chemistry*, 276, 139–146.

- Cobb B.A., Kasper D.L. (2005), Coming of age: carbohydrates and immunity. *Eur. J. Immunol.* 35, 352–356.
- Costerton J. W., Lewandowski Z., DeBeer D., Caldwell D., Korber D., and James G. (1994), Biofilms the Customized Microniche, *J. Bacteriol.* 176, 2137–2142.
- Çetin E.T. (1983), Endüstriyel Mikrobiyoloji, İst. Tıp Fak. Vakfı Yayını, 418s.
- Çotuk A., Anđ-Küçüker M. (1992), Biyologlar için Mikrobiyoloji Laboratuar Kılavuzu, İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 127–128.
- Daeschel M.A. (1989), Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives, *Food Technol.*, January, 164-167.
- De Vos W. M. (1996), Metabolic engineering of sugar catabolism in lactic acidbacteri a. *Antonie van Leeuwenhoek*, 70, 223–242.
- De Vuyst L., Degeest B. (1999), Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 23:153–177
- De Vuyst L., De Vin F., Vaningelgem F., Degeest B. (2001), Recent developments in the biosynthesis and applications of heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *Int Dairy J* 11:687–707 .
- De Vuyst L., De Vin F., Kamerling JP. (2007), Exopolysaccharides from lactic acid bacteria. In: Kamerling JP, editor. *Comprehensive Glycoscience*, Vol. 2. Oxford: Elsevier;. p. 477–518.
- Degeest B., & De Vuyst L. (2000), Correlation of activities of the enzymes a-phosphoglucomutase, UDP-Galactose 4-epimerase, and UDP-Glucose pyrophosphorylase with exopolysaccharide biosynthesis by *Streptococcus thermophilus* LY03. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 3519–3527.
- Dijkshoorn L. (2000), Strain, clone and species: comments on three basic concepts of bacteriology, *J. of Medical Microbiol.*, 49, 397-401.
- Dinçer E., Kıvanç M. ve Karaca H. (2010), Biyokoruyucu Olarak Laktik Asit Bakterileri ve Bakteriyosinler. *GIDA* (2010): GD08059.

- Doco T., Fournet B., Carcano D., Ramos P., Loones A. (1990), Structure of an exocellular polysaccharide produced by *Streptococcus thermophilus*. CarbohydrRes. 198: 313-321.
- Doco T., Wieruszkeski J. M., Fournet B., Carcano D., Ramos P., and Loones A. (1990), Structure of an exocellular polysaccharide produced by *Streptococcus thermophilus*. Carbohydr. Res. 198:313–321.
- Domann E., Hain T., Ghai R., Billion A., Kuenne C., Zimmermann K., Chakraborty T. (2007), Comparative genomic analysis for the presence of potential enterococcal virulence factors in the probiotic *Enterococcus faecalis* strain Symbioflor 1 International Journal of Medical Microbiology, 297, pp. 533–539.
- Drinan D.F., Tobin S. and Cogan T.M. (1976), Citric acid metabolism in hetero and homofermentative lactic acid bacteria, Appl. Envir. Microbiol., 31(4), 481-486.
- Duboc P. and Mollet B. (2001), Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. International Dairy journal, 11: 759-768.
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. (1956), Colorimetric method for determination of sugars and related substances, Anal. Chem. 28. 350–356.
- Duenas, M., Munduate, A., Perea, A. & Irastorza, A. (2003), Exopolysaccharide production by *Pediococcus damnosus* 2.6 in a semidefined medium under different growth conditions. International Journal of Food Microbiology, 87, 113–120.
- Ehrmann M.A. and Vogel R.F. (2005), Molecular taxonomy and genetics of sourdough lactic acid bacteria, Food Sci. and Techn., 20, 1-12.
- Erkmen O. (2000), Basic Methods for The Microbiological Analysis of Foods, University of Gaziantep, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, 202-204.
- Erol İ., Çalık H., Şireli U.T. and Özdemir H. (1999), Effect of bacteriocinogenic starter cultures on the growth of *Listeria monocytogenes* in Turkish fermented sausage (sucuk). Turk. J. Vet. Anim. Sci. 23, 793–802.

- Escalante A., Wachter-Rodarte C., Garcia-Garibay M., & Farrles A. (1998), Enzymes involved in carbohydrate metabolism and their role on exopolysaccharide production in *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Applied Microbiology*, 84, 108–114.
- Falsen E. (1999), Phenotyping and phylogenetic characterization of a novel *Lactobacillus* species from human sources: description of *Lactobacillus iners* sp. nov., *Int. J. of Syst. Bacteriol.*, 49, 217-221.
- Foulquie Moreno MR, Sarantinopoulos P, Tsakalidou E, De Vuyst L. (2006), The role and application of enterococci in food and health. Review. *Int J Food Microbiol*, 106, 1 – 24.
- Forsén R., Heiska E., Herva E., Arvilommi H. (1987), Immunobiological effect of *Streptococcus cremoris* from cultured milk “viili”; application of human lymphocyte culture techniques. *Int. J. Food Microbiol.* 5, 41–47.
- Franciosi E., Settanni L., Cavazza A., Poznanski E. (2009), Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. *Int. Dairy J.*, 19, 3-11.
- Freitas F., Alves V.D., Reis M.A.M. (2011), “Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to biotechnological applications”, *Cell Press*, in press.
- Frengova Gl., Simova E.D., Beshkova D.M. and Simov Z.I. (2002), Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria of kefir grains. *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung*, 57; 805-810.
- Funda E.G., Kıvanç M. (2009), Ülkemizde Tüketilen Tarhanaların Mikrobiyolojik ve Bazı Kimyasal Özelliklerinin incelenmesi. II. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu (27-29 Mayıs, Van) 630-636.
- Fung D.Y.C., Miller R.D. (1970), Rapid Procedure for the Detection of Acid and Gas Production by Bacterial Cultures. *Appl Microbiol* 20(3): 527-528.
- Gancel F., Novel G. (1994), “Exopolysaccharide production by *Streptococcus thermophilus* cultures: 2. Distinct modes of polymer production and degradation among clonal variants”, *J. Dairy Sci.*, 77: 689- 695.
- Geisen R., Lucke K.K. ve Krockel L. (1992), “Starter and protective cultures for meat and meat products,” *Fleischwirtsch.*, 72 (6), 894-898.

