

Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus ve *Streptococcus thermophilus* SUŞLARININ MELAS, PEYNİR ALTI SUYU VE PANCAR SUYUNDA EKZOPOLİSAKKARİT (EPS) VE LAKTİK ASİT ÜRETİMLERİNİN BELİRLENMESİ

Neslihan YENİEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

EYLÜL 2006
ANKARA

Neslihan YENİEL tarafından hazırlanan *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* SUŞLARININ MELAS, PEYNİR ALTI SUYU VE PANCAR SUYUNDA EKZOPOLİSAKKARİT (EPS) VE LAKTİK ASİT ÜRETİMLERİNİN BELİRLENMESİ adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof .Dr.YAVUZ BEYATLI
Tez Yöneticisi

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

Başkan :Prof Dr.Gönül Dönmez.....

Üye :Prof Dr.Yavuz Beyatlı.....

Üye :Prof Dr.Nurdan Saraçoğlu.....

Üye : Prof Dr.Belma Aslım.....

Üye :Doç.Dr.Nihal Yücel.....

Tarih :12/09/2006

Bu tez, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygundur.

TEZ BİLDİRİMİ

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

Neslihan YENİEL

***Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* SUŞLARININ MELAS, PEYNİR ALTI SUYU VE PANCAR SUYUNDA EKZOPOLİSAKKARİT (EPS) VE LAKTİK ASİT ÜRETİMLERİNİN BELİRLENMESİ**
(Yüksek Lisans Tezi)

Neslihan YENİEL

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Eylül 2006

ÖZET

Bu çalışmada 3 adet *Streptococcus thermophilus* ve 2 adet *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşlarının %1-5 melas, katkısız ve katkılı peyniraltı suyu ve %1-5 pancar suyu gibi ucuz atık maddelerde EPS ve laktik asit üretimlerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Spektrofotometrik yöntem kullanılarak suşların EPS üretimleri tespit edilmiştir. *S. thermophilus* suşlarının belirtilen ortamlarda EPS üretimleri sırasıyla, 65-276 mg/L, 58-122 mg/L, 62-172 mg/L ve 11-160 mg/L arasında bulunmuştur. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşlarının bu ortamlarda EPS üretimleri sırasıyla, 109-290 mg/L, 97-151mg/L, 152-232mg/L ve 12-260mg/L arasında bulunmuştur. *S.thermophilus* suşlarının bu ortamlarda laktik asit üretimleri spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve sırasıyla 4,6-8,8 mg/mL, 5,1-7,9 mg/mL, 5,7-9,6 mg/mL ve 0,7-6,0 mg/mL arasında bulunmuştur. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşlarının bu ortamlarda laktik asit üretimleri sırasıyla, 5,5-10,1 mg/mL, 9,7-15,0 mg/mL, 13,7-15,4 mg/mL ve 0,7-10,4 mg/mL arasında bulunmuştur. Araştırmada melas konsantrasyonun artışına bağlı olarak tüm suşlarda EPS üretimi artarken, laktik asit üretimlerinin azaldığı gözlenmiştir. Çalışmada, peynir altı suyuna katkı maddeler ilave

edildiğinde normal peyniraltı suyuna göre tüm suşların EPS ve laktik asit üretimlerinin arttığı gözlenmiştir. Araştırmada pancar suyu konsantrasyon artışına bağlı olarak tüm suşlarda EPS üretimi artarken, laktik asit üretimlerinin pancar suyu konsantrasyonununa bağlı olmadığı gözlenmiştir.

Bilim Kodu :203-1.023

Anahtar Kelimeler:*Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*,
Streptococcus thermophilus, Laktik Asit,
Ekzopolisakkarit (EPS), Melas, Peyniraltı suyu,
Pancar suyu

Sayfa adedi :79

Tez Yöneticisi :Prof. Dr. Yavuz BEYATLI

**DETERMINATION OF EXOPOLYSACCHARIDE (EPS) AND LACTIC ACID
PRODUCTION in MOLASSES, WHEY AND BEET JUICE BY
Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus* AND *Streptococcus
thermophilus* STRAINS
(M. Sc. Thesis)**

Neslihan YENIEL

**GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
September 2006**

ABSTRACT

In this research, it has been targeted to determine the production of exopolysaccharide (EPS) and lactic acid in 1-5% molasses concentration, whey, whey was supplemented with different substances and 1-5% beet juice by 3 strains of *S. thermophilus* and 2 of *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* strains. Spectrophotometric method were used to determine the EPS production by the strains. The amount of EPS produced by *S. thermophilus* in these mediums were found to be between 65-276 mg/L, 58-122 mg/L, 62-172 mg/L and 11-160 mg/L, respectively. In the same mediums *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* strains produced EPS ranged between 109-290 mg/L, 97-151 mg/L, 152-232 mg/L and 12-260mg/L, respectively. Spectrophotometric method were used to determine the amount of lactic acid produced by the strains. Lactic acid produced by *S. thermophilus* strains in the mediums were found to be between 4,6-8,8 mg/mL, 5,1-7,9 mg/mL, 5,7-9,6 mg/mL and 0,7-6,0 mg/mL, respectively. The amount of lactic acid produced by *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* strains in the mediums

mentioned were ranged between 5,5-10,1 mg/mL, 9,7-15,0 mg/mL, 13,7-15,4 mg/mL and 0,7-10,4 mg/mL respectively. It was observed that EPS production by these strains increased by the increasing the molasses concentration, while lactic acid production were decreased. It was also determined that whey samples supplemented with different substances, EPS and lactic acid production by the strains were increased as comparing with control mediums. While The EPS production by the strains increased by the increasing beet juice concentration. From the results the increasing of beet juice concentration were not effected on Lactic acid productivity of the cultures.

Science code :203-1.023
Keywords :*Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*,
Streptococcus thermophilus, Lactic Acid,
Exopolisaccharide (EPS), Molasses, Whey,
Beet Juice
Page Number :79
Advisor :Prof.Dr.Yavuz BEYATLI

TEŞEKKÜR

2003-2006 yılları arasında Gazi Üniversitesi, Biyoloji Bölümünde Prof. Dr. Yavuz BEYATLI' nın danışmanlığı altında yürütölen bu çalışma yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır. Tez çalışmamın başından sonuna kadar ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, tecrübe ve eşsiz bilgilerinden yararlandığım hocalarım Sn. Prof. Dr. Yavuz BEYATLI' ya ve Prof. Dr. Belma ASLIM' a, laboratuvar çalışmalarında desteklerini, dostluklarını ve yardımlarını esirgemeyen Araş. Gör. Zehra Nur YÜKSEKDAĞ' a ve laboratuvarda çalışan tüm arkadaşlarıma, yüksek lisans eğitimim süresince maddi ve manevi desteğı ile her zaman yanımda olan Annem Fatma YENİEL ile Babam Mehmet YENİEL' e ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiii
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xix
SİMGE VE KISALTMALAR.....	xx
1.GİRİŞ.....	1
2.KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1.Probiyotik Tanımı, Tarihçesi	3
2.2. Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar.....	3
2.3.Probiyotik Mikroorganizma Seçim Kriterleri	4
2.4. Probiyotik Özelliğindeki Laktik Asit Bakterilerinin Genel Özellikleri.....	5
2.4.1.Lactobacillus cinsi bakterilerin genel özellikleri	6
2.4.2. <i>Streptococcus</i> cinsi bakterilerin genel özellikleri.....	7
2.5. Metabolik Aktivite.....	8
2.5.1. Ekzopolisakkaritler.....	8
2.5.2 Ekzopolisakkarit üreten laktik asit bakterileri.....	9
2.5.3. Polisakkaritlerin bileşimi ve yapısı.....	10

	Sayfa
2.5.4. Ekzopolisakkaritlerin önemi ve kullanımı.....	12
2.5.5. Laktik asit.....	13
2.6. Probiyotik Mikroorganizmaların Etki Mekanizması.....	16
2.7. Melas.....	17
2.7.1. Melasın bileşimi.....	18
2.7.2. Melasın değerlendirilmesi.....	19
2.8.3 Yükseltgenme ürünlerinin kullanım alanları.....	22
2.8. Peyniraltı Suyu.....	23
2.8.1. Peyniraltı suyu ürünleri.....	25
2.8.2. Peyniraltı suyu üzerinde yapılan araştırmalardan alınan sonuçlar.....	26
2.8.3. Peyniraltı suyu proteinlerinin değerlendirilmesi.....	27
3. MATERYAL VE METOT.....	28
3.1 Materyal.....	28
3.1.1 Materyal örnekleri.....	28
3.1.2. Bakterilerin aktifleştirilmesi	28
3.1.3. Araştırmada kullanılan besiyortamları.....	29
3.2. Metot.....	30
3.2.1. Bakterilerin muhafazası	30
3.2.2 Melas, peynir altı suyunda ve pancar suyunda EPS üretiminin belirlenmesi.....	30
3.2.3. Laktik asit üretiminin belirlenmesi.....	33

	Sayfa
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	35
4.1. <i>Lactobacillus</i> ve <i>Streptococcus</i> Cinslerine Ait Türlerin Oluşturduğu Metabolik Ürünler	35
4.1.1. Melasta EPS üretiminin belirlenmesi.....	35
4.1.2. Melasta laktik asit üretiminin belirlenmesi	41
4.1.3. Peyniraltı suyunda EPS üretimleri.....	47
4.1.4. Peyniraltı suyunda laktik asit üretiminin belirlenmesi	52
4.1.5. Pancar suyunda EPS üretiminin belirlenmesi.....	57
4.1.5. Pancar suyunda laktik asit üretiminin belirlenmesi.....	62
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	68
KAYNAKLAR.....	74
ÖZGEÇMİŞ.....	79

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar.....	4
Çizelge 2.2. Ekzopolisakkarit üretme yeteneğine sahip laktik asit bakterileri.....	10
Çizelge 2. 3. Peyniraltı suyunun birleşimi.....	25
Çizelge 3.1. Laktik asit bakterilerine ait suşların kodları	28

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Laktik bakterilerde laktoz ve galaktozun homofermentatif metabolizması.....	15
Şekil 4.1. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> B3 suşunun 24. saatte farklı melas konsantrasyonlarındaki canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	36
Şekil 4.2. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> B3 suşunun 48. saatte farklı melas konsantrasyonlarındaki canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	36
Şekil 4.3. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> G12 suşunun 24. saatte farklı melas konsantrasyonlarındaki canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	37
Şekil 4.4. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> G12 suşunun 48. saatte farklı melas konsantrasyonlarındaki canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	37
Şekil 4.5. <i>S. thermophilus</i> W22 suşunun 24. saatte farklı melas konsantrasyonlarındaki canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	38
Şekil 4.6. <i>S. thermophilus</i> W22 suşunun 48. saatte farklı melas konsantrasyonlarındaki canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	38
Şekil 4.7. <i>S. thermophilus</i> T12 suşunun 24. saatte farklı melas konsantrasyonlarındaki canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	39
Şekil 4.8. <i>S. thermophilus</i> T12 suşunun 48. saatte farklı melas konsantrasyonlarındaki canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	39
Şekil 4.9. <i>S. thermophilus</i> T8 suşunun 24. saatte farklı melas konsantrasyonlarındaki canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	40

Şekil	Sayfa
Şekil 4.10. <i>S. thermophilus</i> T8 suşunun 48. saatte farklı melas kon santrasyonlarındaki canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	40
Şekil 4.11. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> B3 suşunun melas ortamla rında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu /mL) ve laktik asit üretimleri.....	42
Şekil 4.12. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> B3 suşunun melas ortamla rında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu /mL) ve laktik asit üretimleri.....	42
Şekil 4.13. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> G12 suşunun melas ortamla rında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu /mL) ve laktik asit üretimleri.....	43
Şekil 4.14. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> G12 suşun melas ortamla rında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu /mL) ve laktik asit üretimleri.....	43
Şekil 4.15. <i>S. thermophilus</i> W22 suşunun melas ortamlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	44
Şekil 4.16. <i>S. thermophilus</i> W22 suşunun melas ortamlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	44
Şekil 4.17. <i>S. thermophilus</i> T12 suşunun melas ortamlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	45
Şekil 4.18. <i>S. thermophilus</i> T12 suşunun melas ortamlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları log cfu/mL) ve laktik (asit üretimleri.....	45
Şekil 4.19. <i>S. thermophilus</i> T8 suşunun melas ortamlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	46
Şekil 4.20. <i>S. thermophilus</i> T8 suşunun melas ortamlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	46

Şekil	Sayfa
Şekil 4. 21. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> suşlarının peynir altı suyunda 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	48
Şekil 4. 22. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> suşlarının peynir altı suyunda 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	48
Şekil 4.23. <i>S. thermophilus</i> suşlarının peynir altı suyunda 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	49
Şekil 4.24. <i>S. thermophilus</i> suşlarının peynir altı suyunda 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	49
Şekil 4.25. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> suşlarının madde ilaveli peynir altı suyunda 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	50
Şekil 4.26. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> suşlarının madde ilaveli peynir altı suyunda 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	50
Şekil 4.27. <i>S. thermophilus</i> suşlarının madde ilaveli peynir altı suyunda 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	51
Şekil 4.28. <i>S. thermophilus</i> suşlarının madde ilaveli peynir altı suyunda 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	51
Şekil 4.29. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> suşlarının peyniraltı suyunda 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayısı(log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	53
Şekil 4.30. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> suşlarının peyniraltı suyunda 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayısı (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	53
Şekil 4.31. <i>S. thermophilus</i> suşlarının peynir altı suyunda 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayısı (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	54

Şekil	Sayfa
Şekil 4.32. <i>S. thermophilus</i> suşlarının peynir altı suyunda 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayısı (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	54
Şekil 4.33. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> suşlarının madde ilaveli peynir altı suyunda 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayısı (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	55
Şekil 4.34. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> suşlarının madde ilaveli peynir altı suyunda 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayısı (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	55
Şekil 4.35. <i>S. thermophilus</i> suşlarının madde ilaveli peynir altı suyunda 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayısı (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	56
Şekil 4.36. <i>S. thermophilus</i> suşlarının madde ilaveli peynir altı suyunda 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayısı (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	56
Şekil 4.37. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> B3 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	57
Şekil 4.38. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> B3 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	58
Şekil 4.39. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> G12 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	58
Şekil 4.40. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> G12 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	59
Şekil 4.41. <i>S. thermophilus</i> W22 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	59
Şekil 4.42. <i>S. thermophilus</i> W22 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	60

Şekil	Sayfa
Şekil 4.43. <i>S. thermophilus</i> T12 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	60
Şekil 4.44. <i>S. thermophilus</i> T12 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	61
Şekil 4.45. <i>S. thermophilus</i> T8 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	61
Şekil 4.46. <i>S. thermophilus</i> T8 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.....	62
Şekil 4.47. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> B3 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	63
Şekil 4.48. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> B3 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	63
Şekil 4.49. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> G12 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.	64
Şekil 4.50. <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> G12 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	64
Şekil 4.51. <i>S. thermophilus</i> W22 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	65
Şekil 4.52. <i>S. thermophilus</i> W22 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	65

Şekil	Sayfa
Şekil 4.53. <i>S. thermophilus</i> T12 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	66
Şekil 4.54. <i>S. thermophilus</i> T12 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	66
Şekil 4.55. <i>S. thermophilus</i> T8 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	67
Şekil 4.56. <i>S. thermophilus</i> T8 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.....	67

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> türünün morfolojik görüntüsü.....	6
Resim 2.2. <i>Streptococcus thermophilus</i> türünün morfolojik görüntüsü	7
Resim 2.3. Melasın görüntüsü.....	17
Resim 2.4. Peyniraltı suyu görüntüsü.....	24

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklama
β	Beta
&	.Gama
Da	Dalton
Kcal /kg	Kilokalori/kilogram
M	Molarite
N	Normalite
nm	Nanometre
PAS	Peyniraltı suyu
SH°	Asit derecesi
UV	Ultraviyole
Kısaltmalar	Açıklama
Cfu	Coloni Forming Units
Dk	Dakika
EPS	Eksopolisakkarit
GTF	Glukosil transferaz
IgA	İmmünoglobulin A
LAB	Laktik asit bakterileri
LDH	Laktat dehidrogenaz
MRS	Man Rogosa Sharpe

1.GİRİŞ

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

Bakteriyel polisakkaritlerin varlığı ve rolleri ilk olarak tıbbi incelemede ortaya konmuş ve daha sonraki çalışmalarda Laktik asit bakterileri ile birlikte birçok farklı gruptaki mikroorganizmaların EPS ürettikleri tesbit edilmiştir.

Fermente gıdaların üretiminde kullanılan laktik asit bakterilerin EPS üretimleri insan sağlığı yönünden olumlu etkileri bildirilmiştir. Bunlardan; antitümör, antiülser, immün sistemi uyarıcı ve kolesterol düşürücü aktivitelerinin koruyucu etkileri de gösterilmiştir [Kılıç, 2001].

LAB bakterileri tarafından üretilen EPS miktar ve kompozisyonlarının tür ve suşlar arasında farklılık gösterdiği ve birçok etkenin EPS üretimini etkilediği açıklanmıştır.

LAB bakterileri tarafından üretilen laktik asit besinlerin korunmasında ve gıda sanayinde kullanılmaktadır. Bu madde ekşi tatta, uçucu olmayan, kokusuz bir asittir. Endüstriyel olarak üretilen ham Laktik asit, tekstil endüstrisinde, temizleyici ve cilalama maddelerinde, elektro kaplamada, böcek ve mantarların mücadelesinde, plastik ve reçinelerde ve birçok alanlarda kullanılır [Bulut, 2002].

Bu çalışmanın amacı ;

Termofil 3 adet *S. thermophilus* ve 2 adet *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşlarının endüstriyel atık maddelerden olan melas, peyniraltı suyu ve pancar su

yu besiortamlarında EPS ve laktik asit üretimlerini incelemektir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Probiyotik Tanımı, Tarihçesi

Probiyotik terimi 2 yunanca kelimededen türetilmiştir; pros ve bios, hayatı kolaylaştıran anlamına gelmektedir. Bu terim ilk olarak 1974 yılında Parker tarafından sindirim sisteminde bulunan mikroorganizmayı dengede tutmak için yardımcı olan maddeler ve mikroorganizmalar diye tanımlanmıştır. Bu tanım, çok geniş olarak, mikroorganizma kültürleri, bunların metabolik ürünleri ve antibiyotiklerin hazırlanmalarını da kapsar.

Probiyotik terimi yeni olsa bile insanlar ve hayvanlarda sindirim üzerinde belirli mikroorganizmalar uygun etkilerine ilişkin incelemeler, yüzyılın başına kadar uzanır. Son otuz yıldan beri hayvansal üretim koşulları, yetiştirmede olduğu gibi, endüstriyel olarak yapılmaktadır [Kılıç, 2001].

2.2. Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar

Genel olarak probiyotik kapsamına giren mikroorganizmalar bakteriyal mikroorganizmalar veya maya hücreleri olarak iki gruba ayrılır. Bu mikroorganizmalar Çizelge 2.2.' de gösterilmiştir [Çelen ve ark, 1999, Soomro ve ark, 2002]. Bunlar arasında *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus* dışında tümü insan mikroflorası elemanıdır [Güvener, 1999]. Probiyotik bir üründe pek çok bakteri türü ve bunların suşları bulunabilir.

Çizelge 2.1. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar

<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus cellebiosus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> , <i>Lactobacillus lactis</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus johnsonii</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Lactobacillus crispatus</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i> , <i>Lactobacillus gasseri</i> , <i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i>
<i>Pediococcus</i>	<i>Pediococcus cerevisiae</i> , <i>Pediococcus acidilactici</i> , <i>Pediococcus pentosaceus</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus cremoris</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Streptococcus intermedius</i> , <i>Streptococcus lactis</i> , <i>Streptococcus diacetylactis</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Lactis</i> , <i>Lactococcus</i> subsp. <i>cremoris</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>Bifidobacterium animalis</i> , <i>Bifidobacterium adolescentis</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium thermophilus</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus pumillus</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Bacillus coagulans</i> , <i>Bacillus lentus</i>
<i>Bacteriodes</i>	<i>Bacteriodes capillous</i> , <i>Bacteriodes suis</i> , <i>Bacteriodes ruminola</i> , <i>Bacteriodes amylophilus</i>
Diğer bakteriler	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Propionobacterium shermanii</i> , <i>Propionobacterium freudenreich</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Enterococcus faecium</i>

2.3. Probiyotik Mikroorganizma Seçim Kriterleri

İnsan beslenmesinde kullanılan mikroorganizmaların bulundurulması gereken temel özellikler aşağıda belirtildiği gibi sıralanır [Kılıç, 2001].

- Probiyotikler gelişme faktörlerinden olmalı,
- Glikozinatlar gibi beslenmede zararlı olan faktörlerin besinlerde sindirilebilirliğini arttırmalı,
- Bağırsak düzensizlikleri üzerinde koruyucu bir etki sağlamalı,
- Sindirim sistemi mikroflorasının dengede tutulmasını kolaylaştırarak iyi bir sindirim hijyenini garantilemeli ,
- Sağlığın genel durumunu iyileştirmelidir.

2.4. Probiyotik Özelliğindeki Laktik Asit Bakterilerinin Genel Özellikleri

Laktik asit bakterileri prokaryot, heterotrof ve kemo-organotrof olan canlı grubu içinde yer alır. Bu özelliklere uyan bakteriler arasında 4 bakteri sınıfı ayırt edilir; *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc*' lar dır.

Laktik asit bakterileri; Gram pozitif, spor oluşturmeyen, çubuk ve kok şeklinde, karbonhidrat fermantasyonu sırasında en yüksek son ürün olarak laktik asit üretir. Bazı laktobasil şuşlarının hareketli ve endospor oluşturduğu, bazı streptokoklarda aerob ortamda ürediği, yine bazı laktobasil ve pediokoklarda katalaz pozitif reaksiyon verdikleri de bilinmektedir.