- Gerasi E., Litopoulou-Tzanetaki E., Tzanetakis N. (2003), Microbiological study of Manura, a Hard Cheese Made From Raw Ovine Milk in the Grek Island Sifnos. *Int. J. Dairy Technol.* 56 (2): 117-122.
- Giraffa, G., Carminati, D. and Torri Tarelli, G. (1995a), Inhibition of *Listeria innocua* in milk by bacteriocin-producing *Enterococcus faecium* 7C5. *J. Food Prof.* (in press).
- Giraffa, G., Picchioni, N., Neviani, E. and Carminati, D. (1995b), Production and stability of an *Enterococcus faecium* bacteriocin during Taleggio cheesemaking and ripening. *Food Microbiol.* 12, 301-307.
- Giraffa G., Andrighetto C., Antonella C., Gatti M., Lazzi C., Marcazzan G., Lombardi, A., Neviani E. (2004), Genotypic and Phenotypic Diversity of *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* Strains of Dairy origin. *Int. J. Food Microbiol.* 91: 129-139.
- González, L., Sandoval, H., Sacristán, N., Castro, J.M., Fresno, J.M., Tornadijo, M.E. (2007), 'Identification of lactic acid bacteria isolated from Genestoso cheese throughout ripening and study of their antimicrobial activity,' *Food Control*, 18, 716–722.
- Griffin A. M., Morris V. J., & Gasson M. J. (1996), The cpsABCDE genes involved in polysaccharide production in *Streptococcus salivarius* ssp. thermophilus strain NCBF 2393. *Gene*, 183, 23–27.
- Grobben G. J., Boels I. C., Sikkema J., Smith M. R., & de Bont J. A. M. (2000), Influence of ions on growth and production of exopolysaccharides by *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* NCFB 2772. *Journal of Dairy Research*, 67, 131–135.
- Gugliandola C., Maugeri TL., Cacamo D., Stackebrandt E. (2003), *Bacillusaeolius* sp. Nov a Novel Thermophilic, Halophilic Marine Bacillus Species from Eolian Islands (Italy), *Systematic and Applied Microbiology*, 26/2, 172-176.
- Gürsoy O. ve Kınık O. (2005), "Laktobasiller ve probiyotik peynir üretiminde kullanım potansiyelleri," *Muh. Bil., Derg.*, 11 (3), 361–371.
- Halkman K. (1991), *Tarım Mikrobiyolojisi*, A.Ü. Ziraat Fak. Yayınları, No:1214, 82s., Ankara.

- Hansen B.V., Houlberg U., Ardö Y. (2001), Transamination of Branched-chain Amino Acids by a Cheese Related *Lactobacillus paracasei* strain. Int. Dairy J. 11: 225-233.
- Higashimura M., Mulder-Bosman B. W., Reich R., Iwasaki T., and Robjin G. W. (2000), Solution properties of Viilian, the exopolysaccharide from *Lactococcus lactis subsp. cremoris* SBT 0495. Biopolymers 54,143–158.
- Hofvendahl K, Hahn-Hägerdal B. (2000), Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. Enzyme Microb Technol, 26: 87–107.
- Holo, H., Nilssen, O. ve Nes I.F. (1991), “Lactococcin A, a new bacteriocin from *Lactococcus lactis subsp. cremoris*: isolation and characterization of the protein and its gene,” *J. Bacteriol.*, **173**, 3879-3887.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H., Staley, J.T., Williams, S.T. (2000), *Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 527-567.
- Holzapfel W.H., Haberer P., Geisen R., Björkroth J., Schillinger U. (2007), The American Society for Nutr., *J. Nutr.*, 137, 838S-846S.
- Hosono A., Lee J.W., Ametani A., et al. (1997), Characterization of a water-soluble polysaccharide fraction with immunopotentiating activity from *Bifidobacterium adolescentis* M101-4. Biosci. Biotechnol. Biochem. 61, 312–316.
- Huang Y., Wang X.J., Wang J.F., Wu F., Sui Y.J., Yang L.F., Wang Z.G. (2013), *Journal of Dairy Science* 96, 2746–2753.
- Hughenoltz J., & Kleerebezem M. (1999), Metabolic engineering of lactic acidbacteria: Overview of the approaches and results of pathway rerouting involved in food fermentations. *Current Opinion in Biotechnology*, 10, 492–497.
- Hutkins R. W., & Morris H. A. (1987), Carbohydrate metabolism by *Streptococcus thermophilus*: A review. *Journal of Food Protection*, 50, 876–884.
- Hynes E. R., Bergamini C.V., Suarez V. B., Zalazar C. A. (2003), Proteolysis on Reggianito Argentino Cheeses Manufactured With Natural Whey Cultures

and Selected Strains of *Lactobacillus helveticus*. J. Dairy Sci. 86: 3831-3840.

Izquierdo E., Marchioni E., Aoude-Werne D., Hasselmann C., Ennahar S. (2009), Smearing of soft cheese with *Enterococcus faecium* WHE 81, a multi-bacteriocin producer, against *Listeria monocytogenes*. Food Microbiology, 26 pp. 16–20.

İnal T. (1990), Süt ve Süt Ürünleri Hijyen ve Teknolojisi, Final Ofset, İstanbul.

Jolly L., Stingelle F. (2001), Molecular organization and functionality of exopolysaccharide gene clusters in lactic acid bacteria. Int. Dairy J. 11, 733–745.

Jurkovic, D., Krizkova, L., Sojka, M., Takacova, M., Dusinsky, R., Krajcovic, J., Vandamme, P. and Vancanneyt, M. (2007), Genetic diversity of *Enterococcus faecium* isolated from Bryndza cheese. *Int J Food Microbiol* **116**, 82–87.

Kaban G. (2007), Geleneksel olarak üretilen sucuklardan laktik asit bakterileri ile katalaz pozitif kokların izolasyonu-identifikasyonu, üretimde kullanılabilme imkanları ve uçucu bileşikler üzerine etkileri. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, 116 S, Erzurum.

Kanmani P., Satish kumar R., Yuvaraj N., Paari K.A., Pattukumar V., Venkatesan A. (2011), Production and purification of a novel exopolysaccharide from lactic acid bacterium *Streptococcus phocae* PI80 and its functional characteristics activity in vitro. 102.4827-4833.

Kaptan N. (1982), Toplum sağlığında kefirin önemi, TÜBİTAK, Bilim ve Teknik Dergisi, 176 (33), 33-35.

Karagözlü C. (1990), Farklı Isıl İşlem Uygulanmış İnek Sütlerinden Kefir Kültürü ve Tanesi ile Üretilen Kefirlerin Dayanıklılığı ve Nitelikleri Üzerine Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, E. Ü. Fen Bil. Enst. Tarım Ürünleri Tekno., İzmir.

Karahan A.G. ve Çakmakkı M.L. (1996), “Probiyotikler,” Gıda Dergisi, 21 (4),297-302.

- Kenne L., and Lindberg B., in Aspinall G.O., ed. (1983 pp), The Polysaccharides, vol. 2, Academic Press, New York, 287-363.
- Khaled D.K. (1997), Identification and phylogenetic analysis of *Lactobacillus* using multiplex RAPD-PCR, FEMS Microbiol. Lett., 153, 191-197.
- Kılıç S. (2001), *Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:542, 1. Baskı, 451s, İzmir.
- Kıvanç M., Yapıcı E. (2008), Determination of Some Characteristics Lactic Acid Bacteria Isolated From Turkish Kefir. The 123th International Symposium on Microbial Ecology ISME 12 August 17-22 Cairns, Australia.
- Kıvanç M., Yılmaz M., Çakır E. (2011), Isolation and identification of lactic acid bacteria from boza, and their microbial activity against several reporter strains. Turk J Biol 35, 313-324.
- Kitazawa H., Toba T., Itoh T., Kumano N., Adachi S., and Yamaguchi T. (1991), Antitumoral Activity of Slime-Forming, Encapsulated *Lactococcus lactis subsp. cremoris* Isolated from Scandinavian Ropy Sour Milk, “viili”., Animal Sci. Technol., 62, 277-283.
- Kitazawa H., Yamaguchi T., Miura M., Saito T., Itoh T. (1993), B-cell mitogen produced by slime-forming, encapsulated *Lactococcus lactis ssp. cremoris* isolated from ropy sour milk. J. Dairy Sci. 76, 1514–1519.
- Kitazawa H., Itoh T., Tomioka Y., Mizugaki M., Yamaguchi T. (1996), Induction of IFN- α and IL-1 α production in macrophages stimulated with phosphopolysaccharide produced by *Lactococcus lactis ssp. cremoris*. Food Microbiol. 31, 99–106.
- Kitazawa H., Harata T., Uemura J., Siato T., Kaneko T., Itoh T. (1998), Phosphate group requirement for mitogenic activation of lymphocytes by an extracellular phosphopolysaccharide from *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*. Int. J. Food Microbiol. 40, 169–175.
- Kleanhammer Y.R. (1988), Bacteriocins of lactic acid bacteria, Biochimie., 70, 337-349.
- Kneifel W. and Mayer H.K. (1991), Vitamin profiles of kefir made from milk of different species, Int. J. Food Scien. and Technol., 26(4), 423-428.

- Kodali V. P, Sen R. (2008), Antioxidant and free radical scavenging activities of an exopolysaccharide from a probiotic bacterium. *Biotechnol. J.* 3: 245-251.
- Kok J. and Venema G. (1988), Genetics of proteinases of lactic acid bacteria, *Biochimie*, 70, 475-488.
- Korakli M., Gänzle M.G., Vogel R.F. (2002), Metabolism by bifidobacteria and lactic acid bacteria of polysaccharides from wheat and rye, and exopolysaccharides produced by *Lactobacillus sanfranciscensis*. *J. Appl. Microbiol.* 92, 958–965.
- Korakli, M., Vogel, R.F. (2006), Structure/function relationship of homopolysaccharides producing glycosyltransferases and therapeutic potential of their synthesised glycans. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 71, 790–803.
- Kumar, A.S., Mody, K. & Jha, B. (2007), Bacterial exopolysaccharides- a perception. *Journal of Basic Microbiology*, 47, 103–117.
- Kurt, S. ve Zorba, Ö. (2005), ‘Bakteriyosinler ve Gıdalarda Kullanım Olanakları,’ *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi* 16 (1), 77–83.
- Kwak H.S., Park S.K. and Kim D.S. (1996), Biostabilization of kefir with a nonlactose-fermenting yeast, *J. Dairy Sci.*, 79(6), 937-942.
- Lamothe G. T. (2000), Molecular Characterization of Exopolysaccharide Biosynthesis by *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*. PhD thesis, L’Universite de Lausanne, Lausanne, Switzerland.
- Law R.A. and Kolstad J. (1983), Proteolytic systems in lactic acid bacteria, *Ant. van Leeuwen.*, 49, 225-245.
- Laws A.P., Marshall V.M. (2001), The relevance of exopolysaccharides to the rheological properties in milk fermented with rropy strains of lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.* 11, 709–721.
- Leathers T.D., Nunnally M.S., Ahlgren J.A., Cote G.L. (2003), Characterization of a novel modified alternan. *Carbohydr Polym* 54:107–113.
- Lee K.S. and Kim D.S. (1986), Microbiological characteristics of kefir cultures, *Korean J. Dairy Sci.*, 8(4), 266-274, Alınmıştır, D.S.A., 1987, 49(6), 3773.
- Lee I.Y., Seo W. T., Kim G. J., Kim M. K., Ahn S. G., Kwon G. S., Park Y. H. (1997), Optimization of Fermentation Conditions for Production of

Exopolysaccharide by *Bacillus polymyxa*, *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 16/2, 71-75.