Laktik asit bakterilerinin hiçbir üyesi, içinde yalnız glukoz ve amonyum bulunan bir mineral besiortamında gelişmez. Pek çoğu vitaminlerden bir ya da birden fazlasına gerek duyarlar. Ayrıca, amino asit istekleri de çok fazladır [Vural, 1998; Klaenhammer ve Kullen, 1999].

İnsan, hayvan ve bitki gibi doğal ortamlardan izole edilebilirler. Belirli bir çevreye adapte olmuş gibidirler ve hemen hemen doğal habitatlarında bulunurlar (Örneğin; süt, vajina, sıcak kanlıların bağırsağı, dudaklar, meyve ve sebzelerde).

Streptococcus generusu türlerine; insan, hayvan ve kuşlarda rastalanabilir. Bitkilerden de izole edilebilirler.

Lactobacillus generusu türler, silajda, hayvan ve insan bağırsağında bulunurlar. Normal süt florasında yer alırlar. Nitratı redükte etmezler, katalaz enzimi üretmezler.

Lactobacillus generusu türlerine daha çok insan, hayvan ve bitkilerle birlikte bunların bulunduğu ortamda rastlanır. Özellikle insan ve hayvan

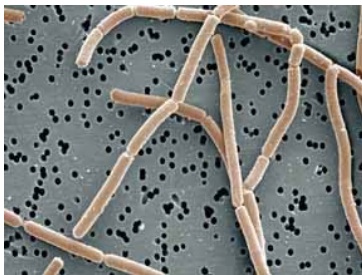
bağırsaklarında yaşayanlar, o koşullara adapte olan türlerdir. Vajinanın normal florasını oluştururlar. Hücreler yuvarlaktan ovale kadar değişen şekilde olup 2 µm çapta, ikili veya zincir şeklinde bulunurlar. Genellikle hareketsiz olan bu bakteriler kültür ortamında küçük ve renksiz koloniler oluştururlar [Kılıç, 2001, Rasic ve Kurmann, 1978, Ayhan, 2000].

2.4.1. *Lactobacillus* cinsi bakterilerin genel özellikleri

Lactobacillus cinsi bakteriler, *Lactobacillaceae* familyasına ait olup, Laktik asit bakterileri grubundandır. *Lactobacillus* spp.' ler anaerobik, gram (+) bakterilerdir, spor oluşturmazlar. Çoğu *Lactobacillus* spp. basil ancak bazı türleri koko-basil şeklindedir. Bu mikroorganizmalar gelişebilmeleri için amino asit, peptit, nükleik asit türevi vitamin, tuz, yağ asidi veya yağ asidi esterleri ile fermente edebilecekleri besin maddelerine ihtiyaç duyarlar [Yetişmeyen, 1995]. 10-30µ uzunluğunda 0,7-2µ kalınlığında, çubuk şeklinde tek tek veya zincirler şeklinde bulunur. Genç bakteriler genellikle zincir oluşturmaz. Optimum olarak 40-45 °C' de aktivite gösterirler. 70 °C' nin üzerindeki sıcaklıklarda ölürler.

Lb. delbrueckii ssp. *bulgaricus*

Bu bakteri ilk olarak 1900' lü yıllarda Bulgar Grigoroff tarafından tanımlanmıştır. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* türünün morfolojik görüntüsü Resim 2.1.' de verilmiştir.



Resim 2.1. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* türünün morfolojik görüntüsü

Bu bakteri süt endüstrisinde çok önemli görevler üstlenmektedir. Yoğurt retimi için hazırlanan saf kültürlerde *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* ile birlikte bulunur. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ortamda laktozu hızla parçalar ve %1,8 oranında D(-) tipte laktik asit oluşturur. Optimum gelişme sıcaklığı 42-45 °C ' ler arasındadır. DNA' da % G+C oranı 50,3 dolayındadır. Hücre duvarında peptidoglikan yapısı L-lisin, D-aspartat şeklinindedir. Çiğ süt ve sert peynirlerde doğal olarak bulunması yanında sert, pıhtısı pişirilen peynirlerde kültür olarak kullanılmaktadır [Dellaglio ve ark, 1991, Buchanan ve Gibbons, 1974].

2.4.2. *Streptococcus* cinsi bakterilerin genel zellikleri

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

Streptococcus thermophilus türünün elektron mikroskop görüntüsü Resim 2.2.' de verilmiştir.



Resim 2. 2. *Streptococcus thermophilus* türünün elektron mikroskop görüntüsü

Bu bakteri 10 °C' de üreme göstermezken, 45 °C' de gelişir. %6,5 NaCl çözeltisinde, pH 9,6 ve %0,1 metilen mavili sütte gelişmezler. Argininden NH₃

oluşturmazlar. Beta hemolitik negatiftirler. Bu cinsin temsilcisi *S. salivarius* ssp. *thermophilus*' dur.

2.5. Metabolik Aktivite

Laktik asit bakterilerinin uygulama alanlarından biri de probiyotiklerdir. Probiyotiklerin işlevi, hastalıklardan konukçuyu korumaya yardım eden mikroorganizmaların kullanımıyla gerçekleşir. Probiyotik laktik asit bakterilerinin ürettikleri EPS, bakteriosinler, hidrojen peroksit, diasetil, serbest yağ asitleri ve organik asitlerin patojen bakteriler ile mücadeleyi artırmada etkili olduğu bulunmuştur. Bu metabolitler probiyotik açıdan kullanımlarının yanı sıra, uzun yıllar gıdaların raf ömrünü uzatmada da etkili olmaktadır [Vandenberg, 1993].

2.5.1. Ekzopolisakkaritler

Diğer bir çok mikroorganizma gibi laktik asit bakterileri de (LAB) hücre içinde yerleşimlerine göre sınıflandırılabilen üç çeşit polisakkarit üretirler. Bunların birincisi; sitozol içinde yer alır, karbon ve enerji kaynağı olarak işlev görür. İkincisi; peptido glikanlar ve teikoik asitler gibi çeperde yer alırlar. Üçüncü grup ise, hücre içinde oluştuktan sonra dışına yani kültür ortamına salgılanır. Bazı durumlarda iki form aynı mikroorganizma tarafından oluşturabilir. Bu polimerlere kapsül ve mikrokapsül şeklinde polisakkarit adı verilmektedir [Cerning ve ark, 1986, Cerning ve ark, 1990].

Hücre dışı polisakkaritler değişik miktarlarda birçok laktik asit bakterisi tarafından üretilir. Bunlardan birincisi *Leuconostoc mesenteroides* ve *Streptococcus mutans* tarafından oluşturulan ve glukozun homopolimeri olan dekarboksilandır. İkinci grup *Streptococcus salivarius* tarafından üretilen ve fruktozun homopolimeri olan levanlardır. Üçüncü grup ise termofil ve mezofil laktik bakterilerin oluşturduğu heterejon polisakkaritten meydana gelen ve

birçok yapıtaşını da bünyesinde bulunduran hetero polisakkaritlerdir [Cerning ve ark, 1992].

2.5.2. Ekzopolisakkarit üreten laktik asit bakterileri

Dekstran, glukoz ve fruktan gibi homopolisakkaritlerin üretimi için özel bir substrat olan sakkaroz gereksinim vardır. Bu aşamada bir dizi enzim, üretimde görev alır. Polisakkaritlerin üretimi azotlu maddelerce sınırlandırılmış ve karbonlu maddelerce zenginleştirilmiş olan ortamlarda teşvik edilir.

Eğer ortamdaki karbon ve azot kaynağıyla birlikte azaltıldığında üretim de azalır. Dekstran, normal olarak *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides*' in uygun besin maddeleri içeren, nötre yakın pH' da mineral tuz içeren sakkaroz çözeltisinde gerçekleştirildiğinde üretilir.

Burada ortamın pH değeri, sakkaroz konsantrasyonu gibi fermantasyon parametreleri, üretimi ve miktarı etkiler [Sutherland, 1972].

Termofil ve mezofil laktik bakteriler tarafından üretilen hücre dışı polisakkaritlerin kalitatif olarak belirlenmesi son yıllarda gerçekleştirilmiştir. Optimum üzerindeki yüksek inkübasyon sıcaklığı ile kültürlerin sub kültürlerine bağlı olarak değişkenlik gösterir. Bu değişkenlik mezofil karakterdeki laktik bakterilerde bir plazmidle bağlanmaktadır, ancak termofil laktik asit bakterilerdeki değişkenliğin, bunların plazmid içermedikleri dikkate alındığında, kesin olmamakla birlikte gliko hidrolaz tipi enzimlerin aktivitesiyle ilgili olduğu düşünülmektedir [Mater, 1992, Cerning ve ark, 1990]. Ekzopolisakkarit üretme yeteneğine sahip laktik asit bakterileri Çizelge 2.2' de verilmiştir [Cerning ve ark, 1992].

Çizelge 2. 2. Ekzopolisakkarit üretme yeteneğine sahip laktik asit bakterileri

Laktik asit bakterileri		
<i>Lactobacillus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Leuconostoc</i>
- <i>Lb.delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i>	- <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	- <i>Leuconostoc mesentero ides</i> ssp. <i>mesenteroides</i> .
- <i>Lb.delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	- <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	- <i>Leuconostoc mesentero ides</i> ssp. <i>cremoris</i>
- <i>Lactobacillus hilgardii</i>	- <i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i>	
- <i>Lactobacillus casei</i>	- <i>Streptococcus mutans</i>	
- <i>Lactobacillus helveticus</i>	- <i>Streptococcus sobrinus</i>	

Laktik asit bakterilerinin bulunduğu sıvı ortamlarda zamanla viskozitenin artması yalnızca oluşan polimer miktarına değil, ayrıca polimerin tipi, diğer oluşan metabolik ürünlere de bağlıdır. Hatta ortamdaki polisakkaritlerle kazein ve bakteri hücresi arası etkileşimler ortamın viskozitesi kalınlaşması üzerinde rol oynamaktadır.

Polisakkarit üretimi ve miktarları inkübasyon süresine ve bakteri suşuna bağlı olarak değişiklik gösterdiği *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*' le yapılan çalışmada ortaya konmuştur.

Kefir üretiminde kullanılan (*Lb. hilgardii*' nin) bazı suşları da polisakkarit üretmektedir. Bununla birlikte Schellhass' ın çalışmasında polimer oluşumu ve mikroorganizma çoğalması üzerinde kazein ve serum proteinleri ile süt ultrafiltratından daha çok sütün bileşimindeki bazı maddelerin özellikle aminoasitlerin etkili olduğu ortaya konmuştur.

2.5.3. Polisakkaritlerin bileşimi ve yapısı

Homopolisakkaritler

Leu. mesenteroides ssp. *mesenteroides* dekstran üreten temel mikroorganizmadır. Glukanlar ise, *S. mutans*, *S. sobrinus* ve *S. sanguis* tarafından sentezlenir. Son üç bakteri glukanların yanı sıra fruktoz polimeri de sentezleyebilirler.

Zincir uzunluğu farklı olan dekstranların çoğu yüksek moleküler ağırlığına sahiptir. Işığ difuzyonu ile ultrasantrifuj değerleri değişiklik gösterir. Söz konusu bakteri suşları tarafından üretilen dekstranlar düşük sıcaklıklarda yumak şeklinde 30 °C ise, küresel ve yoğun bir durum gösterir. Polisakkaritlerin kimyasal bileşim ve yapılarındaki farklılıkları sakkarozdan hücre dışı sakkaritlerin sentezi sırasında bir çok karmaşık reaksiyonların devreye girmesinden kaynaklanmaktadır. Ortamdaki sakkaroz konsantrasyonu, bakteri gelişme ortamı, inkübasyon süresi ile sakkarozu parçalayan enzimlerin varlığı gibi bir çok etmen polimer moleköl ağırlığı ve yapısını belirgin şekilde etkilemektedir [Sutherland, 1972, İnternet 6].

Heteropolisakkaritler

Laktik bakteriler tarafından üretilen polimerlerin çoğu bu özelliktedir. Yapılan çalışmalar genel olarak bu bakterilerin polimer üretimlerinin zayıf, az ve koyulaştırma özelliklerinin de kararsız olduğunu ortaya koymuştur.

Araştırmalarda *Lb. helveticus* ürettiği ekzopolisakkaritin yapısı incelenmiştir. Bakteri süt ortamında 1:1 oranında D-glukoz ve D-galaktoz dan oluşan EPS' nin monomerik yapısı belirlenmiştir [Kılıç, 2001].

Bir diğer araştırmada anaerob ortamda laktozun dışında kompleks bir besiyerinde geliştirilen *Bifidobacterium longum*' un 100 mg/L glukozu eşdeğer ekzopolisakkarit ürettiği belirlenmiştir [Kılıç, 2001].

Bir diğer çalışmada *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus*' un oluşturduğu polimerde glukoz ve fruktozun 1:1 oranında olduğu açıklanmıştır. Yoğurttan glukoz, galaktoz, ksiloz ve üronik asitleri bulunduran bir polisakkarit izole etmişlerdir [Marshall, 1987].

Araştırmacılar, incelemeye aldığı EPS' lerin 2:1 oranında galaktoz ve glukozdan oluştuğunu ve bunlar arasındaki bağların α ve β tipinde olduğunu ortaya çıkarmıştır [Sutherland, 1972].

Sütte *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*' un oluşturduğu polisakkaritin 4:1:1 oranında galaktoz, glukoz ve ramnoz içerdiğini bildirmiştir [Cerning ve ark, 1986]. Bir alışmada *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lb. acidophilus* ve *S. salivarius* ssp. *thermophilus* bakterilerinin 24 saatlik inkübasyon sonucunda optimum gelişme sıcaklığı ile maksimum ekzopolisakkarit üretimi arasında ilişki tespit edilmiştir. *S. salivarius thermophilus*' un 30 °C' de 24 saatin sonunda 2,5 kat daha fazla polimer ürettiği, viskoziteninde 1-20 kat attığı ve polimer molekül ağırlığının 5,10 Da olduğu bildirilmiştir [Cerning ve ark, 1990].

S. thermophilus ssp. *thermophilus*' tan izole edilen polisakkaritin bileşiminde 2:1:1 oranında galaktoz, glukoz ve N asetil galaktazamin izole edilmiştir. Bakterinin inkübasyon süresi artması ile ekzopolisakkarit üretiminin azaldığı bildirilmiştir [Mozzi ve ark, 1995].

2.5.4. Ekzopolisakkaritlerin önemi ve kullanımı

Bakteriyel polisakkaritlerin varlığı ve rolleri ilk olarak tıbbi incelemede ortaya konmuştur. Ancak; EPS' lerin varlığı yalnızca virulent karakterli bakterilere özgül değildir. Yapılan çalışmalarda; su, toprak gibi çok farklı kaynaklarda yaşayan birçok bakterinin de kapsül içerdiğini ortaya konmuştur. Fiziksel ve kimyasal yöntemler ile giderilen polisakkaritin üretimi bakterilerin çoğalmasını etkilemeksizin, tekrar bakteriler tarafından oluşturulduğu bildirilmiştir [Internet 5].

EPS' lerin olası işlevleri

1. Polisakkaritler üretici suşlar tarafından katabolize edilemediklerinden enerji

kaynağı değildirler.

2. Buna karşılık mikroorganizmayı veya ortamı kurumaya karşı korur, zararlı veya uygun olmayan bir ortamdan uzaklaştırılır
3. Ortamdaki metalik iyonların tutulmasını sağlar.
4. Bakteri-faj ilişkilerinde ajan olarak rol oynar. Ayrıca bitkilerle bakteriler arasında bir etkileşim aracıdır [Kılıç, 2001].

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

Karıştırılarak hazırlanan aromalı, meyveli gibi benzer yoğurtların ve süt içeceklerin yapımı sırasında uygulanan mekanik işlemlerle bozulan dokunun sağlanması için kimyasal kökenli maddelerden yararlanılır. Son yıllarda bitkisel kökenli hidrokolloidlere alternatif olarak laktik bakterilerinin koyulaştırıcı suşlarından yararlanma yoluna gidilmektedir. Bu amaçla ekzopolisakkarit üreten *S. soliverius* ssp. *thermophilus* ve *Lb. delbruecki* ssp. *bulgaricus* suşları yoğurt yapımında mezofil laktik bakteriler ise bir çok fermente süt üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca bazı araştırmacılar antitümör etkinliğinin bir laktobasil ve bir streptokok tarafından üretilen polisakkarite bağlandığını da gösterilmiştir [Doco ve ark, 1990].

2.5.5. Laktik asit

Laktoz (süt şekeri) fermente süt ürünlerinde kullanılan starter bakteriler tarafından bir ön fermentasyona uğratılır, bunun sonucunda emilimi daha kolay olan laktik asit oluşur. Bu sayede laktoz intoleransı olan kişiler besleyici bu ürünleri rahatlıkla tüketebilmektedir.

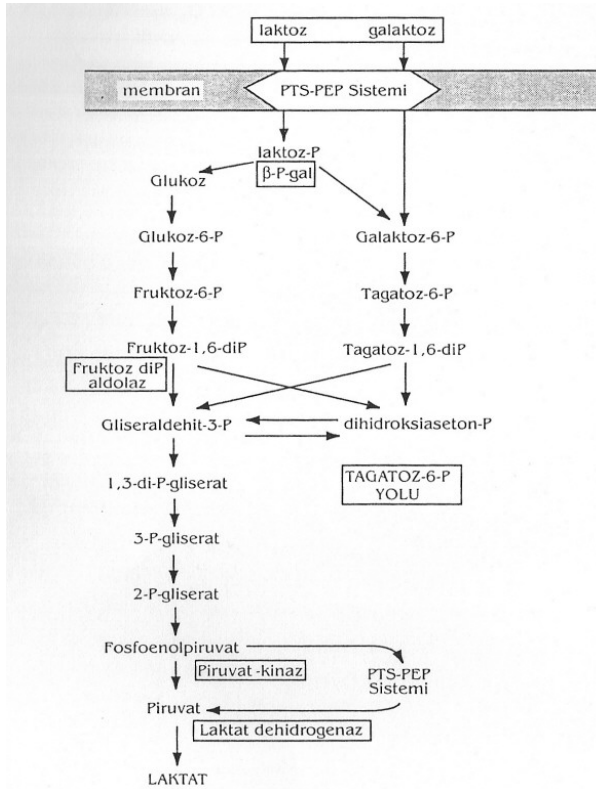
Laktoz diğer şekerlerden farklı olarak fizyolojik üstünlüğe sahiptir. Laktozun yapısındaki galaktozun beyin dokusundaki glikolipitlerin kaynağını teşkil etmesi ve özellikle gençlerde sinir dokusunun sentezinde önemli olması nedeniyle de beslenmede büyük öneme sahiptir. Laktoz, önemli bir enerji kaynağıdır. Gastrointestinal işlevi motive eder ve bağırsaklardaki istenmeyen mikroorganizmaları inhibe ederek bağırsak florasını geliştirici etki yapar. Ayrıca vücudun kalsiyum ve fosfordan daha iyi yararlanmasını sağlar. Oluşan laktik asit, kalsiyum ve fosforun emilimini kolaylaştırır [Tekinşen ve Atasever, 1994].

LAB, Laktat Dehidrogenaz (LDH) enzimleri aracılığıyla, metabolizmaları sırasında laktozu parçalayarak oluşturdukları maddedir [Liu, 2003]. LDH enzimi bakteri hücre stoplazmasında bulunur ve bunun etkili olabilmesi NAD/NADH' a bağlıdır. Pirüvik asidin laktik aside dönüşümü boyunca bu koenzim rejenere olur [Le Bras G, 1994]. Laktik bakterilerde laktoz ve galaktozun homofermentatif metabolizması Şekil 2.1' de gösterilmiştir [Mishra ve Lambert, 1996].

Laktik asidin ikinci karbon (C) atomunun farklı bağlanışına göre çeşitli formları oluşur. Bunlar L (+), D (-) ve DL (\pm) formlarıdır. Bu oluşumlar türden türe değişiklik gösterirler [Forestier ve ark, 2001]. Bu laktik asit formlarının oluşumunda Laktat dehidrogenaz enziminin türü önemlidir. Mesela *S. thermophilus* da L-Laktat dehidrogenaz enzimi sayesinde pirüvat L (+) laktik aside, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* da D-Laktat dehidrogenaz enzimi sayesinde pirüvat D (-) laktik aside dönüştürür. DL (\pm) laktat formu, laktat rasemaz enzimi varlığında oluşur. Bu enzim L (+) veya D (-) formundaki laktik asidi rasemik karışım oluşuncaya kadar diğer formuna çevrilmesini katalizler [Oysun, 1995].

Beslenmede L (+) laktik aside daha fazla önem verilmektedir. Bu izomer insan vücudunda çok hızlı metabolize olmaktadır. Buna karşın D (-) laktik asit ise yetersiz ve çok yavaş parçalanmaktadır. Bu nedenlerden dolayı Dünya

Sağlık Örgütü yetişkin insanların besinlerinde bulunan D (-) laktik asit oranını kısıtlamış ve günde alınması gereken en yüksek değeri 100 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirlemiştir [Çağlar ve Çakmakçı, 1995].



Şekil 2.1. Laktik bakterilerde laktoz ve galaktozun homofermentatif metabolizması

Laktik asit üretimi, probiyotik ve starter mikroorganizma seçim kriterlerinden biridir. Starter olarak kullanılacak mikroorganizmanın ürettiği aroma maddeleriyle beraber, oluşturulan laktik asidin cinsine ve miktarına göre süt, yoğurt, peynir, ayran gibi fermente ürünlere dönüştürülür. Laktik asit ilgili ürünlerde birçok kontaminant ve patojen mikroorganizmaların üremelerini inhibe eder [Akalin ve ark, 2000, Aiba ve ark, 1998]

Elektro cilalamada, böcek ve mantarların ortamdaki arındırılmasında, plastik ve reçinelerde, özel mürekkeplerde de laktik asit kullanılır [Bulut, 2002].

2.6. Probiyotik Mikroorganizmaların Etki Mekanizması

Probiyotiklerin etki mekanizmasına yönelik çalışmalar, bağırsak florasının düzensizliğiyle ortaya çıkan gastrointestinal sistemdeki bozukluklara dayanarak yapılmaya başlanmıştır [Salminen ve ark, 1999].

Probiyotiklerin etki mekanizmaları için özellikle üç mekanizma önerilmektedir [Yıldırım ve Yıldırım, 2000].

- 1) Patojen ve zararlı bakterilerin sayılarını azaltmak
Antimikrobiyal bileşikler üretmeleri
Besin elementleri için rekabet etmeleri
Kolonizasyon bölgeleri için rekabet etmeleri
- 2) Mikrobiyal metabolizmayı (enzimatik aktiviteyi) değiştirmek
Sindirim sistemini teşvik eden enzimlerin üretimi (örneğin; laktoz)
Amonyak, amin veya toksik enzimlerin üretiminin azalması
Bağırsak duvarının fonksiyonlarının iyileştirilmesi
- 3) Bağışıklık sistemini iyileştirmek
Antikor düzeyinin artması
Makrofaj aktivitesinin artması

Probiyotik mikroorganizmaların insan sağlığında önemleri aşağıdaki gibi sıralanmıştır;

1. Bağırsak sistemi üzerindeki etkileri
2. Mide üzerindeki etkileri
3. Laktoz intolerans üzerindeki etkileri
4. Kolesterol düşürücü etkisi
5. Antikanserojenik etkisi
6. Antimikrobiyal etkisi
7. Bağışıklık sistemine etkisi

8. Vitamin metabolizmasını iyileştirme etkisi
9. Böbrek rahatsızlıklarını iyileştirme etkisi
10. Karaciğer rahatsızlıkları üzerine etkisi
11. Kalp rahatsızlıkları üzerine etkisi
12. Zehirlenme üzerine etkisi
13. İdrar yolları enfeksiyonu üzerine etkisi
14. Deri üzerine olumlu etkisi.

2.7. Melas

Şeker fabrikalarında şeker pancarı girdisinden kristal şeker üretimi ile birlikte yan ürün olarak melas elde edilmektedir. Melas, içerdği şekerin uygulanan yöntemler ile kristallenmesi ekonomik açıdan mümkün olmayan kahverengi viskoz, yapışkan bir şuruptur. İşlenen şeker pancarına göre %4-5 oranında melas elde edilir. Ve yaklaşık %15' ini su, %50' sini sakkaroz ve %35' ini sakkaroz dışı maddeler içerir. Sakkaroz dışı maddenin %35' i anorganik, %65' i de organik olup, organik maddelerin büyük kısmını azotlu bileşikler oluşturur [Ulubas, 1991, Scheneide, 1971]. Sitrik asit, asetik asit, maya, alkol gibi birçok kimyasal maddenin imalinde hammadde olarak kullanılan melas, koyu kahverengi, viskoz bir sıvıdır. Melasın görüntüsü Resim 2.3' de verilmiştir



Resim 2. 3. Melasın görüntüsü

2.7.1. Melasın bileşimi

Şekerin kristallenme yolu ile elde edilmesinde son ana şurup olarak geri kalan melas, önemli miktarda şeker içerir. Aynı zamanda bu yan ürün şeker dışı maddeler bakımından da çok zengindir.

Melasın kuru maddeye göre ortalama bileşimi aşağıdaki gibidir;

- Azotlu organik maddeler	: (.%12-15)
- Azotsuz organik maddeler	: (.%16-18)
- Kül-İnorganik maddeler	: (.%10-14)
- İvert Şeker	: (%0,1-0,5)
Toplam	: (%40-42)

Melas' tan şeker çıkarıldıktan sonra geriye kalan şekersiz kuru madde, organik ve anorganik maddeler olarak ikiye ayrılır [Ulubas, 1991, Silin, 1956].

Organik maddeler

A. Azotlu organik maddeler: Şekerin ekstraksiyonu sırasında şeker pancarında bulunan azotlu maddelerin ancak yarısı melasa geçer. Melasta aminoasitler arasında en fazla glutamin asiti bulunur. Melasta çok az miktarda da protein vardır.

Şeker pancarında bulunan amidler, şeker üretimi sırasında amonyak ve organik asitlere parçalanırlar. Melasda çok az miktarda amonyum tuzlar da bulunur.

B. Azotsuz organik maddeler

Bu grupta pektin ve hemiselüloz yer alır. Pektin şeker üretimi sırasında çökerek ayrılırsa da parçalama ürünleri olan galaktoz ve arabinoz değişime uğramadan melasa geçerler.

Şeker pancarındaki diğer azotsuz organik maddeler arasında dikarbonik asitler (okzalik, malonik, süksinik, glutirik ve adipinik asitler) ve oksikarbonik asitlerde bulunmaktadır. Bunların büyük kısmı üretim sırasında ayrılmakla beraber okzalik, oksiglutarik, laktik, sakkarik ve arabin asitlerde melasta az miktarda bulunurlar [Ulubas, 1991].

Anorganik maddeler

Melasta bulunan anorganik maddelerin miktarı ve bileşimi pancarın yetiştirildiği toprağa, meteoroloji koşullarına ve pancar çeşidine bağlıdır.

2.7.2. Melasın değerlendirilmesi

Melas yalnız şeker bakımından değil, içerdiği şeker dışı maddeler yönünden de değerli bir üründür. Melasın bu özelliğinden dolayı bir çok teknik imkanlar sağlanmıştır.

Melasın olduğu gibi kullanılması

Melasın olduğu gibi kullanılması, genellikle küspe ile karıştırılıp hayvan yemi olarak değerlendirilmesi şeklindedir. Ülkemizdeki tesislerde yaş pancar küspesi, küspe preslerinde sıkıldıktan sonra melas ile karıştırılıp kurutulmakta ve pellet haline getirilmektedir.

Melaslı kuru küspe yaklaşık % 30 melas, dolayısıyla % 15 şeker içermektedir. Pancar küspesinin melaslı kuru küspe haline dönüştürülmesi ile

besin değeri arttığı gibi, depolanması, bozulmadan saklanması ve nakliye işlemini de kolaylaştırmaktadır [Scheneide, 1971].

Melasın biyokimyasal dönüşüm yolu ile kullanılması

Şekerin fermantasyonla diğer maddelere dönüşümü sağlanır. Fermantasyon mikroorganizmaların aktivitesi ile meydana gelir. Fermantasyon ile melastan üretilen maddeler;

Oksijensiz Fermantasyonlar

- 1) Mayalarla (Etil Alkol, Gliserin, Maya proteini).
- 2) Bakterilerle (Süt asidi, Bütil alkol-aseton, Bütirik asit, Butilen glikol, etil alkol, Propiyonik asit, Asetik asidi, Glukan asidi, Dioksi aseton).
- 3) Küflerle (Limon asidi, Glukan asidi, Fumerik asid, Oksal asidi).

Melasın şeker dışı maddelerin değerlendirilmesi

Melastaki şeker dışı maddeler, pancarda mevcut olan ve fabrikasyon kademelerinde hiçbir değişikliğe uğramadan ve çöktürülmeden melasa geçer. Ayrıca şeker üretimi sırasında pancardaki bazı maddelerin (protein, petkin vb.) parçalanmasından melastan glutamik asit ile diğer bazı aminoasitler elde edilir.

Melastaki şekerin geri kazanılması

Gerçek bir melas içindeki şekerin bir kısmı serbest, bir kısmıda su ve organik potasyum tuzları ile kompleks bileşikler halinde bağlı bulunur. Kompleks oluşumuna bağlanan sakkaroz az olduğu müddetçe şurubun koyulaştırılması ve soğutulması ile kristallenebilen şeker fazlası mevcut olur. Kompleks bileşikler %50 şekerin kristallenmesine engel olmaktadır. Bu şekerin geri kazanılması için kompleks oluşturan şeker dışı maddelerin uzaklaştırılması

gerekmektedir. Melastan özellikle sakkarozun geri kazanımı hedeflenmiştir [Ulubas, 1991].

Melasın diğer kimyasal yöntemler ile değerlendirilmesi

Melas demir ve çeliğin esmerleştirme ve düzgünleştirmesinde kullanılır. Ayrıca bu maddeden bina yapıştıracısı maddeler ve ayakkabı boyası üretiminde kullanılır. Melasın romatizma hastalığında tedavi edici etkisinin bulunduğu da bildirilmektedir. Melasın katran veya asfalt ile asitli ortamda reğineleştirilmesinden kolay yumuşayan bir asfaltlama maddesi elde edilir [Ulubas, 1991].

Melasın yükseltgenmesi üzerine yapılan çalışmalar

Melas önemli bir karbon kaynağı olması nedeniyle en çok biyokimyasal tepkimelerde kullanılmış ve bu konu üzerinde yapılan çalışmalar ile ilgili yayınlar patent olarak alınmıştır.

Brovin melastan gliserol elde etmek amacıyla yaptığı çalışmada melası, hidrojen peroksit, vanadyum, molibden tungston, rutenyum ve kromoksit katalizörlerinden biri ile ısıtmış ve tepkime kabından aldığı ürünü laboratuvar ölçekli kademeli bir distilasyon kolonunda ayırmıştır [Silin, 1956].

Nitrik asitli ortamda vanodyum pentaoksit katalizörü ile glukoz ve sakkarozun yükseltgenmesi sonucu okzalik asit üretiminin bilinmesinden yararlanacak aynı amaç için, aynı kimyasal maddeleri kullanıp şeker kamışı melasını yükseltmişlerdir. %60 Nitrik asit, %40 sodyum karbonatlı ortamda pellet halindeki vanadyum pentaoksit katalizörü varlığında yüksek %48,5 olarak %99,5 saflıkta okzalik asit elde etmişlerdir [Silin, 1956].

2.7.3 Yükseltgenme ürünlerinin kullanım alanları

Laktik asit: Laktik asit diğer yiyecek asitlerinin acı tadına karşılık hafif ekşi tadının olması, besinlerin bozulmasının önlemesi, sıvı özellikleri nedeniyle gıda sanayinde kullanılmaktadır.

Bu özelliklerinden dolayı bira, tereyağı, şeker, peynir, salamura, çorba, meşrubat ve diğer yiyeceklerde tatlandırıcı olarak kullanılmaktadır. En çok deri endüstrisinde, kumaş boyası yapımında, yapıştırıcı temizleyici ve parlaticı yapımında, elektroliz ile kaplamacılıkta, tekstil sanayiinde, özel mürekkep yapımında, çözücü olarak kullanılan metil, etil ve n-butil laktatların ve bazı kimyasal maddelerin hammaddesidir. Laktik asit esterleri ise plastikleştirici ve çözücü olarak kullanılmaktadır [Ulubas, 1991].,

Tartarik asit: Tartarik asit, karbonatlı içeceklerin hazırlanmasında, gıda sanayiinde tatlandırıcı olarak, saf hidrojen tozu ise kabartma tozu yapımında kullanılmaktadır. Bu bileşik hamura karıştırılıp ısıtıldığında tartarik asit ayıraşak CO₂ meydana gelir ve bu da hamurun kabarmasına neden olur.

Gıda sanayi dışında, metal yüzeylerin temizleme ve parlatılmasında, tekstil sanayiinde, fotoğrafçılıkta, peynir yapımında, basit ortamda indirgen özelliği nedeniyle aynacılıkta indirgen olarak, indirgen maddelerin belirlenmesinde kullanılan Fehling ayırıcında, tartar kremi, kabartma tozu, öksürük şurubu, böcek öldürücü, ilaç yapımında ve tekstil sanayiinde kullanılmaktadır [Ulubas, 1991].

Okzalik asit : Okzalik asitin önemli kullanım alanı tekstil sanayidir. Yıkanan kumaşlar durulanırken zararlı bazların nötralize edilmesinde, boya sanayiinde, bitki liflerinin ağartılmasında, derilerin ağartılmasında, tabakalanmasında pos ve mürekkep lekelerinin giderilmesinde, metal

yüzeylerin temizlenmesinde ağır yağların ve doğal sakızın arıtılmasında ve boya yapımında kullanılır. Esterlerin iyi çözücülerdir.

Furfural: Makine yağlarının reçine ve diğer maddelerin çözücü ile arıtılmasında, nitroselüloz selüloz asetat ve ayakkabı boyaları için çözücü olarak tetrahidrofuran ve furfural fenolik ve furan polimerlerinde hammadde, böcek ve mantar öldürücü ilaçlarda, gıda sanayiinde, tatlandırıcı olarak kullanılır.

Levülinik asit: Plastikleştirici ve reçine üretiminde, ilaç sanayiinde, gıda sanayiinde tatlandırıcı, besinlerin bozulmasını önleyici madde, krom kaplamada, kireç depolanmasında kontrol maddesi ve çözücü olarak kullanılmaktadır. Levülinik asidin sodyum tuzunun antrifiriz maddesi olarak kullanılabileceği ve bu amaç için etilen glikolden daha avantajlı olduğu bulunmuştur

Formik asit: Tekstil sanayiinde, boya maddesi deri tabakalamada dezenfekten üretiminde, böcek öldürücü ilaçlarda, soğutucu olarak, vernik yapımında, elektrolizde vinil reçinelerin plastikleştirilmesinde, organik ve inorganik bileşikler için çözücü olarak kullanılır [Ulubas, 1991].

2.8. Peyniraltı Suyu

Peyniraltı suyu, peynir yapımı sırasında oluşan sarımsı yeşil renkte bir sıvıdır. Peynir' in doğal yolla oluşması veya laktik asit bakterilerinin katımıyla elde edilmesine göre peynir altı suyunun karakteri de değişik olur. Asitleşme ilk yapılan peynirlerden sıvı ekşi peyiraltı suyunu oluştururken, laktik asit bakteri katımıyla sağlanan pıhtılaşma sırasında elde edilen sıvı, tatlı peynir altı suyudur. Bu iki tip peynir altı suyunun dışında bir de teknik peyiraltı suyu vardır. Teknik peyniraltı suyu, kazein üretiminde bir yan ürün olarak oluşur. Peyniraltı suyu görüntüsü Resim 2.4' de verilmiştir.



Resim . 2.4. Peyniraltı suyu görüntüsü

Peyniraltı suyuna karakteristik rengini veren, içerdği laktoflavin (B₂ vitamini)' dir. Sütün 100 g' ında 0,15-0,25 mg kadar bulunur. Peyniraltı suyu süt gibi dayanıksızdır. Peyniraltı suyunun değerini arttıran laktoz, mikroorganizmaların faaliyetine bağlı olarak yüksek miktarda laktik aside dönüşür. Peyniraltı suyunun bu yolla kalite kaybına uğramasını önlemek, yeterli derecede soğutmak ve %0,02 oranında hidrojen peroksit ilave etmekle mümkündür. Peyniraltı suyunun değeri, yoğunluğu en az 1,025 / 15°C olmalıdır. Tatlı peyniraltı suyunun asitlik derecesi 4-5 SH°' dir. Peyniraltı suyunun kimyasal bileşimi Çizelge 2.3' de verilmiştir. [Yöney, 1997].

ABD'de yılda elde edilen peyniraltı suyu miktarı 4,5 milyon tondur, Almanya'da 2 milyon ton, Danimarka ve Hollanda'da ise 1'er milyon ton peyniraltı suyu elde edilmektedir. Peyniraltı suyu, içerdği değerli maddeler nedeniyle insan beslenmesi, özellikle hayvan beslenmesi açısından büyük önem taşır. Taze peyniraltı suyunun içilmesi terapötik ve diyetetik olarak tavsiye edilir [Yöney, 1997]. Peyniraltı suyu besicilikte önemlidir. Birçok ülkede domuz besiciliğinde geniş kullanım alanı bulmuştur. Tahıllarla karıştırılarak karışık yem olarak kullanılır.

Çizelge 2.3. Peyniraltı suyunun birleşimi

	Tatlı Peyniraltı Suyu	Ekşi Peyniraltı Suyu
Su	%93-94	%94-95
Kurumadde	%6-7	%5-6
Özgül Ağırlık	1,026 / 15C	1,024 – 1,025 / 15 C
Yağ	Iz halinde - %0,8	Iz halinde
Protein	%0,9	%0,9
Proteinin Isı ile Çöken Kısmı	%0,5	%0,6
Süt Şekeri	%4,5 – 5,0	%3,8 – 4,2
Süt Asidi	Iz halinde	%0,8 ve daha az
Asit Derecesi (SH°)	8'den az	12'nin üzerinde
H ⁺ Değeri	6,2 – 6,6	4,5 – 4,7
Minareller	%0,5 – 0,7	%0,7 – 0,8

Peyniraltı suyunda, genç havanların ihtiyaç duyduğu mineral maddelerin büyük kısmı vardır [Yöney, 1997].

2.8.1. Peyniraltı suyu ürünleri

Özellikle Almanya' da savaş yıllarında ve bunu takip eden yıllarda çekilen gıda eksikliği peyniraltı sudan çeşitli ürünlerin üretimini gerektirmiştir. Yapılan sayısız ürünler arasında maya, sirke, bira önemli yer tutmuştur. Ayrıca, ekmeğe üzerine sürülerek yenilen diğer ürünlerde yapılmıştır. Bugün artan hayat standartlarına bağlı olarak bu ürünlerden hiç biri ticari bir önem taşımamaktadır. İsviçrede' de uzun yıllar süren denemeden sonra, üretilen Rivella adındaki alkolsüz diyet içkisi üstün kalitesinden dolayı kullanılmaktadır [Yöney, 1997].

2.8.2. Peyniraltı suyu üzerinde yapılan araştırmalardan alınan sonuçlar

Hayvan Besinlerine Katılması

Peyniraltı suyunun ineklere verilerek süt bileşimi üzerine etkileri araştırılmıştır. Peyniraltı suyu ile beslenen ineklerin sütlerinde yağ %0,05, protein %0,13, kazein % 0,09 oranında artmış ve sütlerin peynir yapımında kullanımı ile olumlu sonuçlar elde edilmiştir [Yöney, 1997].

Sitrik asidin elde edilmesi

Peyniraltı suyunda *Aspergillus niger*' in üretilmesiyle %2,1-2,4 sitrik asidi elde edilir. 1 litre peyniraltı suyundan 8,3 g sitrik asidi üretildiği bildirilmiştir [Yöney, 1997].

Alkol retimi

Kluyveromyces fragilis, *K. marxianus* ve *Saccharomyces cerevisiae* gibi bazı mayaların peyniraltı suyunda laktozu kullanarak etanolün oluştuğu, bazı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Fermentasyonda pH ve sıcaklığın 30° C olduğunda *K .marxianus* kullanımı ile 1 litre peyniraltı suyundan 42,6 g etanol elde edilmiştir [Yöney, 1997].

Vitamin B 12 retimi

Propionibacterium shermanii suşunu kullanarak peyniraltı suyundan B12 vitamin üretildiği bildirmiştir. Optimal şartlarda, litrede 5 mg demir içeren kültür ortamında, mikroorganizmanın 5,2 mg/mL vitamin ürettiği gösterilmiştir [Yöney, 1997].

Çeşitli İçeceklerin Yapımı

Peyniraltı suyu ve ürünleri, değişik karakterli katkı maddelerinin ilavesiyle içeceklerin yapımında kullanılır [Yöney, 1997].

2.8.3. Peyniraltı suyu proteinlerinin değerlendirilmesi

Denatüre olmamış peyniraltı suyu proteini, koagulasyonu sağlama, köpük oluşturma gibi et ve hamurlu gıdalar endüstrisinde aranan özel fonksiyonlara sahiptir .

Modifiye edilmiş peynir altı suyu proteinini dondurmaların viskozitesini artırmada başarı ile kullandığını bildirmiştir [Yöney, 1997].

Konsantre peyniraltı suyu proteini, salata soslarının yapımında, hamur ve hamurlu gıdaların üretiminde başarıyla kullanılmıştır.

Peyniraltı suyu proteinin bal ile karıştırılmasından elde edilen konsantre ürün yaşlılar, sporcular ve hamilelik döneminde bulunanlar için son derece faydalı ve üretiminin kolay olduğunu bildirmiştir. Ayrıca konsantre peyniraltı suyunun peynirlerinin yapımında, dondurularak tüketilen sütlü tatlıların üretiminde yararlanmak mümkündür [Yöney, 1997].

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Materyal örnekleri

Araştırmada 5 adet laktik asit bakterisi kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Bakteriler Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı Kültür Koleksiyonundan temin edilmiştir.

Çizelge 3.1. Laktik asit bakterilerine ait suşların kodları

No	Bakteri
1	<i>Streptococcus thermophilus</i> W22
2	<i>Streptococcus thermophilus</i> T12
3	<i>Streptococcus thermophilus</i> T8
4	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> G12
5	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> B3

3.1.2. Bakterilerin aktifleştirilmesi

Çalışmada kullanılan tüm test bakterileri uygun sıvı besi ortamı ve sıcaklıkta 24 saat inkübe edilerek aktifleştirilmiştir. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* türüne ait suşlar için MRS sıvı besiyeri ve agarı [Man ve ark, 1960], *S. thermophilus* suşları için Elliker sıvı besiyeri ve agarı kullanılmıştır.

3.1.3. Araştırmada kullanılan besiortamları

MRS (Man Rogosa and Sharpe) Sıvı Besiortamı

<i>Maddeler</i>	<i>g/L</i>
Peptone	10,0
Beef Extract	10,0
Yeast Extract	5,0
Glucose	20,0
Tween 80	1,08 mL
K ₂ HPO ₄	2,0
Sodium Acetate.3 H ₂ O	5,0
Tri Amonium Citrate	2,0
MgSO ₄ .7 H ₂ O	0,2
MnSO ₄ .4 H ₂ O	0,05

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

Elliker Sıvı Besiortamı

<i>Maddeler</i>	<i>g/L</i>
Tryptone	20,0
Yeast Extract	5,0
Glucose	5,0
Sucrose	5,0
Lactose	5,0
Sodium Chloride	4,0

Sodium Acetate	1,0
Ascorbic Acid	0,5

Maddeler 1000 mL distile suya ilave edilmiştir. Besi ortamının pH' sı 0,01 N HCl ve 0,01 N NaOH' le $6,8 \pm 0,2$ 'ye ayarlanmıştır. Amaca uygun olacak şekilde besiyortamına %1,5 oranında agar ilave edilip katı besiyeri hazırlanmıştır. Besi ortamı $121 \text{ }^\circ\text{C}$ ' de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Bakterilerin muhafazası

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

3.2.2 Melas, peynir altı suyunda ve pancar suyunda EPS üretimlerinin belirlenmesi

Melas besiyerinin hazırlanması

Melas besiyerinin hazırlanması Pera and Callieri (1999)' nin metoduna göre gerçekleştirilmiştir.