- Levander F., Svensson M., and Radström P. (2001), Small-scale analysis of exopolysaccharides from *Streptococcus thermophilus* grown in a semi-defined medium. *BMC Microbiology*, 1: 23. Online. Available: <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/1/23>. Accessed Sept. 26.
- Levander F., Svensson M., Radström P. (2002), 'Enhanced Exopolysaccharide Production by Metabolic Engineering of *Streptococcus thermophilus*,' *Applied and Environmental Microbiology*, **68** (2), 784–790.
- Lewus C.B., Kaiser A. ve Montville J.T. (1991), "Inhibition of food-borne bacterial pathogens by bacteriocins from lactic acid bacteria isolated from meat," *Appl. and Environ. Microbiol.*, 57 (6), 1683-1688.
- Lewus C.B. and Montville T.J. (1991), Detection of bacteriocins produced by lactic acid bacteria, *J. Microbiol. Method.*, 13, 145-150.
- Looijesteijn, P. J., I. C. Boels, M. Kleerebezem, and J. Hugenholtz. (1999), Regulation of exopolysaccharide production by *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* by the sugar source. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:5003–5008.
- Looijesteijn P. J., van Casteren W. H. M., Tuinier R., Doeswijk- Voragen C. H. L., & Hugenholtz J. (2000), Influence of different substrate limitations on the yield, composition and molecular mass of exopolysaccharides produced by *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* in continuous cultures. *Journal of Applied Microbiology*, 89, 116–122.
- Low D., Ahigren J.A., Horne D., McMahon D.J., Oberg C.J., Broadbent J.R. (1998), Role of *Streptococcus thermophilus* MR-1C capsular exopolysaccharide in cheese moisture retention. *Applied and Environmental Microbiology*, 2147-2151.
- Macedo, M.C., Lacroix, C. & Champagne, C.P. (2002a), Combined effects of temperature and medium composition on exopolysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* RW-9595M in a whey permeate based medium. *Biotechnology Progress*, 18, 167–173.
- Maeda H., Zhu X., Suzuki S., Suzuki K., Kitamura S. (2004), Structural characterization and biological activities of an exopolysaccharide kefiran produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* WT-2bT. *J. Agric. Food Chem.* 52, 5533–5538.

- Makhzami S., Quénee P., Akary E., Bach C., Aigle M., Delacroix-Buchet A., Ogier J.C., Serror P.(2008), *In situ* gene expression in cheese matrices: Application to a set of enterococcal genes. Volume 75, Issue 3, December, Pages 485–490.
- Makino S., Ikegami S., Kano H., et al. (2006), Immunomodulatory effects of polysaccharides produced by *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* OLL1073R-1. *J. Dairy Sci.* 89, 2873–2881.
- Margaritis A., Pace G.W. (1985), Microbial Polysaccharides. In: Blanch, H.W., Drew, S., Wang, D.I.C., editors, *Comprehensive Biotechnology*, vol. 3. *The Practice of Biotechnology: Current Commodity Products*. Oxford: Pergamon Press,. 1005-1044.
- Marshall V.M., Cowie E.N., Moreton RS. (1995), Analysis and production of two exopolysaccharides from *Lactococcus lactis* subspecies *cremoris* LC330. *J Dairy Res* 62 (in press).
- Martin S.A., Karnovsky M.L., Krueger J.M., Pappenheimer J.R., Biemann K. (1984), Peptidoglycans a promoters of slow-wave sleep. I. Structure of the sleep-promoting factor isolated from human urine. *J. Biol. Chem.*, 259:12659–12662.
- Masuko T., Minami A., Iwasaki N., Majima T., Nishimura S.I., Lee Y.C. (2004), “Carbohydrate analysis by a phenol–sulfuric acid method in microplate format” *Analytical Biochemistry* 339 (2005) 69–72 .
- Masuko T., Minami A., Iwasaki N., Majima T., Nishimura S.I., Lee Y.C. (2005), Carbohydrate analysis by a phenol sulfuric acid method in microplate format, *Analytical Biochemistry* 339 (2005) 69–72.
- Maugeri T.L., Gugliandolo C., Caccamo D., Panico A., Lama L., Gamb A. (2002), Halophilic Thermotolerant Bacillus Isolated from a Marina Hot Spring, *Biotechnology Letters*, 24/7, 515-519
- McSweeney P. L. H. (2004), Biochemistry of Cheese Ripening. *Int. J. Dairy Technol.* 57(2-3): 127-144.
- Merin U. and Rosenthal I. (1986), Production of kefir from UHT milk, *Milchwissens.*, 41(7), 395-396.
- Mitsuoka T. (1992), Intestinal flora and aging. *Nutr. Rev.* 50: 438-446.