1. Melas besiyeri %1-5 konsantrasyonlarında olacak şekilde suyla hazırlanmıştır.
2. Çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan melas $40 \text{ }^\circ\text{C}$ ' de 5 saat bekletilmiş, 2000 rpm/dk. 5 dk. santrifüj edilmiştir.

3. 0,5 M H₂SO₄ ilave edilerek pH=2,0' ye ayarlanmış, 100 °C' de 2 saat bekletilmiştir.
4. 3000 rpm/dk' da 15 dk santrifüj edilerek, süpernatant kısmı alınmış, MRS 'deki ve Elliker besiyerlerindeki karbon kaynakları çıkartılmıştır (MRS' den glukoz, Elliker' den glukoz, sükroz, laktoz) ve yerlerine % 1-5 oranında melas ilave edilmiştir.
5. Besiortamlarının pH' sı 6,0-6,5 ayarlanarak, 90 °C' de 20 dk otaklavlanmıştır.
6. Aktif kültürlerden hazırlanan besiortamına %1 oranında ekim yapılarak, 24 ve 48. saatlerdeki canlı hücre sayısı (cfu/mL), son kültür pH'sı ,EPS ve laktik asit üretimleri belirlenmiştir.

Melas' ta EPS üretimi

Lb. delbrueckii ssp. *bulgaricus* G12 ve B3 suşları ile *S. thermophilus* W22, T8 ve T12 suşlarının melas ortamında farklı sürelerde (24 ve 48. saat inkübasyonlarda) EPS üretimi belirlenmiştir.

Aktif *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşlarından 5 mL' lik MRS (kontrol), aktif *S. thermophilus* suşlarından 5 mL' lik Elliker (kontrol) %2 oranında ekim yapılmış, 42 °C' de 16-18 saat geliştirilmiştir

Lb. delbrueckii ssp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus* aktif kültürlerinin yoğunlukları 600 nm' de 1,1-2,1 OD arasında ayarlandıktan sonra, 25 mL' lik %1-5 melas, MRS ve Elliker besiortamlarına %1 oranında inoküle edilmiştir. Kültürler 42±1 °C' de 24. ve 48. saat inkübe edilerek, son kültür pH' ları belirlenmiştir. Örnekler 100 °C' de 10-15 dk kaynatılmış, oda sıcaklığına soğuyuncaya kadar bekletilmiştir. Örneklerden 1 mL alınarak üzerine %85' lik TCA' dan %0,17 oranında ilave edilmiş, 14 000 rpm' de 20 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant başka bir eppendorf tüplerine aktararak, üzerine eşit hacimde etanol ilave edilmiş, 14 000 rpm' de 20 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant elemine edilerek, ikinci etanol presipitasyonu 14 000 rpm' de 20

dk santrifüj ile yapılmış , pelletler 1 mL steril saf suda çözüldükten sonra fenol sülfirik asit metodu uygulanmıştır. Örneklerin üzerine 0,5 mL fenol, 5 mL sülfirik asit ilave edilmiş ve 10 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra iyice çalkalanarak, 25-30 °C' de 10-20 dk bekletilmiştir. 490 nm dalga boyunda (Jenway 6305 UV/VIS Spectrometer) iki paralelli olarak OD değerleri okunmuştur [Marshall ve Rawson, 1999]. Örneklerin sonuçları standart EPS' ye göre (mg/mL) hesaplanmıştır. Standart 1 mL steril saf suda çözülerek hazırlanan farklı konsantrasyonlardaki glukoz esas alınarak, fenol sülfirik asit metodu ile çıkarılmıştır.

Peynir altı suyunun hazırlanması

Peynir altı suyunun hazırlanması Raukas ve Katzekidov (1998)' nın metoduna göre gerçekleştirilmiştir.

1. Peynir altı suyu 90 °C' de 20 dk. bekletilmiş ve 4000 rpm/ dk 15 dk santrifüj edilmiştir.
2. Süpernatant kısmı 5N NaOH ile pH 6,0' ya ayarlanmış ve 121 °C' de 20 dk otoklavlanmıştır.
3. Hazırlanan PAS, EPS çalışmasında direk ve çeşitli maddelerle zenginleştirilerek (%0,4 yeast extract, % 0,02 pepton, %0,04 MgSO₄.7H₂O, %0,007 MnSO₄.4H₂O) 24 ve 48. saatlerdeki canlı hücre sayısı (cfu/mL) son kültür pH' sı, EPS ve laktik asit üretimleri belirlenmiştir.

Peynir altı suyunda EPS üretimi

Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus G12, B3 ve *S. thermophilus* W22, T8 ve T12 suşlarının katkısız ve katkı maddeli peynir altı suyunda EPS üretimleri 24 ve 48 saat inkübasyonlarda belirlenmiştir. Suşların bu ortamlarda EPS üretimleri daha önceden belirtilen melas ortamındaki gibi uygulanmıştır.

Pancar suyunun hazırlanması

Pancar suyu besiyerinin hazırlanması Pera and Callieri (1999)' nın metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Pancar suyu besiyerinin hazırlanması melas besiyerinin hazırlanması gibi gerçekleştirilmiştir. Aktif kültürlerden hazırlanan besiyerine %1 oranında ekim yapılarak 24. ve 48. saatlerdeki canlı hücre sayısı (cfu/mL), son kültür pH' ısı, EPS ve laktik asit üretimleri belirlenmiştir.

Pancar suyunda EPS üretimi

Lb. delbrueckii ssp. *bulgaricus* G12 ve B3 ve *S. thermophilus* W22, T8 ve T12 suşlarının %1-5 konsantrasyonlarındaki pancar suyunda farklı sürelerdeki (24 ve 48. saat) inkübasyonda EPS üretimleri belirlenmiştir. Suşların pancar suyunda EPS üretimleri daha önce açıklanan yöntemle göre belirlenmiştir.

Melas, PAS ve Pancar suyunda canlı hücre sayısının belirlenmesi

Bakterilerin melas, PAS ve Pancar suyunda, farklı sürelerde (24 ve 48 saat) EPS üretimleriyle birlikte hücre sayıları da belirlenmiştir. Bakterilerin hücre sayıları, melas besiyerlerinde, PAS ve Pancar suyu katı besiyerlerinde seyreltilen örneklerin ekimi ile gerçekleştirilmiştir.

Plaklar $42\pm 1^{\circ}\text{C}$ ' de 24 ve 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon bitiminde alınan örneklerden koloni sayımı yapılarak bakteri sayısı Log cfu/ mL olarak belirlenmiştir.

3.2.3. Laktik asit üretiminin belirlenmesi

Çalışmada kullanılan suşların laktik asit üretimleri Steinholt ve Calbert (1960) metoduna göre yapılmıştır. Aktif suşlar, 25 mL' lik %1-5 melas, %1-5 pancar suyu, peynir altı suyu ve zenginleştirilen peynir altı suyu besiyerlerine %1

oranında aşılılarak, 42 ± 1 °C' de 24 ve 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda suşların son kültür pH' ları pH metre cihazı (Metler TOLEDO) ile ölçülmüştür. pH' sı belirlenen örneklerin üzerine 10 mL A çözeltisi, 10 mL B çözeltisi ve 5 mL C çözeltisi ilave edilmiş ve her çözeltinin ilavesinden sonra magnetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Örnekler, Whatman-42 nolu filtre kağıdı ile süzülerek, süzülen kısımdan 1,5 mL alınıp, 100 mL' ye distile su ile tamamlanmıştır. Çözelti iyice karıştırıldıktan sonra, 10 mL alınıp, 1 mL renk ayırıcı indikatörü konularak, vorteksde karıştırılmış ve 5 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. Berrak sarı renkte olan örnekler, 400 nm dalga boyunda (Jenway 6105 U.V/VIS) Spektrofotometrede OD (Optikal Yoğunluk) değerleri ölçümü ve bu değerler standarda göre hesaplanmıştır.

Laktik asit miktarının tespitinde kullanılan çözeltiler

A çözeltisi= 98,75 g $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılarak distile su ile 1 L' ye tamamlanmıştır.

B çözeltisi= 0,66 N NaOH hazırlanmıştır.

C çözeltisi= 225 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ tartılarak 1 L distile suda çözülmüştür.

D çözeltisi= 5 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 12,5 mL 1N HCl asit içerisinde çözümlü, distile su ile 100 mL' ye tamamlanmıştır.

Renk Ayırıcı= D çözeltisi distile su ile 1/5 oranında her denemede taze olarak hazırlanmıştır.

Laktik asit standartının hazırlanışı

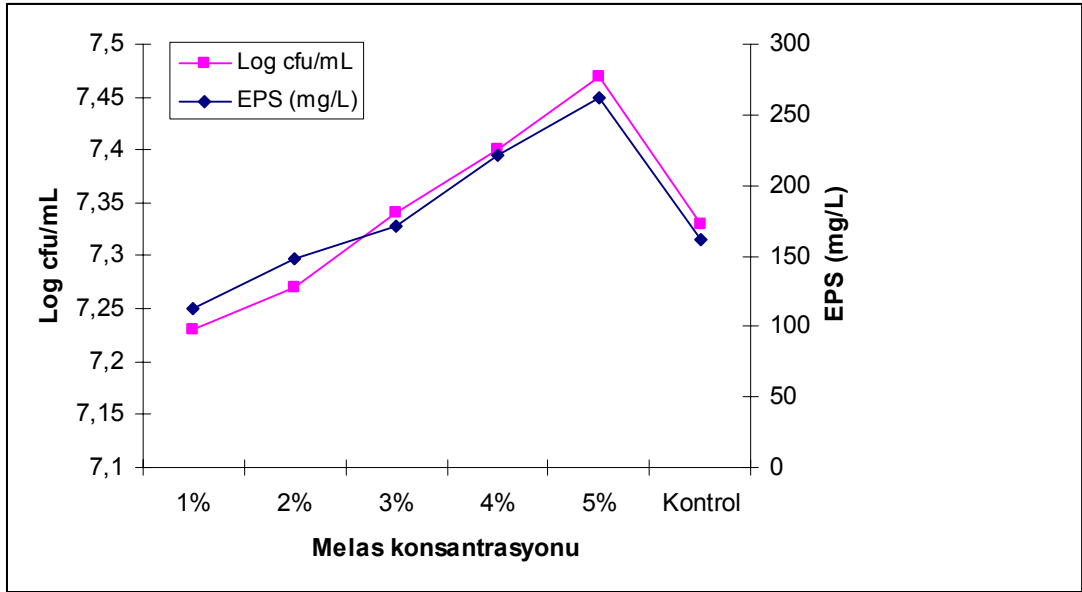
1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 mg/mL olacak şekilde saf laktik asitten, 25 mL' lik steril MRS sıvı besi ortamlarına ilave edilerek, açıklanan metodda olduğu gibi işlemler yapıp, örneklerin OD değerler okunmuştur. Bu değerlere göre standart kurve çıkarılarak, 1 mg/mL laktik asitin optikal yoğunluk değeri bulunmuştur.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

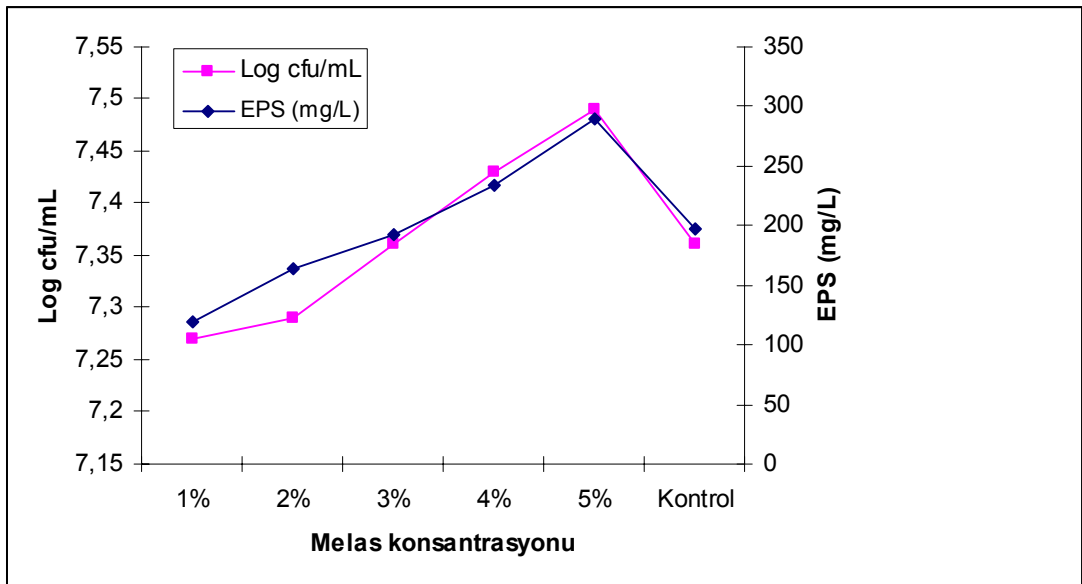
4.1. *Lactobacillus* ve *Streptococcus* cinslerine ait türlerin oluşturduğu metabolik ürünler

4.1.1. Melasta EPS üretiminin belirlenmesi

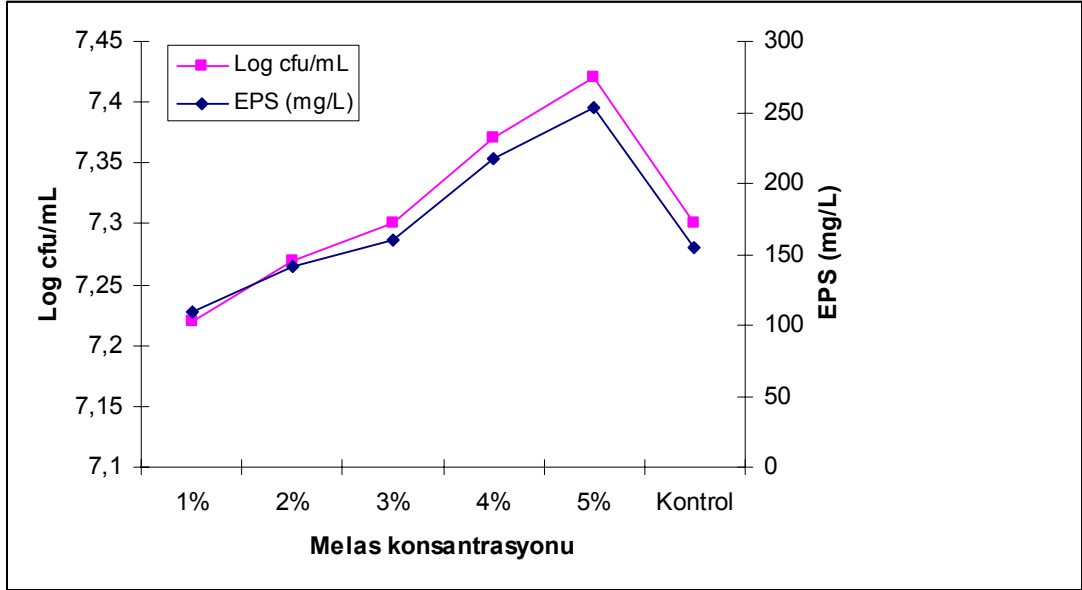
Lb. delbrueckii ssp. *bulgaricus* G12, B3 ve *S. thermophilus* W22, T8 ve T12 suşlarının melas konsantrasyonlarında pH, canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri belirlenmiştir. Suşların farklı melas konsantrasyonlarında (%1-5) ve farklı sürelerde (24 ve 48. saat) ürettikleri EPS miktarları Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1- Şekil 4.10' de gösterilmiştir. Melas besiyortamında melas konsantrasyonu ve sürenin artışına paralel olarak suşların ürettiği EPS miktarında artış gözlenirken, son kültür pH' sında bir azalma tespit edilmiştir. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşları arasında en yüksek EPS üretimi B3 suşunda %5 melas konsantrasyonunda, 48.saat inkübasyonunda gerçekleştirmiştir. Bu ortamın son kültür pH' sı 5,04 ve EPS miktarı 290 mg/L olarak belirlenmiştir. *S. thermophilus* suşları arasında en yüksek EPS üretimi W22 suşunda % 5 melas konsantrasyonunda 48. saat inkübasyonunda 276 mg/L olarak bulunmuştur. Bu ortamın son kültür pH' sı 4,48' de tespit edilmiştir. Her iki cins bakteri türlerinde de melas konsantrasyonunun artışı ile birlikte hücre gelişimlerinde de bir artışın olduğu gözlenmiştir. Tüm suşlar %3, 4 ve 5 melas konsantrasyonlarında kontrol besiyortamlarına kıyasla daha fazla EPS ürettikleri bulunmuştur.



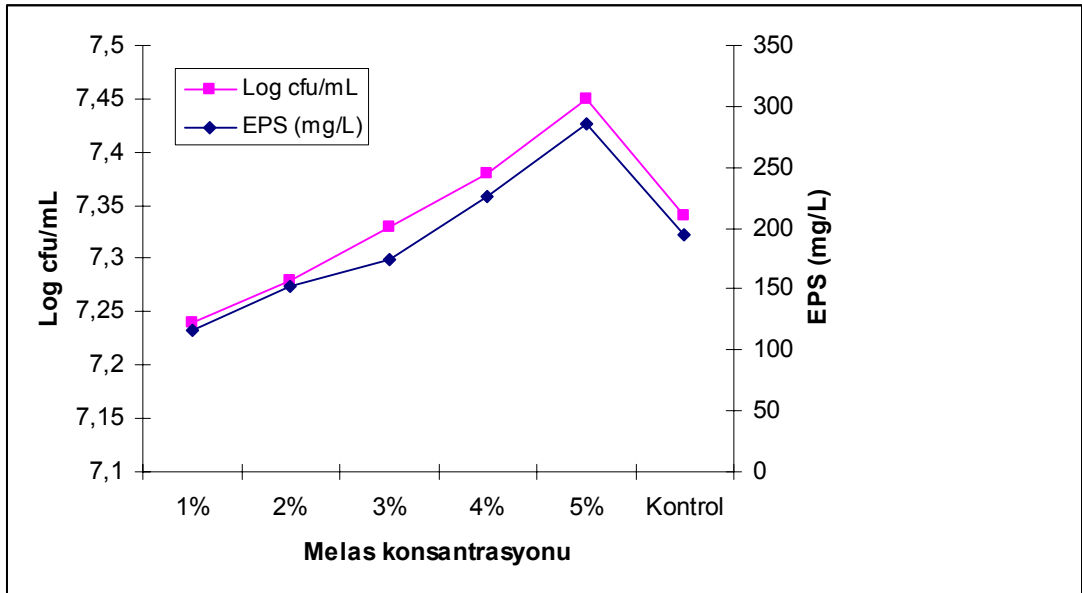
Şekil 4.1. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B3 suşunun 24. saatte farklı melas konsantrasyonlarında canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



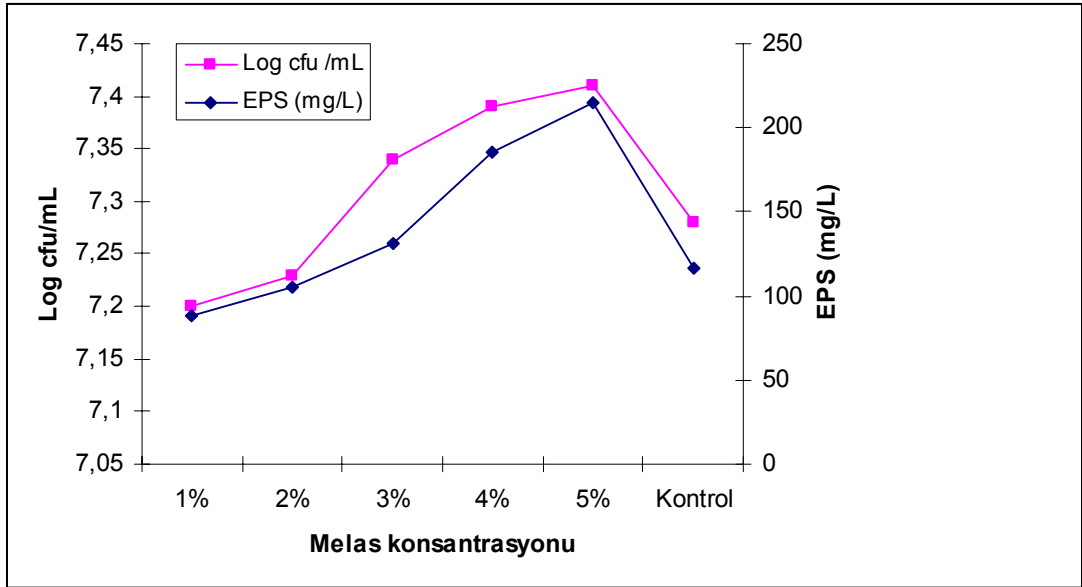
Şekil 4.2. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B3 suşunun 48. saatte farklı melas konsantrasyonlarında canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



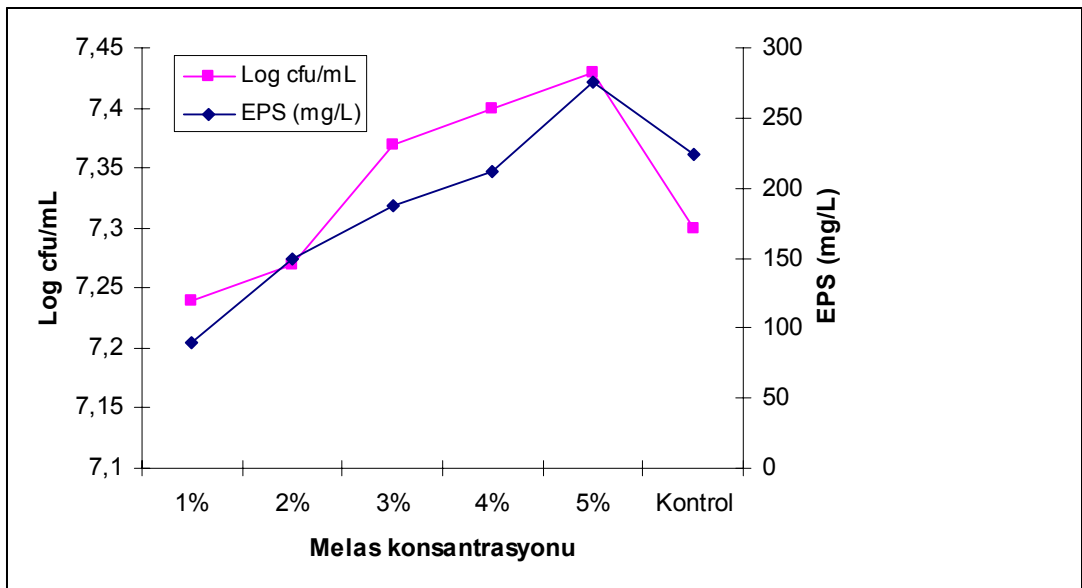
Şekil 4.3. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* G12 suşunun 24. saatte farklı melas konsantrasyonlarında canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



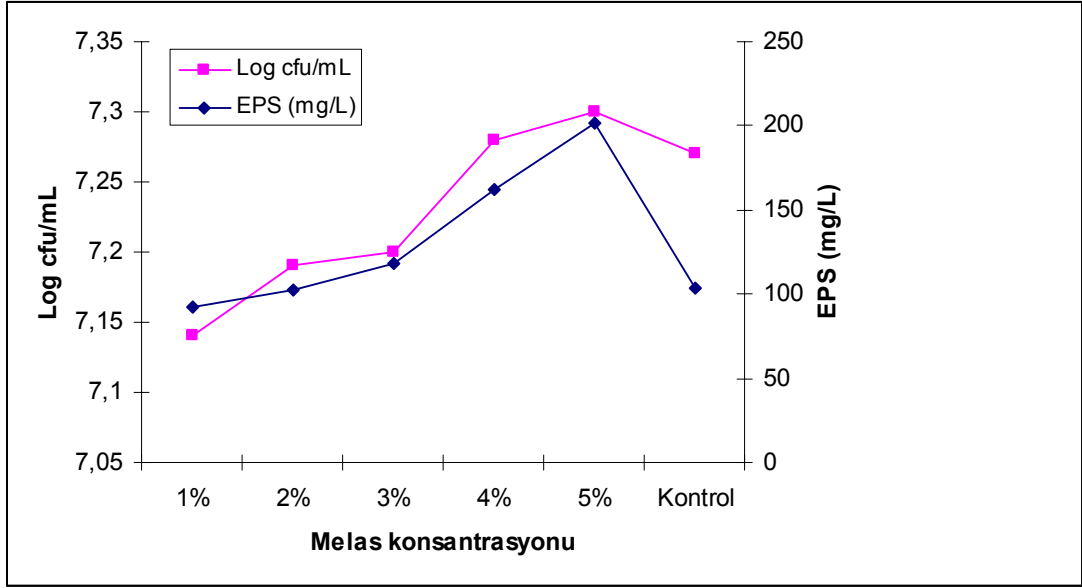
Şekil 4.4. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* G12 suşunun 48. saatte farklı melas konsantrasyonlarında canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



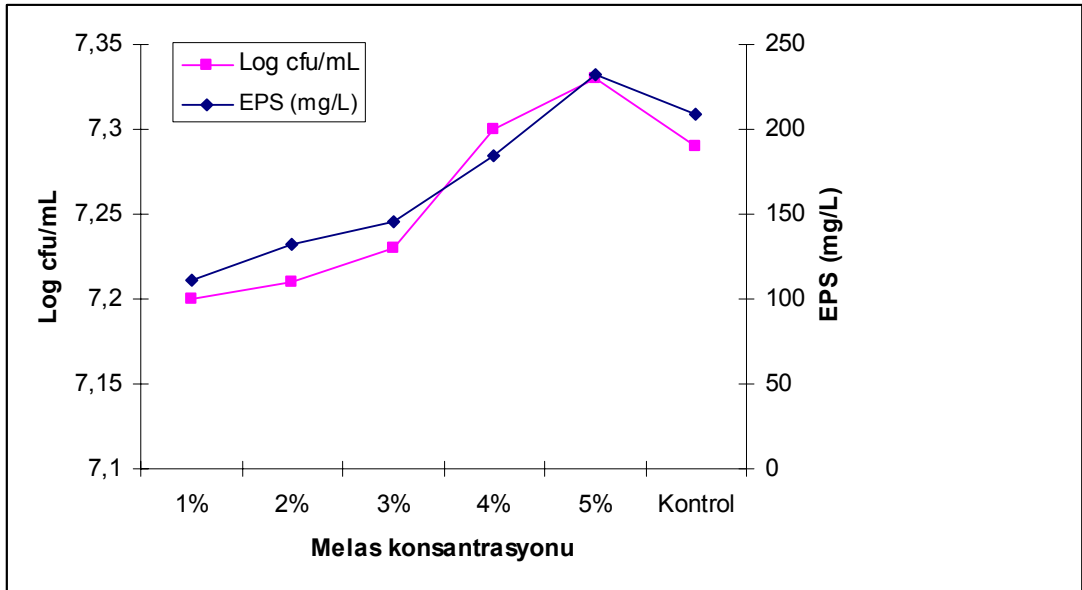
Şekil 4.5. *S. thermophilus* W22 suşunun 24. saatte farklı melas konsantrasyonlarında canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



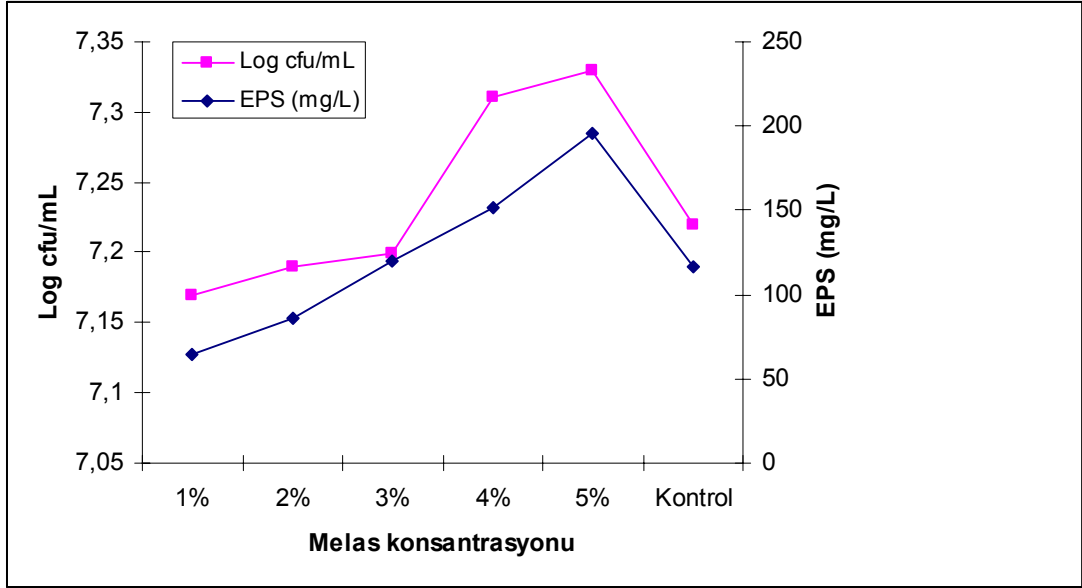
Şekil 4.6. *S. thermophilus* W22 suşunun 48. saatte farklı melas konsantrasyonlarında canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



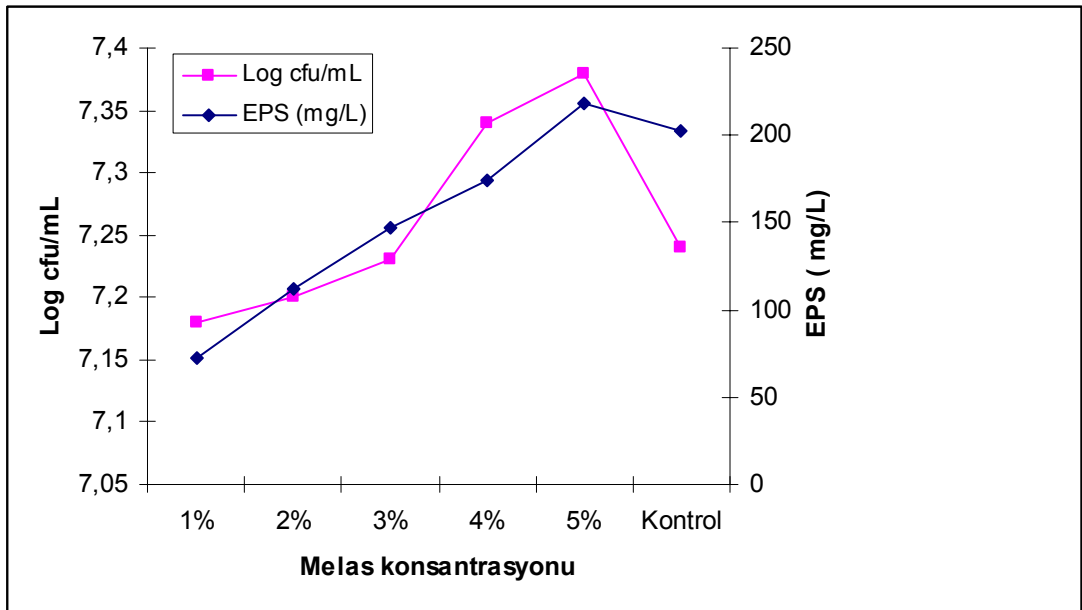
Şekil 4.7. *S. thermophilus* T12 suşunun 24. saatte farklı melas konsantrasyonlarında canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



Şekil 4.8. *S. thermophilus* T12 suşunun 48. saatte farklı melas konsantrasyonlarında canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



Şekil 4.9. *S. thermophilus* T8 suşunun 24. saatte farklı melas konsantrasyonlarında canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri



Şekil 4.10. *S. thermophilus* T8 suşunun 48. saatte farklı melas konsantrasyonlarında canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.

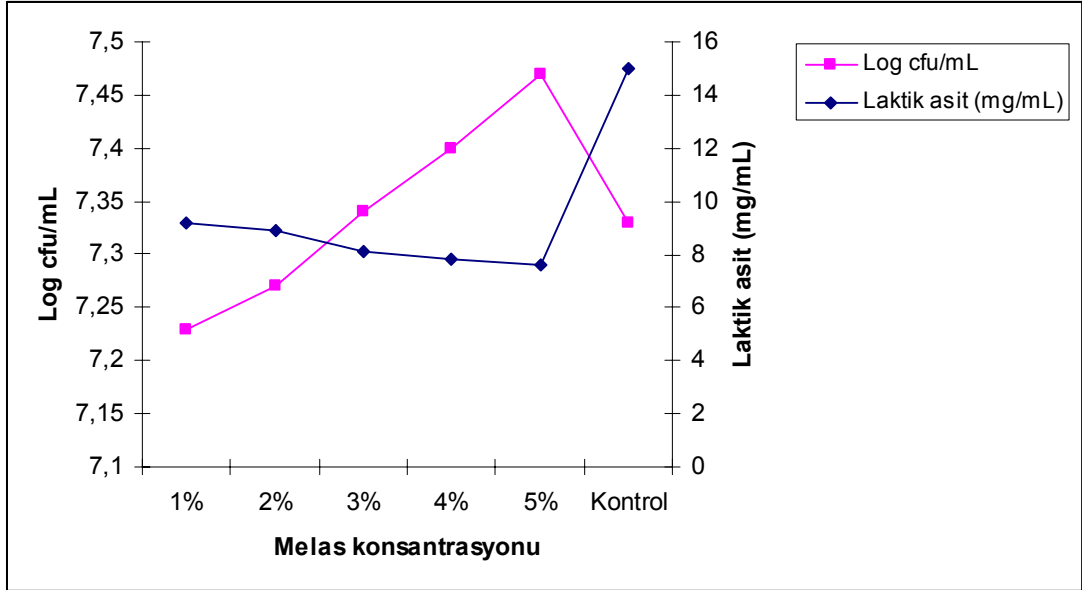
4.1.2. Melasta laktik asit üretiminin belirlenmesi

Çalışmada *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* G12, B3 ile *S. thermophilus* W22, T8 ve T12 suşlarının farklı melas konsantrasyonlarında ve farklı sürelerde (24 ve 48 saat) ürettikleri laktik asit miktarları belirlenmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2, Şekil 4.11-4.20).

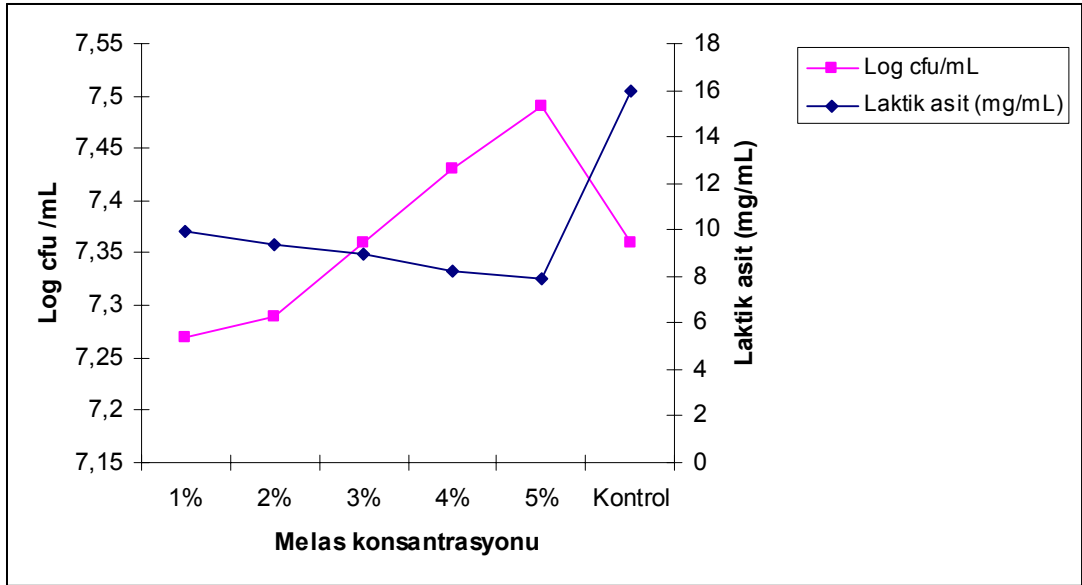
Melas besiortamında melas konsantrasyonun artışına paralel olarak suşların ürettiği laktik asit miktarında azalma ve son kültür pH'ında artış gözlenmiştir.

Lb. delbrueckii ssp. *bulgaricus* suşları arasında en yüksek 10,1 mg/mL laktik asit üretimi G12 suşunda %1 melas konsantrasyonunda tesbit edilmiştir. Kültür ortamının pH'ı 4,23 olarak belirlenmiştir. *S. thermophilus* W22 suşunda en yüksek laktik asit üretimi 48. saat sonunda %1 melas konsantrasyonunda 8,8 mg/mL olarak belirlenmiştir. Bu kültür ortamının pH'ı 4,27 olarak bulunmuştur.

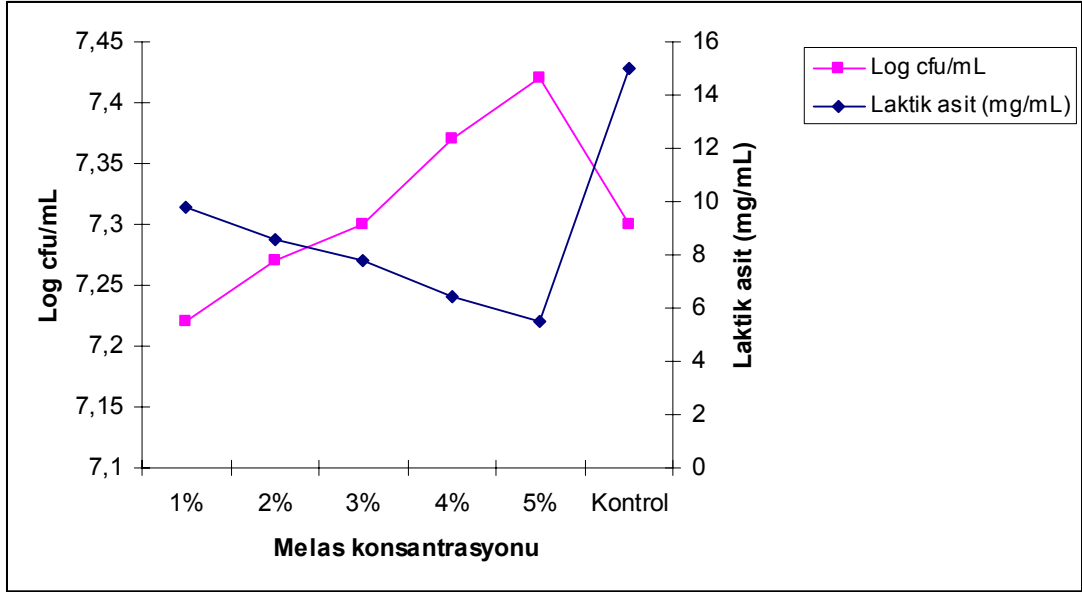
Tüm suşların 48. saat inkübasyonlarında laktik asit üretimleri 24. saat kültürlerine göre arttığı gözlenirken, son kültür pH'larında ise düşüş gözlenmiştir Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2. Kültürlerin kontrol besiortamlarında laktik asit üretimleri melas ortamlarına kıyasla daha yüksek bulunmuştur.



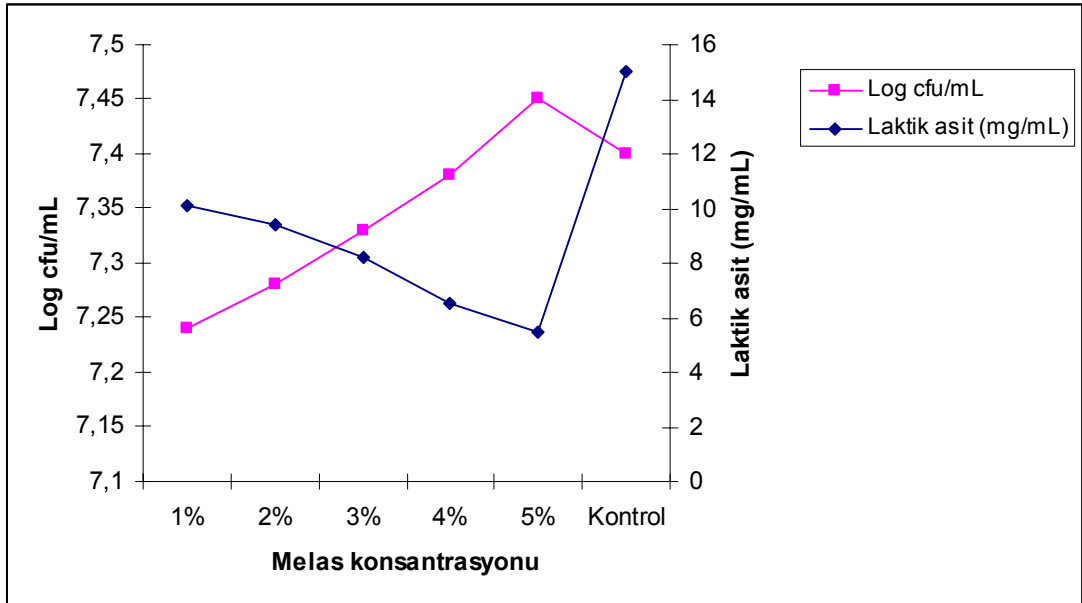
Şekil 4.11. *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* B3 suşunun melas ortamlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



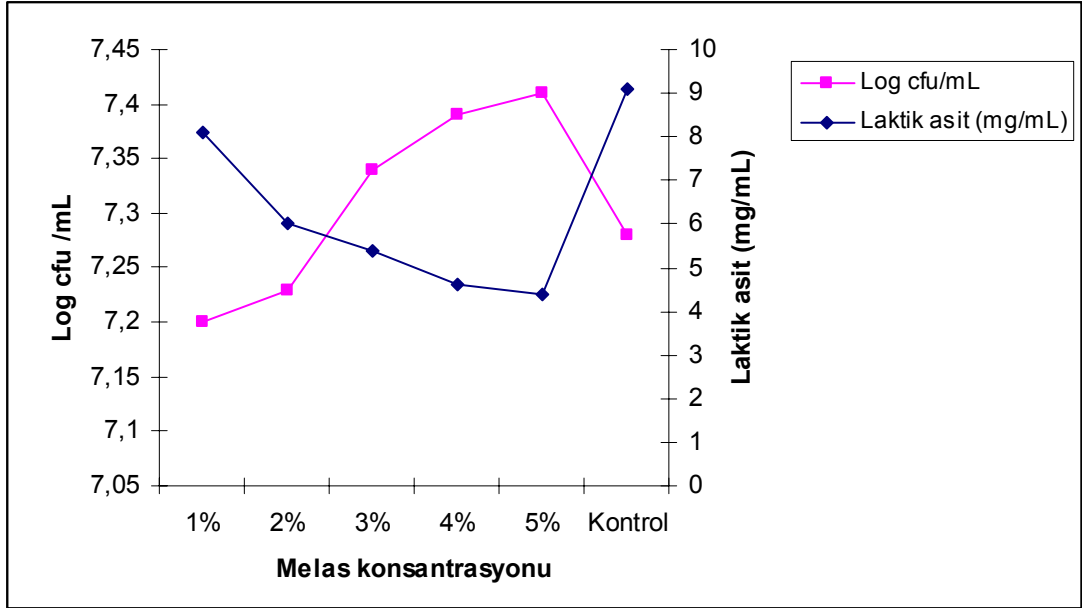
Şekil 4.12. *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* B3 suşunun melas ortamlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