- Monsan P.F., Bozonnet S., Albenn, C., Joucla G., Willemot R.M., Rемаud-Simeon M. (2001), Homopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.* 11, 675–685.
- Moriello V.S., Lama L., Poli A., Gugliandolo C., Maugeri TL., Gambacorta A., Nicolaus B. (2003), Production of Exopolysaccharides from a Thermophilic Microorganism Isolated from a Marine Hot Spring in Flegrean Areas, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 30/2, 95-101.
- Mozzi F., Vaningelgem F., Hebert E.M., Van der Meulen R., Moreno M.R.F., Font de Valdez G., Vuyst L. (2006), ‘Diversity of Heteropolysaccharide-Producing Lactic Acid Bacterium Strains and Their Biopolymers,’ *Applied and Environmental Microbiology*, 72 (6), 4431–4435.
- Mumcu Z.N. (1997), Kefirden İzole Edilen Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Metabolik, Antimikrobiyal ve Plazmit DNA’larının İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Nakajima H., Hirota T., Toba T., Itoh T., and Adachi S. (1992), Structure of the extracellular polysaccharide from slime-forming *Lactococcus lactis subsp. cremoris* SBT 0495. *Carbohydr. Res.* 224:245–253.
- Nakajima H., Suzuki Y., Kaizu H., Hirota T. (1992), Cholesterol lowering activity of rofy fermented milk. *J. Food Sci.* 57, 1327–1329.
- Nakajima H., Toba T., Toyoda S. (1995), Enhancement of antigen-specific antibody production by extracellular slime products from slime-forming *Lactococcus lactis subspecies cremoris* SBT 0459 in mice. *Int. J. Food Microbiol.* 25, 153–158.
- Navarini L., Abatangelo A., Bertocchi C., Conti E., Bosco M., and Picotti F. (2001), Isolation and characterization of the exopolysaccharide produced by *Streptococcus thermophilus* Sfi20. *Int. J. Biol. Macromol.* 28:219–226.
- Nishimura-Uemura J., Kitazawa H., Kawai Y., Itoh T., Oda M., Saito T. (2003), Functional alteration of murine macrophages stimulated with extracellular polysaccharides from *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* OLL1073R-1. *Food Microbiol.* 20, 267–273.

- Oda M., Hasegawa H., Komatsu S., Kambe, M., Tsuchiya F. (1983), Anti-tumor polysaccharide from *Lactobacillus sp.* Agric. Biol. Chem. 47, 1623–1625.
- Ogunbanwo, S.T., Sanni, A.I. ve Onilude, A.A. (2003), “Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG 1,” *African J. of Biotechnol.*, 2 (8), 219-227.
- Ophir T., and Gutnick D. L. (1994), A Role for Exopolysaccharides in the Protection of Microorganisms from Desiccation, *Appl. Environ. Microbiol.*, 60, 740-745.
- Kaban H. (1999), Türk fermente sucuğunun florasındaki dominant laktobasil türlerinin sucuğun organoleptik nitelikleri ile ilişkisi. Ankara Üni. Vet Fak Dergi, 46, 189-198.
- Özhan N. (2000), Şalgam Suyunda *Escherichia coli*'nin Yaşama Süresinin Bulunması, (Yüksek Lisans Tezi), Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 47 s.
- Papamanoli E., Tzanetakis N., Litopoulou-Tzanetaki E. ve Kotzekidou P. (2003), “Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Grek dryfermented sausage in respect of their technological and probiotic properties,” *Meat Sci.*, 65, 859-867.
- Patel S., Majumder A., Goyal A. (2012), Potentials of Exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria. *Indian J Microbiol.*52(1):3–12
- Pederson C. S, Albury M. (1955), Variation among the heterofermentative lactic acid bacteria. *J. Bacteriol.* 70: 702-708.
- Petersen B.L., Dave R.I., McMahon D.J., Oberg C.J. and Broadbent J.R. (2000), Influence of capsular and ropy exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* on mozzarella cheese and cheese whey. *Journal of Dairy science*,83:1952-1956.
- Petry, S., Furlan, S., Waghorne, E., Saulnier, L., Cerning, J. and Maguin, E. (2003), Comparison of the thickening properties of four *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* strains and physicochemical characterization of their exopolysaccharides. *FEMS Microbiology Letters*, 221, 285–291.
- Pool-Zobel B.L. (2005), Inulin-type fructans and reduction in colon cancer risk: review of experimental and human data. *Br J Nutr* 93:73–90.

- Postma PW, Lengeler JW, Jacobson GR. (1993), *Microbiol Rev*;57:543–94.
- Prescott C.S. and Dunn G.C. (1987), *Industrial Microbiology*, Published on Distributors, Delhi, India, pp.882.
- Rademaker J.L.W. and de Bruijn F.J. (2000), Characterization and classification of microbes by rep-PCR genomic fingerprinting and computer-assisted pattern analysis, <http://www.msu.edu.edu/user/debruijn/dna1-4htm>, Nov.
- Raffle E.J *Lancet*, RefiRasic J.Lj. ve Kurmann J.A. (1956), “Yoghurt Scientific Grounds, Technology, Manufacture and Preparations” 1, 2, 206, Denmark.
- Ramesh H. P. and Tharanathan R. N. (2003), Carbohydrates the Renewable Raw Materials of High Biotechnological Value, *Crit. Rev. Biotechnol.*, 23, 149-173.
- Ramos A., Boels I. C., de Vos W. M., & Santos H. (2001), Relationship between glycolysis and exopolysaccharide biosynthesis in *Lactococcus lactis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 33–41.
- Rishi P., Bharrhan S., Singh G., Kaur I.P. (2011), *Life Sciences* 89, 847–853.
- Ruas-Madiedo P., Hugenholtz J., Zoon P. (2002a), An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.* 12, 163–171.
- Ruas-Madiedo P., Hugenholtz J., Zoon P. (2002b), Role of exopolysaccharides produced by *Lactococcus lactis subsp. cremoris* on the viscosity of fermented milks. *International Dairy Journal*, 12: 689-695.
- Ruas-Madiedo P., de los Reyes-Gavilán C.G. (2005), Methods for the screening, isolation and characterization of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *J. Dairy Sci.* 88, 843–856.,
- Ruas-Madiedo P., Gueimonde M., Margolles A., de los Reyes-Gavilán C.G., Salminen S. (2006), Exopolysaccharides produced by probiotic strains modify the adhesion of probiotics and enteropathogens to human intestinal mucus. *J. Food Prot.* 69, 2011–2015.
- Ruas-Madiedo P., Moreno J.A., Salazar N., et al. (2007), Screening of exopolysaccharide-producing *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains

isolated from the human intestinal microbiota. *Appl. Environ. Microbiol.* 13, 4385–4388.