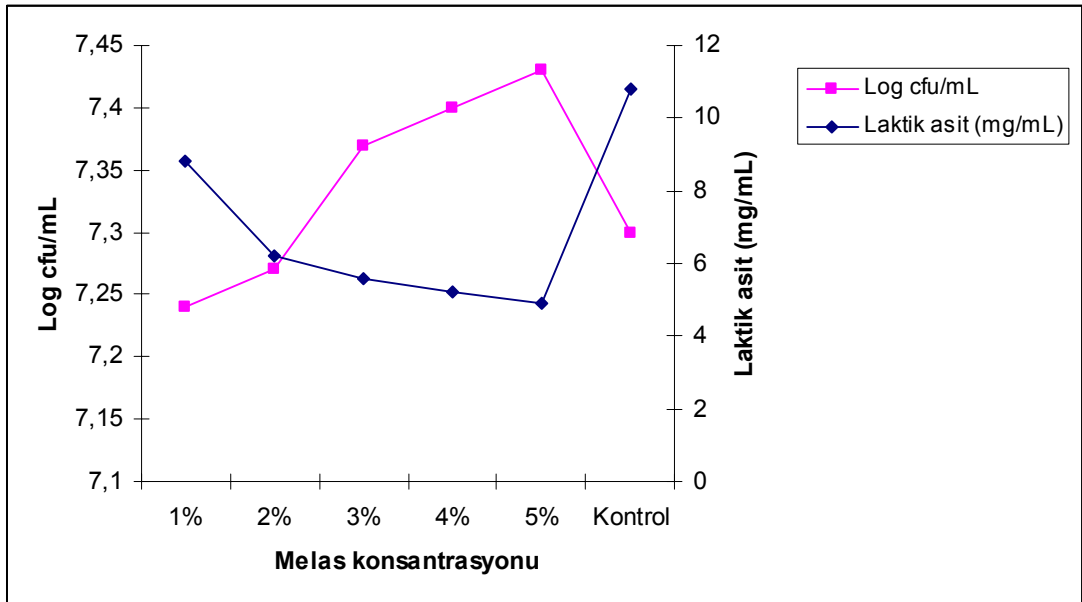
Şekil 4.13. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* G12 suşunun melas ortamlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



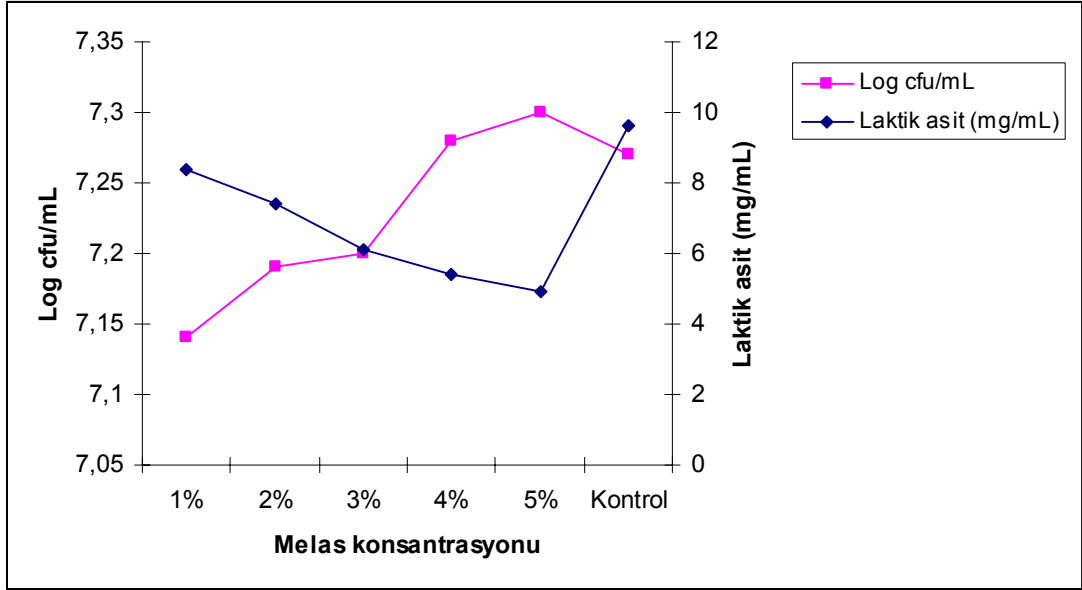
Şekil 4.14. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* G12 suşunu melas ortamlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



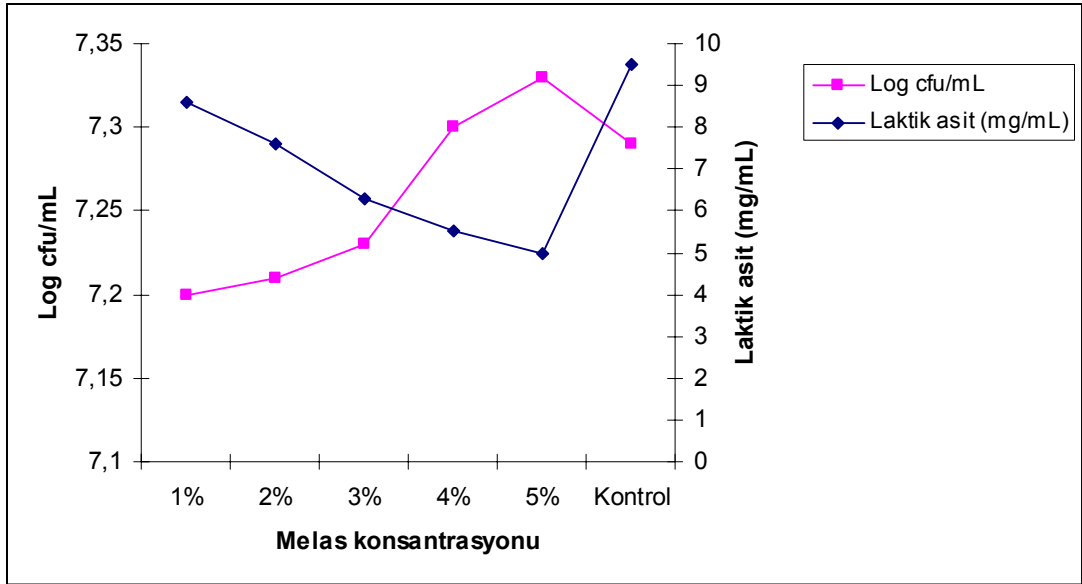
Şekil 4.15. *S. thermophilus* W22 suşunun melas ortamlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



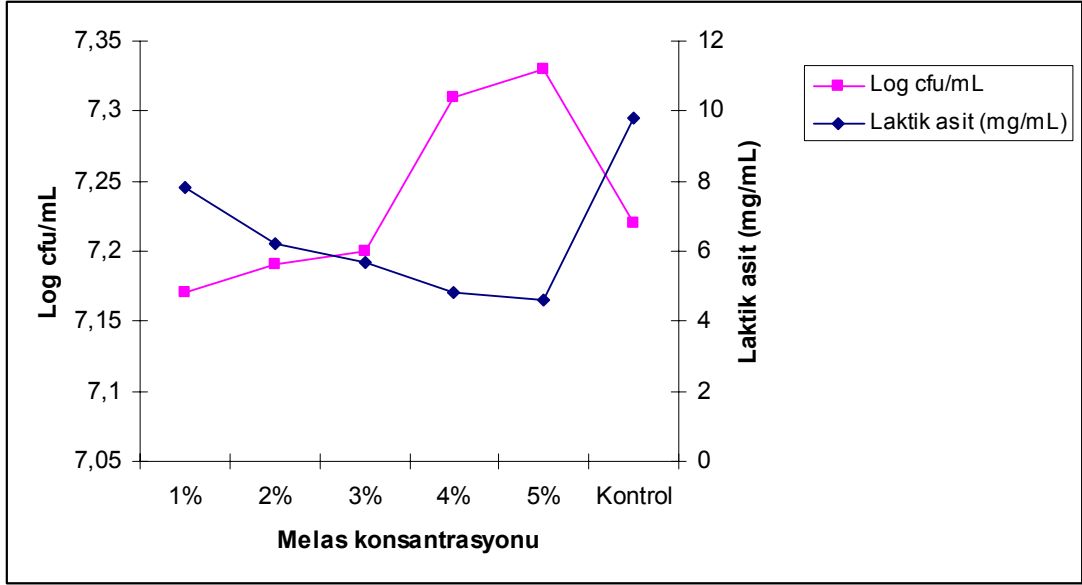
Şekil 4.16. *S. thermophilus* W22 suşunun melas ortamlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



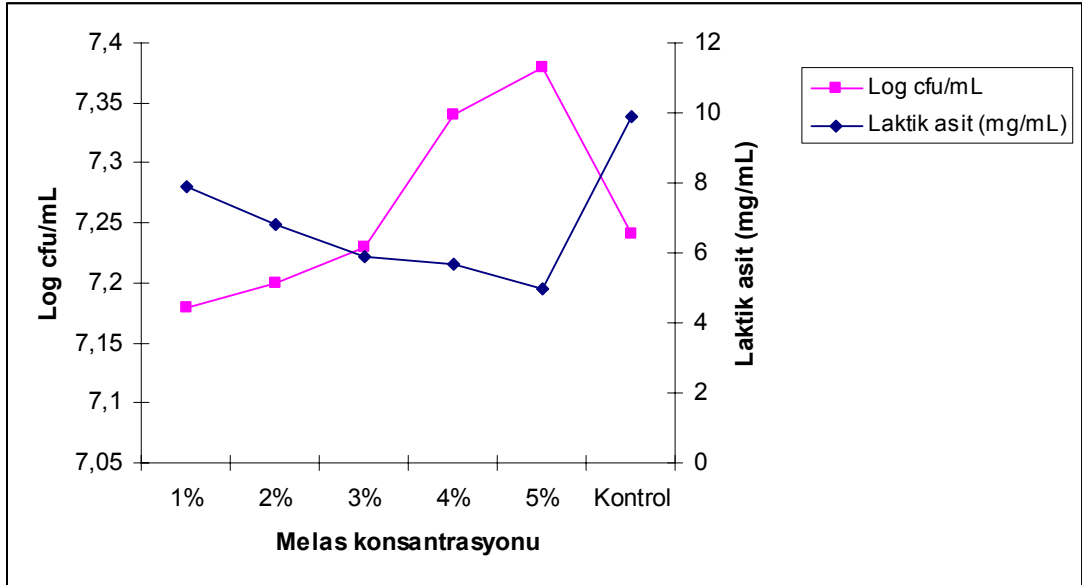
Şekil 4.17. *S. thermophilus* T12 suşunun melas ortamlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



Şekil 4.18. *S. thermophilus* T12 suşunun melas ortamlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



Şekil 4.19. *S. thermophilus* T8 suşunun melas ortamlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.

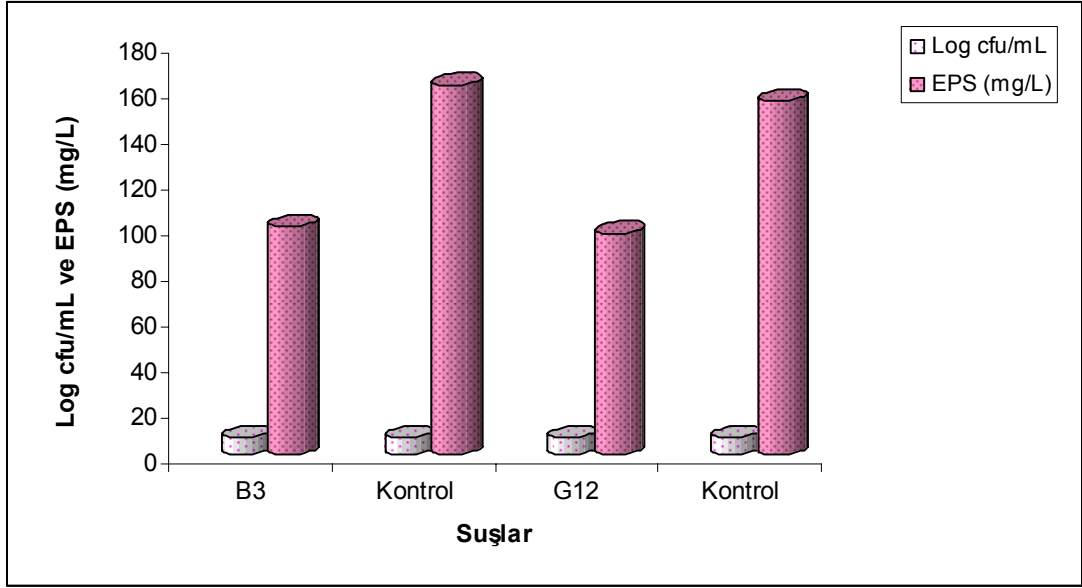


Şekil 4.20. *S. thermophilus* T8 suşunun melas ortamlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.

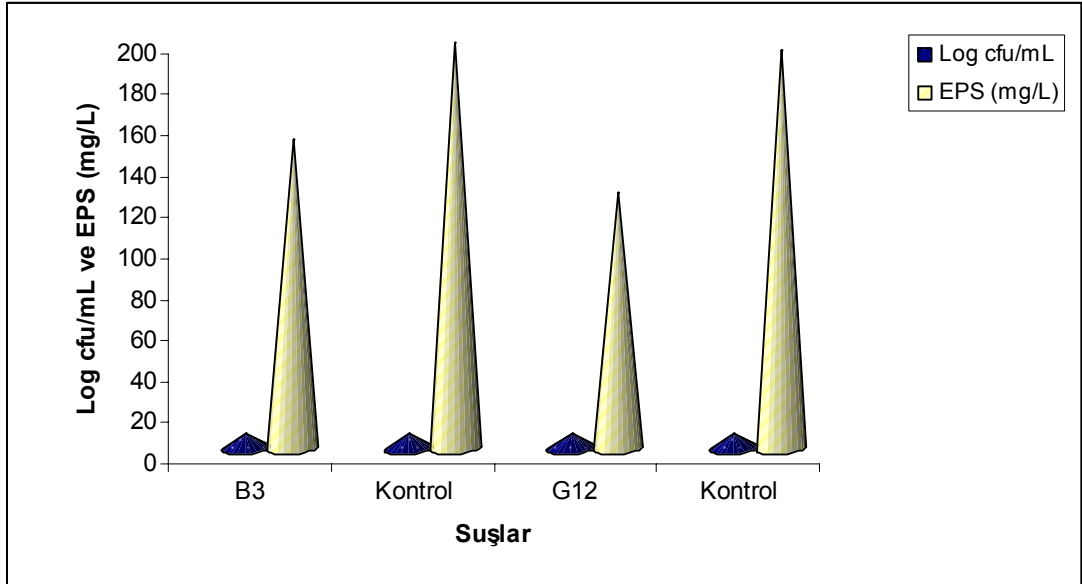
4.1.3. Peyniraltı suyunda EPS üretimleri

Çalışmada kullanılan suşların PAS' da ürettikleri EPS miktarı Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4, Şekil 4.21- Şekil 4.24' de gösterilmiştir. En yüksek EPS üretimi 48. saatte *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B3 suşunda 151 mg/L, *S. thermophilus* W22 suşunda 118 mg/L olarak belirlenmiştir.

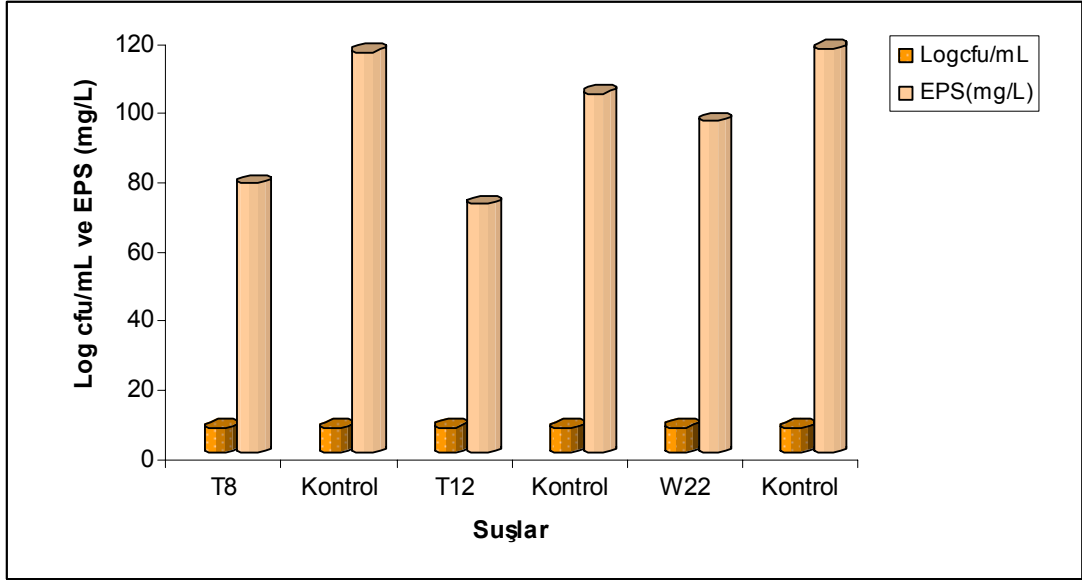
Peynir altı suyun'a çeşitli maddelerin ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$, Yeast extract, Pepton) ilavesiyle ile yapılan zenginleştirme çalışmalarında suşların EPS üretimleri ve hücre gelişimlerinde farklılık belirlenmiştir (Şekil 4.25-4.28). PAS' a madde ilave edildiğinde bakteri gelişiminde artış belirlenmiştir. Buna paralel olarakda tüm suşlarda EPS üretiminde de artış tespit edilmiştir. PAS + katkı madde ortamında suşların 48. saatte ürettikleri EPS miktarı, 24. saate miktarlarına kıyasla arttığı ve son kültür pH' larında azalma tespit edilmiştir. Peynir altı suyuna katkı madde ilave edildiğinde suşların ürettiği EPS miktarları normal PAS' ye kıyasla dikkate değer bir artış gözlenmiştir. Zenginleştirilmiş ortamda en yüksek EPS üretimi *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B3 suşunda 48. saat inkübasyonunda (pH 4,34)' de 232 mg/L EPS üretirken, *S. thermophilus* suşları arasında ise W22 suşunda (pH 4,38)' de EPS üretimi 172 mg/L olarak tespit edilmiştir. Ortama ilave edilen katkı maddelerin EPS üretimini arttırırken, inkübasyon süresindeki artışında EPS üretimini arttırmıştır.



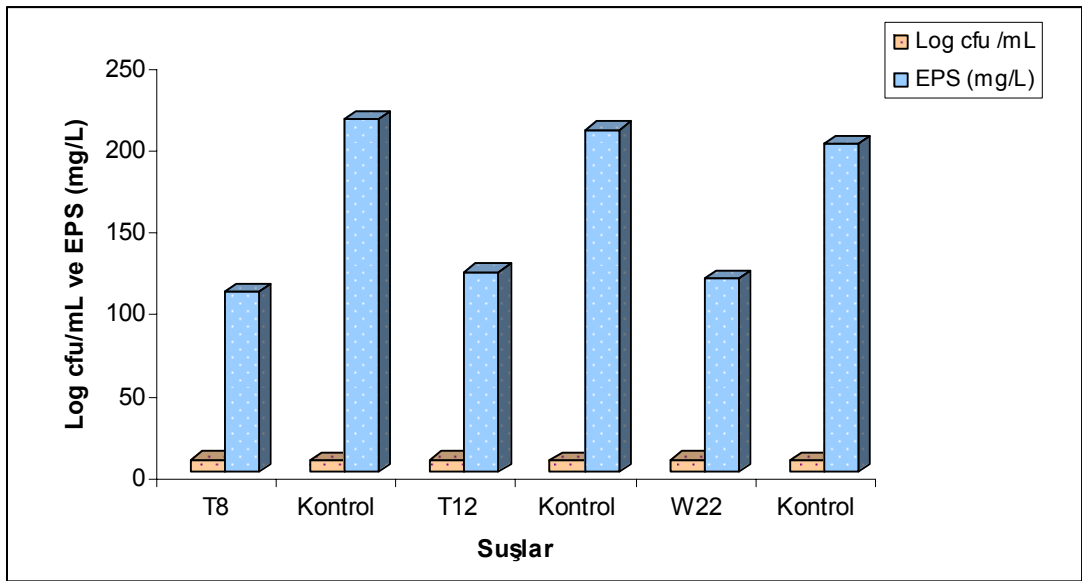
Şekil 4. 21. *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* suşlarının peynir altı suyunda 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



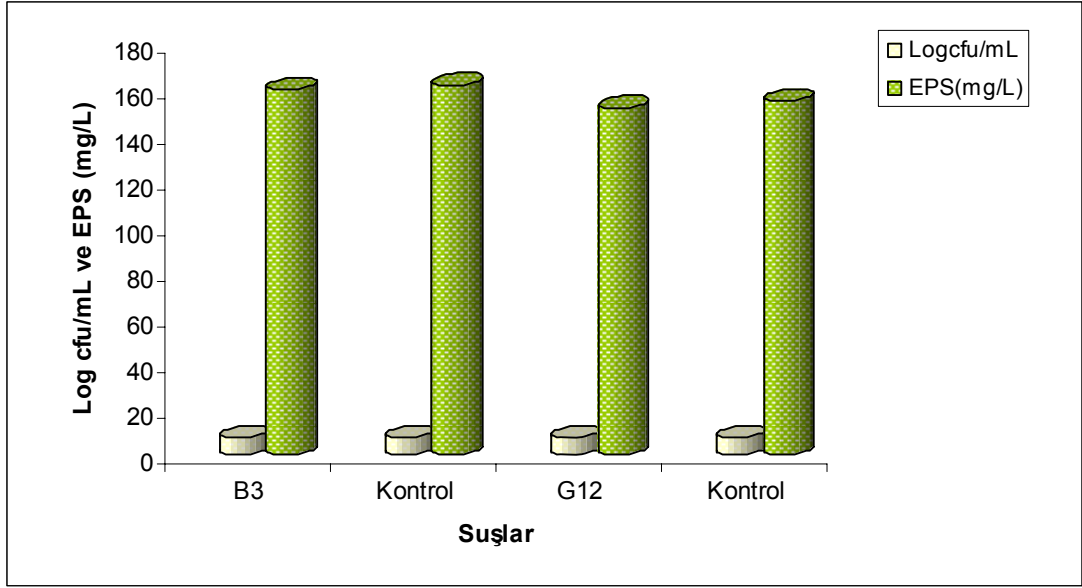
Şekil 4. 22. *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* suşlarının peynir altı suyunda 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



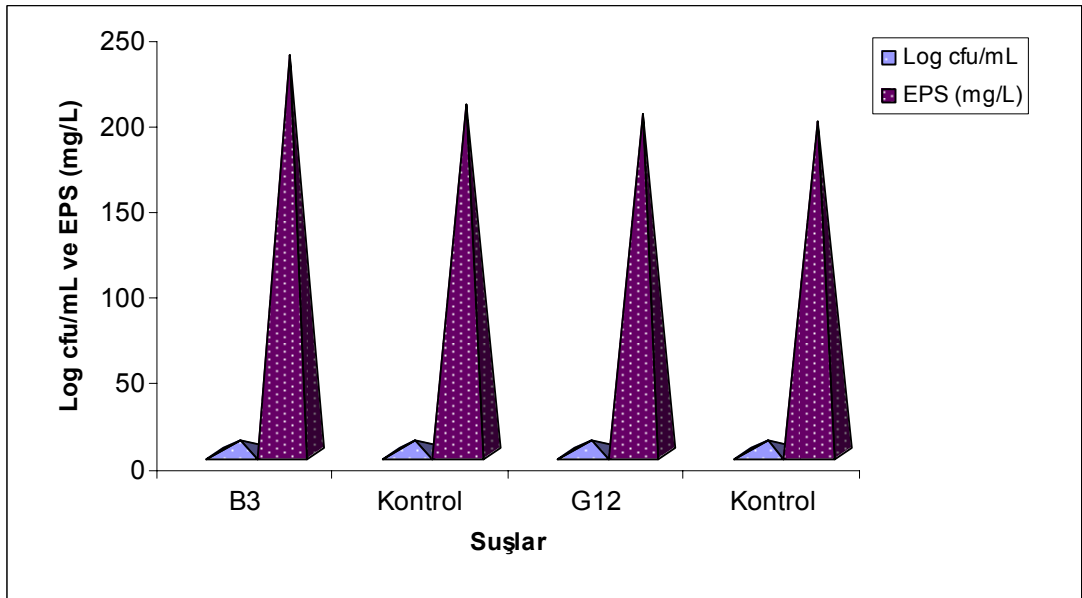
Şekil 4.23. *S. thermophilus* suşlarının peynir altı suyunda 24. saat inkübas yönünde canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



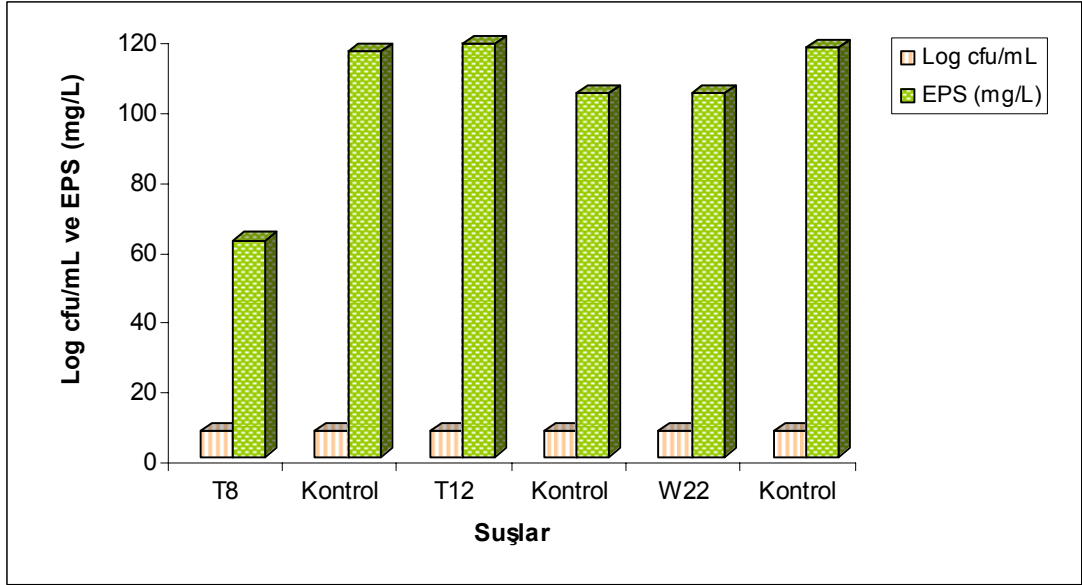
Şekil 4.24. *S. thermophilus* suşlarının peynir altı suyunda 48. saat inkübas yönünde canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



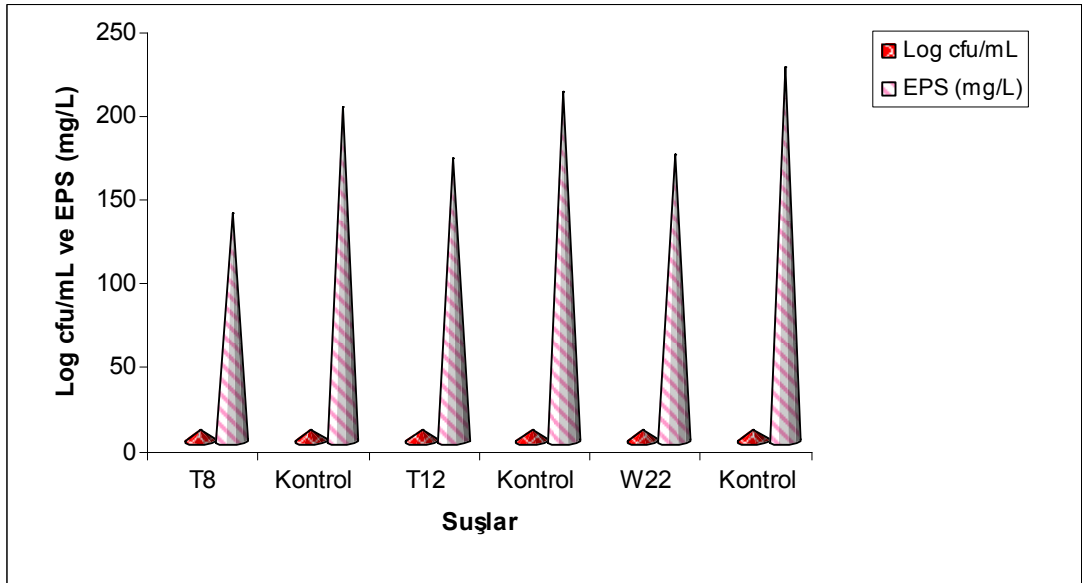
Şekil 4.25. *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* suşlarının madde ilaveli peynir altı suyunda 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



Şekil 4.26. *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* suşlarının madde ilaveli peynir altı suyunda 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



Şekil 4.27. *S. thermophilus* suşlarının madde ilaveli peynir altı suyunda 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.

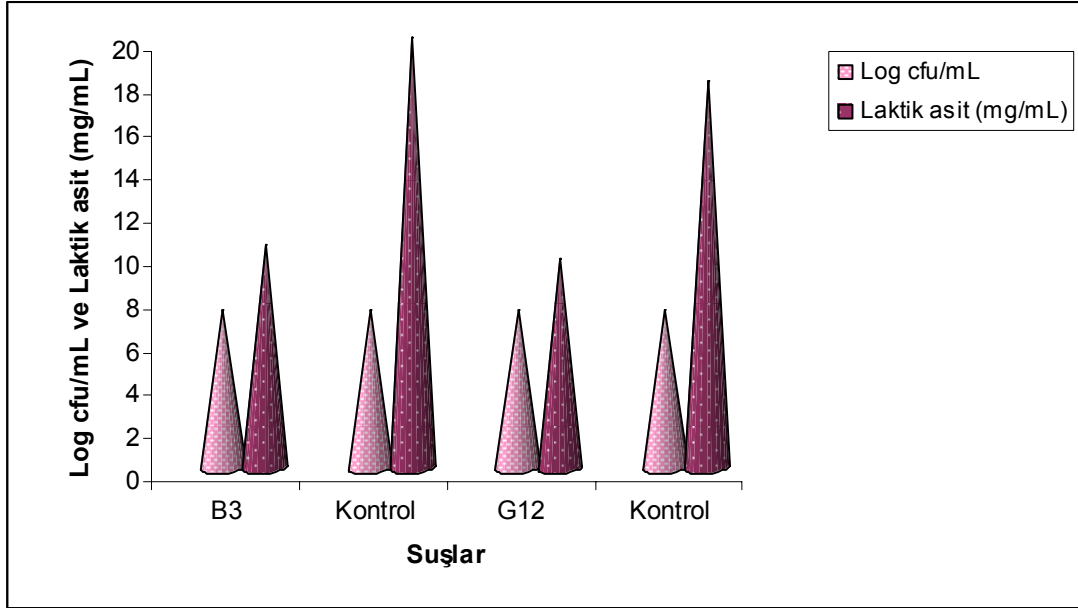


Şekil 4.28. *S. thermophilus* suşlarının madde ilaveli peynir altı suyunda 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.

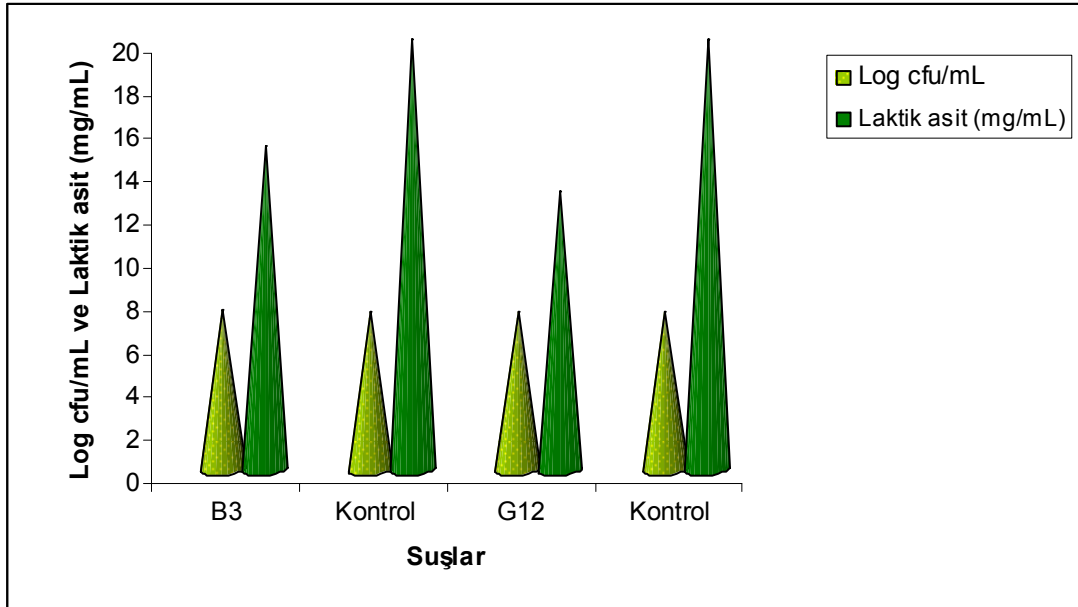
4.1.4. Peynir altı suyunda laktik asit üretiminin belirlenmesi

Suşların PAS' da ürettikleri laktik asit miktarları Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4, Şekil 4.29- Şekil 4.32' de gösterilmiştir. En yüksek laktik asit üretimi *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B3 suşunda 48. saat inkübasyonunda 15,0 mg/mL (pH 4.40) tesbit edilirken, *S. thermophilus* W22 suşunda (pH 4,21) 7,9 mg/mL olarak belirlenmiştir.

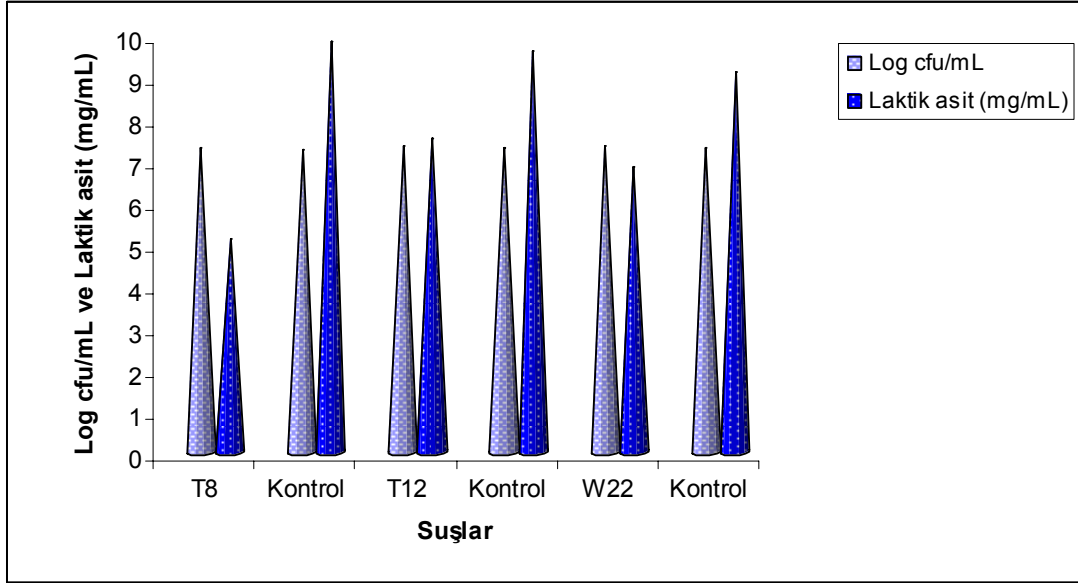
PAS' a farklı katkı maddelerin ilavesiyle zenginleştirilen besiortamlarında suşların laktik asit üretimleri ve hücre gelişimlerinde farklılık belirlenmiştir (Çizelge 4.3 ve 4.4, Şekil 4.23-4.36). Tüm suşlarda laktik asit üretiminde artış tespit edilmiştir. PAS + katkı madde ortamında suşların 48. saatte ürettikleri laktik asit miktarında 24. saate kıyasla artış gözlenirken, son kültür pH' larında azalma gözlenmiştir (Çizelge 4.3 ve 4.4). PAS' a katkı madde ilave edildiğinde suşların ürettiği laktik asit miktarları normal PAS' ya göre dikkate değer bir artış tesbit edilmiştir. Zenginleştirilmiş ortamda en yüksek laktik asit üretimi *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B3 suşunda 48. saat inkübasyonunda (pH 4,37)' de 15,4 mg/mL belirlenirken, *S. thermophilus* W22 suşunda (pH 4,25) 9,6 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Suşlar tarafından üretilen laktik asit miktarları katkılı ve katkısız peyniraltı suyunda, kontrol besiortamlarına göre azalma göstermiştir.



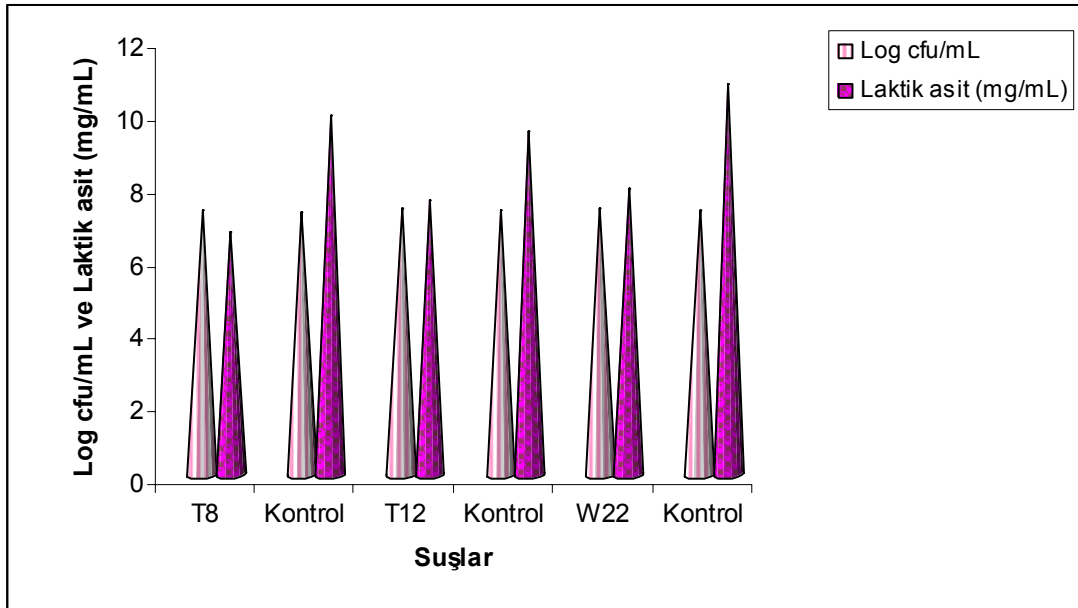
Şekil 4.29. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşlarının peyniraltı suyunda 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayısı (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



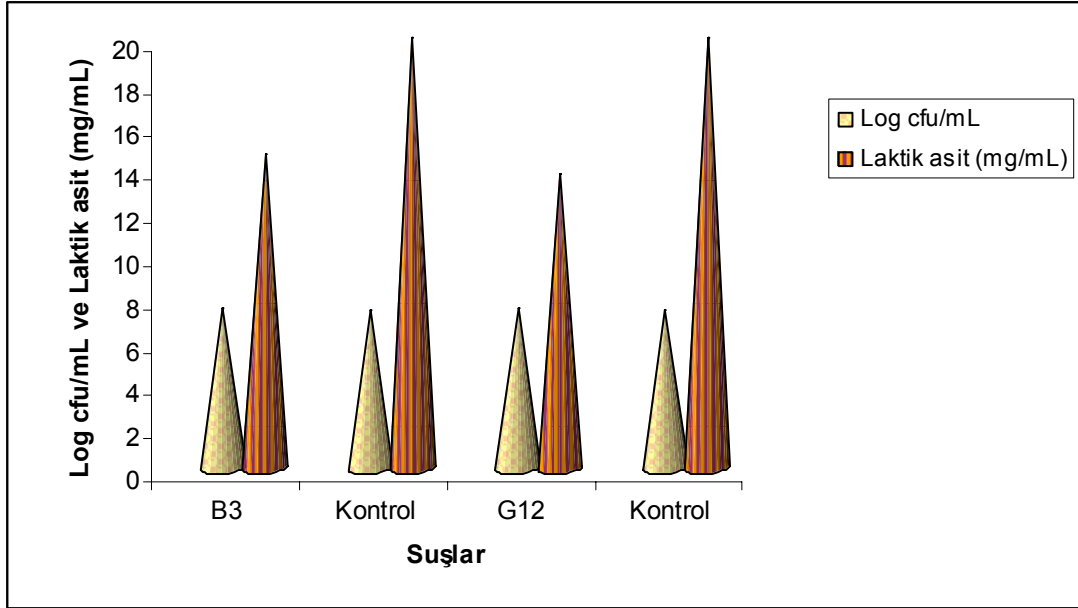
Şekil 4.30. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşlarının peyniraltı suyunda 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayısı (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



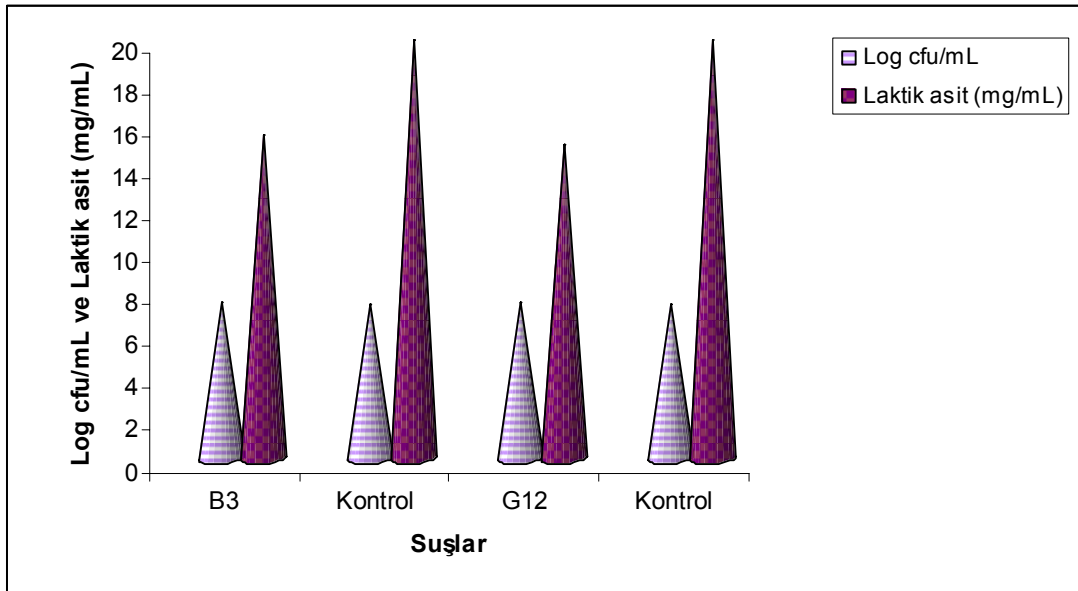
Şekil 4.31. *S. thermophilus* suşlarının peynir altı suyunda 24. saat inkübas yönünde canlı hücre sayısı (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