- Ruas-Madiedo P., Abraham A., Mozzi F., de los Reyes-Gavilá C.G. (2008), Functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. In: Mayo, B., López, P., Pérez-Martínez, G. (Eds.), *Molecular Aspects of Lactic Acid Bacteria for Traditional and New Applications*. Research Signpost, Kerala, pp. 137–166.
- Rushing N.B. ve Senn V.J. (1960), ‘Effect of Citric Acid Concentration on the Formation of Diacetyl by Certain Lactic Acid Bacteria,’ *Applied and Environmental Microbiology*, **8** (5): 286–290.
- Salminen S., Lee Y.K. (2009), Characterization of probiotic properties in Bifidobacterium and Lactobacillus strains. *Probiotic microorganisms. Hand book of probiotics and prebiotics* (2nded.). 19–24.
- Sanders M.E, (1999), ‘Probiotics,’ *Food Technology*, **53** (11), 67–77.
- Sartor R.B. (2004), Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: antibiotics, probiotics, and prebiotics. *J Gastroenterol* 126:1620–1633.
- Sebastiani H., & Zelger G. (1998), Texture formation by thermophilic lactic acid bacteria. *Milchwissenschaft*, 53, 15–20.
- Sengül N., Aslın B., Uçar G., et al. (2005), Effects of exopolysaccharides-producing probiotic strains on experimental colitis in rats. *Dis. Colon Rectum*. 49, 250–258.
- Sezginer A. (1980), Kefirin hikayesi, *TÜBİTAK Bilim ve Teknik Dergisi*, 151(13), 37-39.
- Settanni L. and Corsetti A. (2008), Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation. *Int J Food Microbiol*, 121: 123-138.
- Sharpe M.E. (1979), Identification of lactic acid bacteria. In F.A. Skinner & D.W.Lovelock (Eds.), *Identification methods for microbiologists* (pp. 233-259). New York: Academic Pres.
- Shimazu Y., Vehara M. and Watanabe M. (1985), Transformation of citric acid to acetic acid, acetoin and diacetyl by wine making lactic acid bacteria, *Agric. Biol. Chem.*, 49(7), 2147-2157.

- Sjöberg A., & Hahn-Hagerdal B. (1989), Glucose-1-phosphate, a possible mediator for polysaccharide formation in maltoseassimilating *Lactococcus lactis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 55, 1549–1554.
- Skriver A., Roemer H., & Qvist K. B. (1993), Rheological characterization of stirredryoghurt: Viscosimetry. *Journal of Texture Studies*, 24, 185–198.
- Skriver A., Holstborg J., & Qvist K. B. (1999), Relation between sensory texture and rheological properties of stirredryogurt. *Journal of Dairy Research*, 66, 609–618.
- Smit G., Vliek J.H., Smit V.A. ve Ayad E.H.E. (2002), “Fermentative formation of flavour compounds by lactic acid bacterial,” *The Australian J. of Dairy Technol.*, 57 (2), 61-68.
- Speck M.L. (1976), *Compendium Of Methods For The Microbiological Examination Of Foods*, American Public Health Association, Washington,DC, 89.
- Soyyiğit H. (2004), Isparta ve yöresinde üretilen ev yapımı tarhanaların mikrobiyolojik ve teknolojik özellikleri. Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 71 S, Isparta.4.
- Staaf M., Yang Z., Huttunen E., and Widmalm G. (2000), Structural elucidation of the viscous exopolysaccharide produced by *Lactobacillus helveticus* Lb616. *Carbohydr. Res.* 326:113–119.
- Stepanović S., Vuković D., Dakić I., Savić B., Švabić-Vlahović M. (1999), “A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation” *Journal of microbiological methods* 40 (2000) 175-179.
- Stingle F., Neeser R. R., and Mollet B. (1996), Identification and Characterization of the EPS (Exopolysaccharide) Gene Cluster from *Streptococcus thermophilus* Sfi6. *J. Bacteriol*, 178, 1680-1690.
- Stingle, F., Vincent, S. J. F., Faber, E. J., Newell, J. W., Kamerling, J. P., & Neeser, J. R. (1999b), Introduction of the exopolysaccharide gene cluster from *Streptococcus thermophilus* Sfi6 into *Lactococcus lactis* MG1363: Production and characterization of an altered polysaccharide. *Molecular Microbiology*, 32, 1287–1295.

- Sutherland I. W. (1977 pp), Microbial Exopolysaccharide synthesis, In Extracellular Microbiya Polysaccharide (eds Sanford, P. A. and Laskin, A.) Am. Chem. Soc., Washington., 40-57.
- Sutherland I.W. (1990), Biotechnology of Microbial Exopolysaccharides, Cambridge University Press, Cambridge.
- Sutherland I. W. (1998), Novel and Established Applications of Microbial Polysaccharides, *Tıbbtech.*, 38, 41-47.
- Tagg, J.R., McGiven, A.R. (1971), Assay system for bacteriocins. *Appl. Microbiol.* 21, 943.
- Tallon R., Bressollier P., Urdaci M.C. (2003), *Research in Microbiology* 154,705–712.
- Tamer, A.Ü., Uçar, F., Ünver, E., Karaboz, D., Bursalıoğlu, M., Oğultekin, R. (1989), 3. ve 4. Sınıf Mikrobiyoloji Laboratuvar Klavuzu, Anadolu Üniversitesi, Eğitim Sağlık ve Bilimsel Araştırma Çalışmaları Vakfı Yayınları, No. 74, Eskişehir, 23-25, 240.
- Tangüler H. ve Erten H. (2009a), Geleneksel Laktik Asit Fermantasyonu Ürünü Şalgam Suyu ve Üretim Yöntemleri. II. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 27-29 Mayıs, Van, s. 650-654.
- Tannock, G.W. (1999), 'Identification of Lactobacilli and Bifidobacteria,' *Current Issues Molec. Biol.*, 1 (1), 53-64.
- Tavernier P., Portais J. C., Nava Saucedo J. E., Courtois J., Courtois B. and Barbotin J. N. (1997), Exopolysaccharide and Poly-b-Hydroxybutyrate Coproduction in two Rhizobium Meliloti Strains, *Appl. Environ. Microb.*, 63, 21-26.
- Thomas LV. ve Wimpenny JWT. (1996), Investigation of the effect of combined variations in temperature, pH and NaCl concentration on nisin inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. *App Environ Microbiol*, 62: 2006-2012.
- Tieking M., Korakli M., Erhmann M.A., Ganzle M.C. and Vogel R.F. (2002), In Situ Production of Exopolysaccharides during Sourdough Fermentation by Cereal and Intestinal Isolates of Lactic Acid Bacteria. *Lehrstuhl für*

Technische Mikrobiologie, Technische Universita't Mu'nchen, 85350 Freising, Germany.

- Toba T., Nakajima H., Tobitani A., & Adachi S. (1990), Scanning electron microscopic and texture studies on characteristic consistency of Nordic røp sour milk. *International Journal of Food Microbiology*, 11, 313–320.
- Toklu G.S. (1999), "Fermente st rnleri ve probiyotikler," *Gıda Bil. ve Tekn.*, 4 (2), 4-6.
- Topisirovic L., Kojic M., Firad D., Golic N., Strahinic I., Lozo J. (2006), Potential of lactic acid bacteria isolated from specific natural niches in food production and preservation. *Int J Food Microbiol*, 112: 230-235.
- Torino M. I., Sesma F., & de Valdez F. (2000), Semi-defined media for the exopolysaccharide (EPS) production by *Lactobacillus helveticus* ATCC 15807 and evaluation of the components interfering with the EPS quantification. *Milchwissenschaft*, 55, 314–316.
- Tortora G. J. (1991), *Microbiology: An introduction*, The Benjamin Cummings Publishings Company, California, p., 217-276.
- Tsuda H., Hara K., Miyamoto T. (2008), Survival and colonization of orally administered *Lactobacillus plantarum* 301102 in porcine gastrointestinal tract. *Anim. Sci. J.* 7: 274-278.
- Tuinier R., Zoon P., Olieman C., Cohen-Stuart M. A., Fler G. J., and Kruif C. G. (1999b), Isolation and physical characterization of an exocellular polysaccharide. *Biopolymers* 49:1–9
- Tunail N. ve Kşker . (1989), *St Mikrobiyolojisi*, A.. Ziraat Fak. Yayınları, No:1116, 138s., Ankara.
- Turantaş F. (1998), *Fermentasyonda Rol Oynayan Mikroorganizmalar*, (nltrk A., ve Turantaş F., editrler), *Gıda Mikrobiyolojisi*, Mengi Tan Basımevi, Çınarlı, İzmir, s. 433-453.
- Typnen (ne Erkkil) S., Markkula A., Petj E., Suihko M.L. and Mattila-Sandholm T. (2003), Survival of *Listeria monocytogenes* in North European type dry sausages fermented by bioprotective meat starter cultures. *Food Control* 14, 181-185.

- Tzianabos A.O. (2000), Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents: structural aspects and biological functions. *Clin. Microbiol. Rev.* 13, 523–533.
- Urashima T., Ariga H., Saito T., Nakamura T., Tanaka S., and Arai I. (1999), Exocellular polysaccharide produced by *Streptococcus thermophilus*. *Milchwissenschaft* 54:190–193.
- Van Casteren W. H. M., Dijkema C., Schols H. A., Beldman G., and Voragen A. G. J. (1998), Characterisation and modification of the exopolysaccharide produced by *Lactococcus lactis subsp. cremoris* B40. *Carbohydr. Polym.* 37:123–130.
- Van Calsteren M.R., Pau-Roblot C., Begin A., Roy D. (2002), ‘Structure determination of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus rhamnosus* strains RW-9595M and R,’ *Journal of Biochemical Society*, **363**, 7-17.
- Van Geel Schutten GH, Flesh F, Ten Brinck B, Smith MR, Dijkhuizen L. (1998), Screening and characterization of *Lactobacillus* strains producing large amounts of exopolysaccharides. *Appl Biol Biotechnol*;50:697–703.
- Van Geel-Schutten G. H., Faber E. J., Smit E., Bonting K., Smith M. R., Ten Brink B., Kamerling J. P., Vliegenthart J. F. G., & Dijkhuizen L. (1999), Biochemical and structural characterization of the glucan and fructan exopolysaccharides synthesized by the *Lactobacillus reuteri* wild-type strain and by mutant strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 3008–3014.
- Van Hijum, S.A.F.T., Kralj, S., Ozimek, L.K., Dijkhuizen, L., Geel-Schutten, I.G.H. (2006), Structure-function relationships of glucanase and fructanase enzymes from lactic acid bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 70, 157–176.
- Van Kranenburg R., J. D. Marugg., I. I. Van Swam., N. J. Willem, and W. M. de Vos. (1997), Molecular Characterization of the Plasmid-Encoded EPS gene cluster Essential for Exopolysaccharide Biosynthesis in *Lactococcus lactis*. *Mol. Microbiol.*, 24, 387-397.

- Van Kranenburg R., H. R. Vos. I. I., Van Swam, M. Kleerebezem, and W. M. de Vos. (1999a), Functional Analysis of Glycosyltransferase Genes from *Lactococcus lactis* and other Gram-Positive Cocci: Complementation, Expression, and Diversity. *J. Bacteriol.*, 181, 6347-6353.
- Van Kranenburg R., Boels I. C., Kleerebezem M., & de Vos W. M. (1999a), Genetics and engineering of microbial exopolysaccharides for food: Approaches for the production of existing and novel polysaccharides. *Current Opinion in Biotechnology*, 10, 498–504.
- Van Kranenburg R., van Swam I. I., Marugg J. D., Kleerebezem M., & de Vos W. M. (1999b), Exopolysaccharide biosynthesis in *Lactococcus lactis* NIZO B40: Functional analysis of the glycosyltransferase genes involved in synthesis of the polysaccharide backbone. *Journal of Bacteriology*, 181, 338–340.
- Van Kranenburg R., Vos H. R., van Swam I. I., Kleerebezem M., & de Vos W. M. (1999c), Functional analysis of glycosyltransferase genes from *Lactococcus lactis* and other Gram-positive cocci: Complementation, expression and diversity. *Journal of Bacteriology*, 181, 6347–6353.
- Valence F., Deutsch S-M., Richoux R., Gagnaire V., Lortal S. (2000), Autolysis and Related Proteolysis in Swiss Cheese for two *Lactobacillus helveticus* Strains. *J. Dairy Research* 67: 261-271.
- Vancanneyt M., Tsakalidou E., Kalantzopoulos G., Holzapfel W., Dellaglio F., Cogan T., De Vuyst L., Lombardi A., Kerster K. ve Swings J. (2002), “Genotypic characterization of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* strains and correlation with their origin and functional and safety properties,” Presentations: Enterococci in Foods: Functional and Safety Aspects, European Commission Project FAIR-CT97-3078, 30-31 May 2002, Berlin, Germany.
- Vedamuthu E. R., & Neville J. M. (1986), Involvement of a plasmid in production of ropiness (mucoidness) in milk cultures by *Streptococcus cremoris* MS. *Applied and Environmental Microbiology*, 51, 677–682.

- Velasco, S., Arskold, E., Paese, M. et al. (2006). Environmental factors influencing growth of and exopolysaccharide formation by *Pediococcus parvulus* 2.6. *International Journal of Food Microbiology*, 111, 252–258.
- Vijayendra S.V.N., Palanivel G., Mahadevamma S., Tharanathan R.N. (2008), Physico-chemical characterization of an exopolysaccharide produced by a non-ropy strain of *Leuconostoc sp.* CFR 2181 isolated from dahi, an Indian traditional lactic fermented milk product , *Carbohydrate Polymers* 72:300–307.
- Vinderola G., Perdígón G., Duarte J., Farnworth E., Matar, Ch. (2006), Effects of the oral administration of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* on the gut mucosal immunity. *Cytokine* 36, 254–260.
- Visser R., Holzapfel W.H., Bezuidenhout J.J., Kotze J.M. (1986), ‘Antagonism of Lactic Acid Bacteria against Phytopathogenic Bacteria,’ *Applied and Environmental Microbiology*, **52** (3), 552–555.
- Weinrichter B., Sollberger H., Ginzinger W., Jaros D., Rohm H. (2004), Adjunct Starter Properties Affect Characteristic Features of Swiss-type Cheese. *Nahrung* 48 (1): 73-79.
- Weizman, Z., Asli, G., Alshejkh, A. (2005), Effect of a probiotic infant formula on infections in child care centers: comparison of two probiotic agents. *Pediatrics* 115, 5–9.
- Werning M.L., Ibarburu I., Dueñas M.Y., Irastorza A., Navas J., López, P. (2006), *Pediococcus parvulus* *gtf* gene encoding the GTF glycosyltransferase and its application for specific PCR detection of α -d-glucan-producing bacteria in foods and beverages. *J. Food Prot.* 69, 161–169.
- Xu Y., Murray B. E., & Weinstock G. M. (1998), A cluster of genes involved in polysaccharide biosynthesis from *Enterococcus faecalis* OG1RF. *Infection and Immunity*, 66, 4313–4323.
- Yalpani M., Sandford P. A. (1987 p), Commercial Polysaccharides: Recent Trends and Developments. In: Yalpani M., editor, *Industrial Polysaccharides Genetic Engineering, Structure/Property Relations and Applications*. Amsterdam, Elsevier Science Publishers, 311-35.

- Yamamoto Y., Murosaki S., Yamauchi R., Kato K., Sone Y. (1994), Structural study on an exocellular polysaccharide produced by *Lactobacillus helveticus* TY1-2. *Carbohydr Res* 261,67-78.
- Yaman H. (2000), Partial characterisation of lactobacilli isolated from commercial kefir grain, PhD Thesis, Huddersfield University, Huddersfield, UK.
- Yang Z., Huttunen E., Staaf M., Widmalm G., and Tenhu H. (1999), Separation, purification and characterisation of extracellular polysaccharides produced by slime-forming *Lactococcus lactis* spp. *cremoris* strains. *Int. Dairy J.* 9:631–638.
- Yang Z.Y., Xu J., Fu Q., Fu X.L., Shu T., Bi Y.P., Song B. (2013), *Carbohydrate Polymers* 95,615–620.
- Yaygın H. (1981), “Yoğurdun beslenme değeri ve sağlıkla ilgili özellikleri,” *Gıda Derg.*, 6 (5), 17-22.
- Yaygın H., Kılıç S. (1993), *Süt Endüstrisinde Saf Kültür*, Altındağ Matba, İzmir.
- Yetişmeyen A. (1995), *Süt Teknolojisi*, A.Ü. Ziraat Fak Yayınları, No:1420, 229s., Ankara.
- Yıldız S.Y. (2011), *Investigation of Exopolysaccharide Production Capacity of Thermophilic Microorganisms Isolated from Turkey*. Marmara University Institute For Graduate Studies In Pure And Applied Sciences.
- Yiğit T. (2009), *Süt Ve Süt Ürünlerinden Probiyotik Bakterilerinin İzolasyonu ve Tanımlanması*. Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Yoo S.H., Yoon E.J., Cha E., Lee H.G. (2004), Antitumor activity of levan polysaccharides from selected microorganisms. *Int J Biol Macromol* 34:37–41.
- You H.J., Oh D.K., Ji G.E. (2004), Anticarcinogenic effect of a novel chiroinositol-containing polysaccharide from *Bifidobacterium bifidum* BGN4. *FEMS Microbiol. Lett.* 240, 131–136.
- Zhu,W.M., Liu,W., Wu D.Q. (2000), ‘Isolation and characterization of a new bacteriocin from *Lactobacillus gasseri* KT7,’ *Journal of Applied Microbiology*, **88**, 877-886.

Zorba M., Hancioglu O., Genc M., Karapinar M., ve Ova G. (2003), The use of starter cultures in the fermentation of boza, a traditional Turkish beverage. *Process Biochemistry*, 38, 1405-1411.