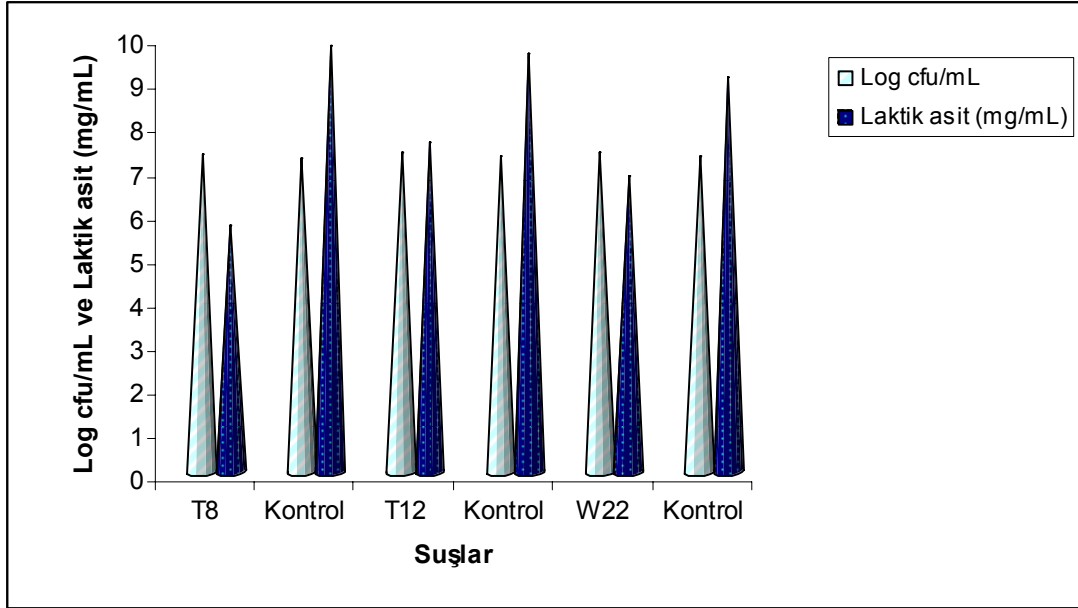
Şekil 4.32. *S. thermophilus* suşlarının peynir altı suyunda 48. saat inkübas yönünde canlı hücre sayısı (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



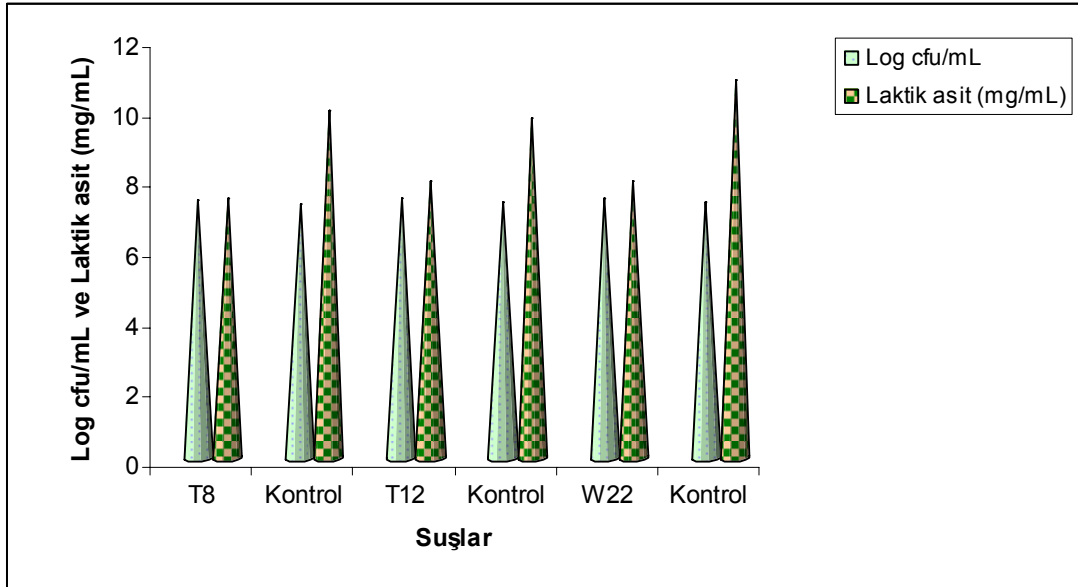
Şekil 4.33. *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* suşlarının madde ilaveli peynir altı suyunda 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayısı (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



Şekil 4.34. *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* suşlarının madde ilaveli peynir altı suyunda 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayısı (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



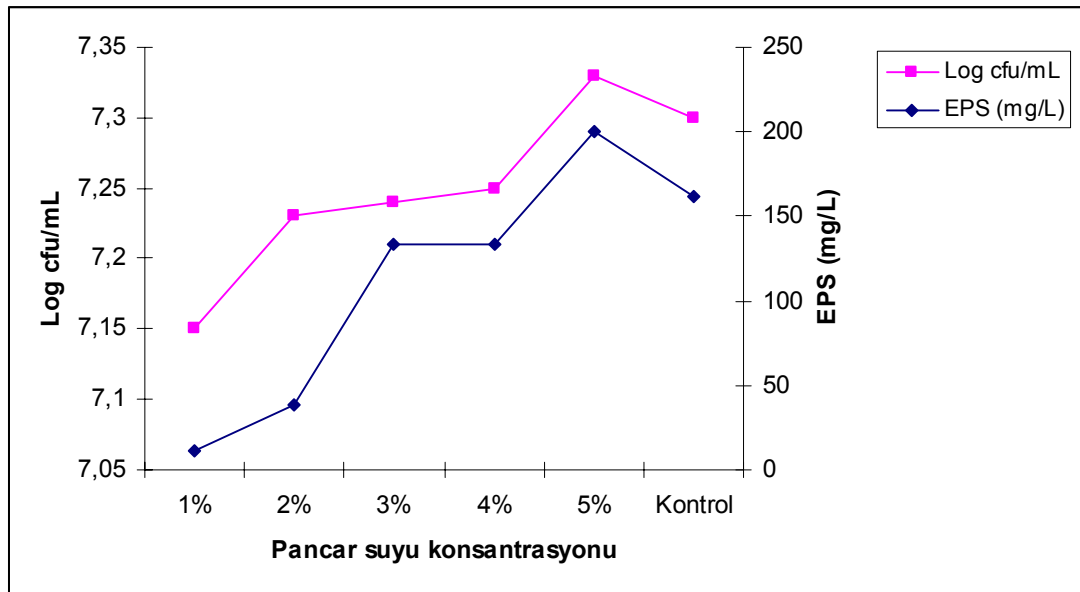
Şekil 4.35. *S. thermophilus* suşlarının madde ilaveli peynir altı suyunda 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayısı (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



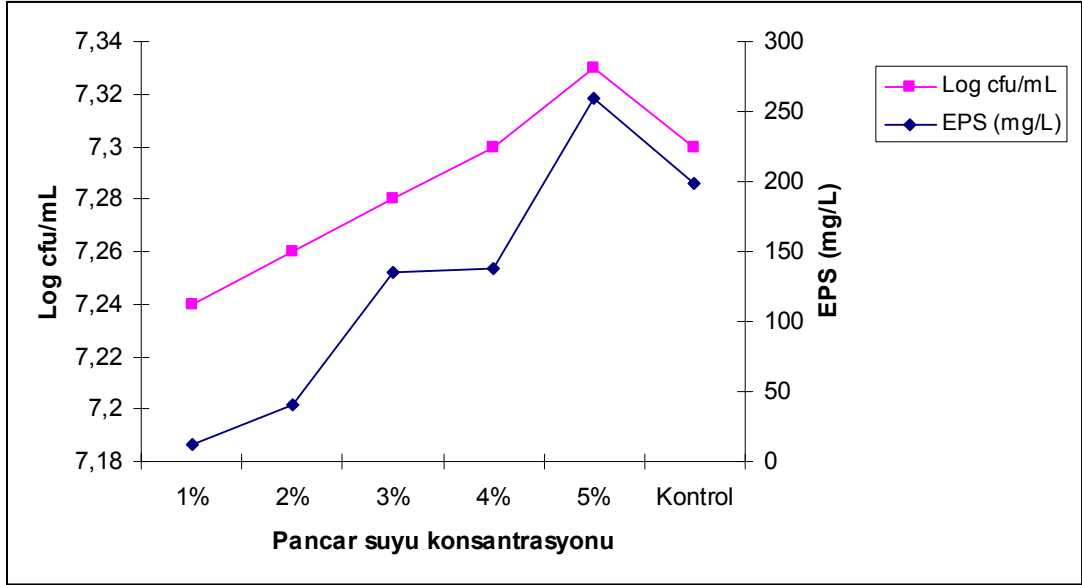
Şekil 4.36. *S. thermophilus* suşlarının madde ilaveli peynir altı suyunda 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayısı (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.

4.1.5. Pancar suyunda EPS üretiminin belirlenmesi

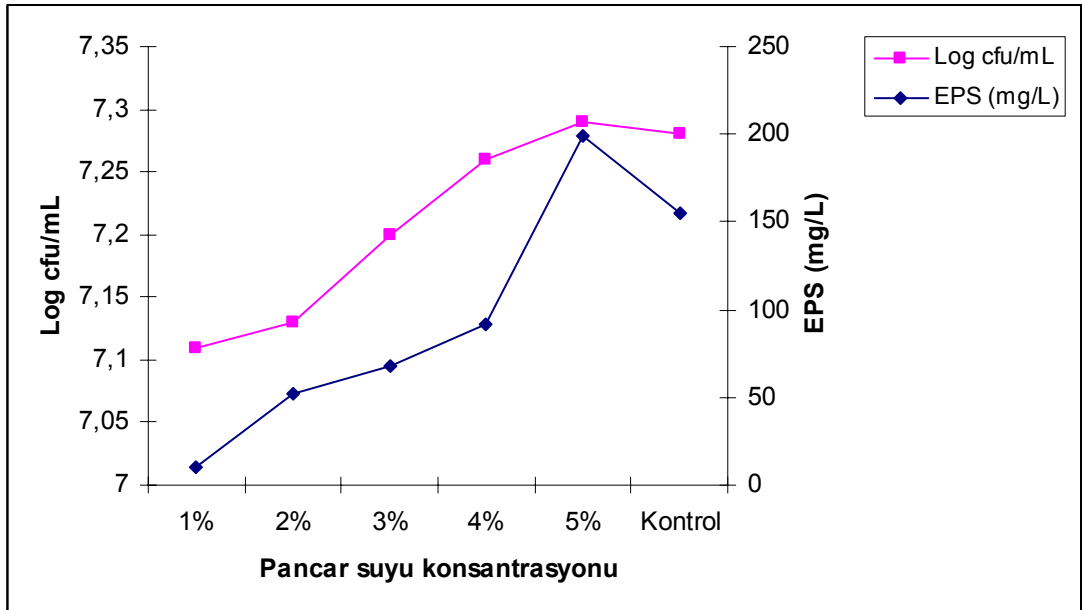
Çalışmada kullanılan suşların farklı pancar suyu konsantrasyonlarında (%1-5) ve farklı sürelerde (24 ve 48. saat) ürettikleri EPS miktarları Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6, Şekil 4.37- Şekil 4.46' da gösterilmiştir. Pancar suyu besiyortamında pancar konsantrasyonun ve sürenin artışına paralel olarak suşların ürettiği EPS miktarında ve hücre sayılarında artış gözlenirken, son kültür pH' larda azalma tespit edilmiştir. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşları arasında en yüksek EPS üretimi B3 suşu %5 pancar suyu konsantrasyonunda, 48.saat inkübasyonunda 260 mg/L olarak belirlenmiştir. *S. thermophilus* suşları arasında ise en yüksek EPS üretimi W22 suşunda 160 mg/L, % 5 pancar suyu konsantrasyonunda 48. saat inkübasyonunda gerçekleşmiştir.



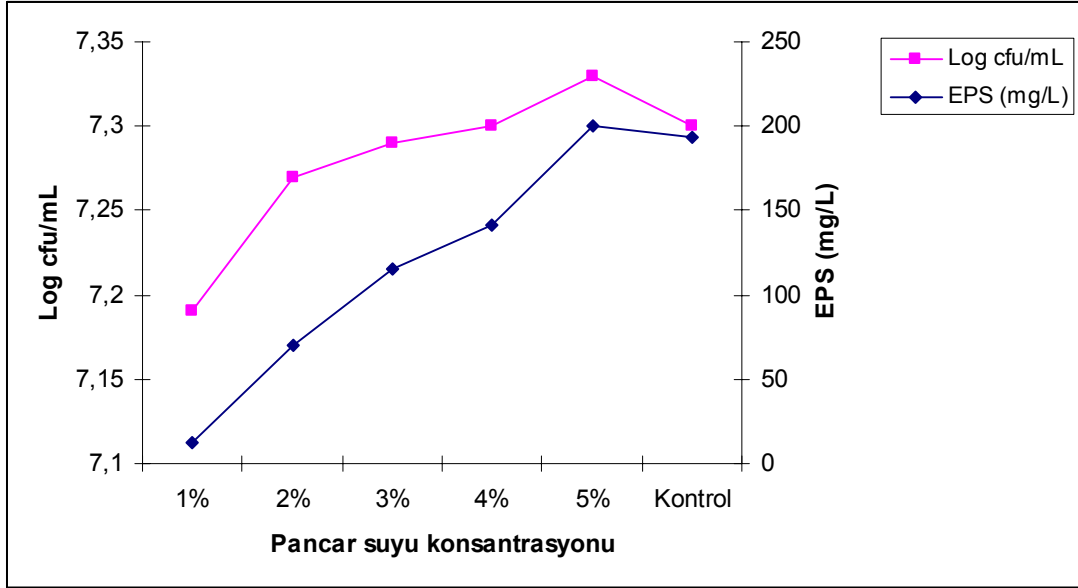
Şekil 4.37. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B3 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



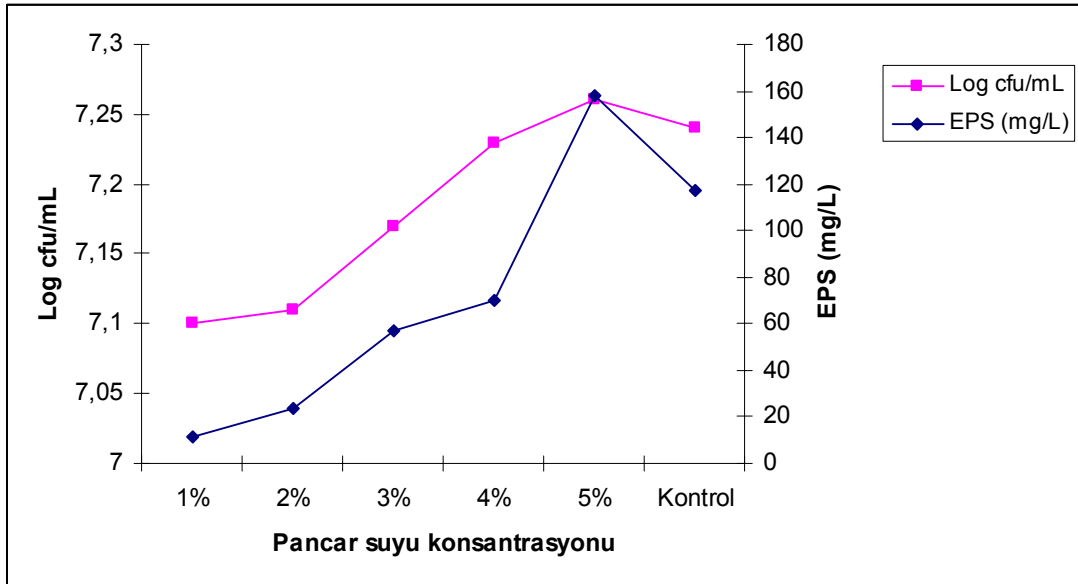
Şekil 4.38. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B3 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sa yıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



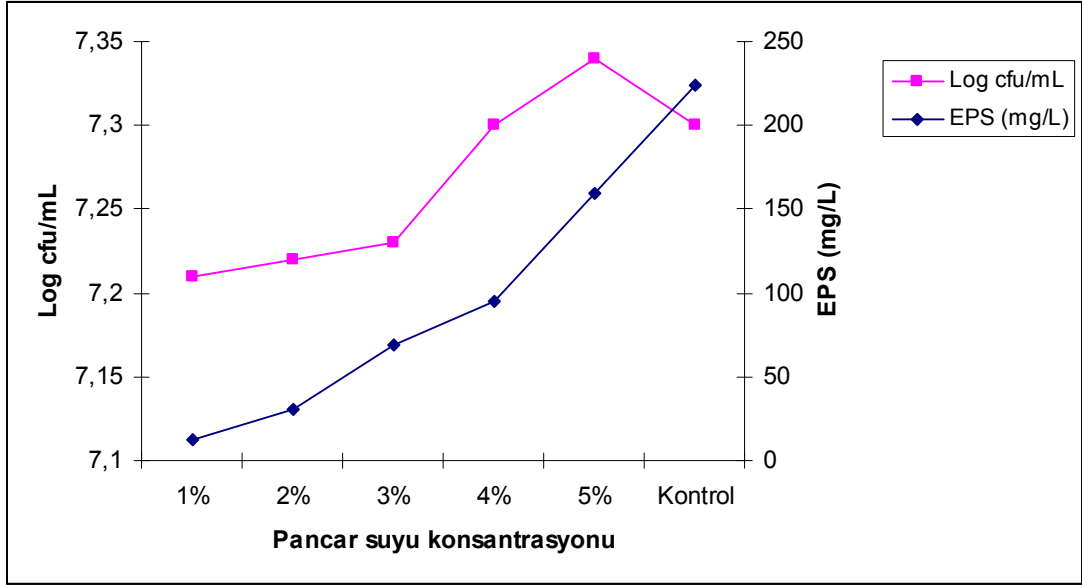
Şekil 4.39. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* G12 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sa yıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



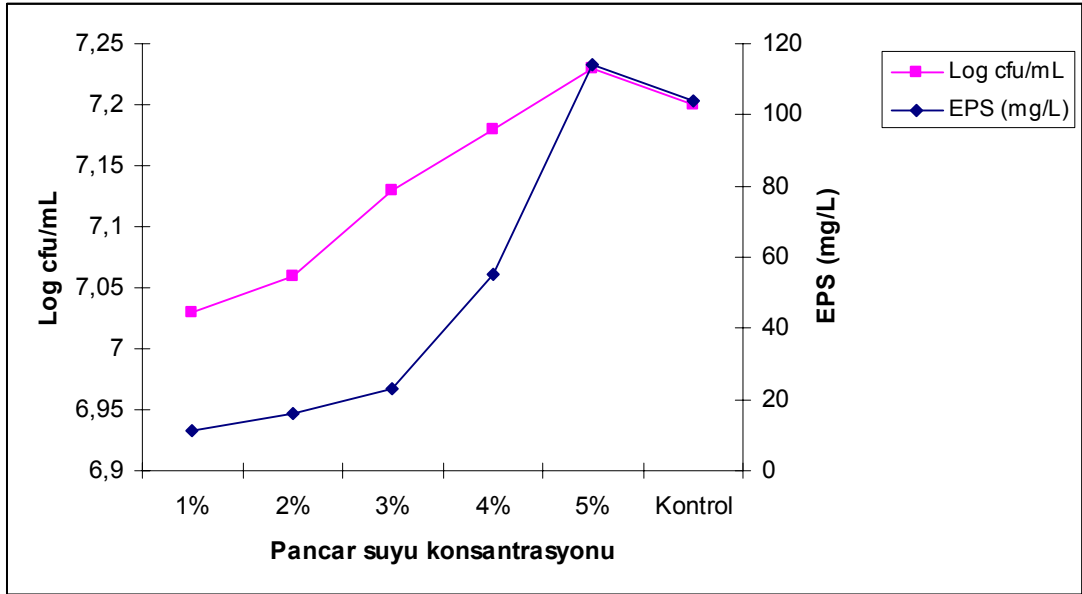
Şekil 4.40. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* G12 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



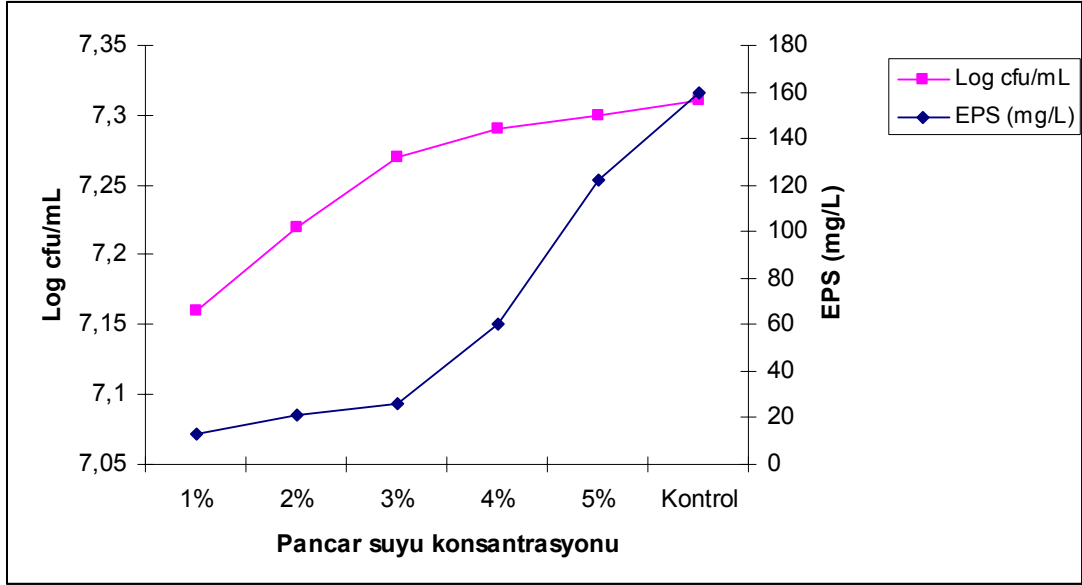
Şekil 4.41. *S. thermophilus* W22 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



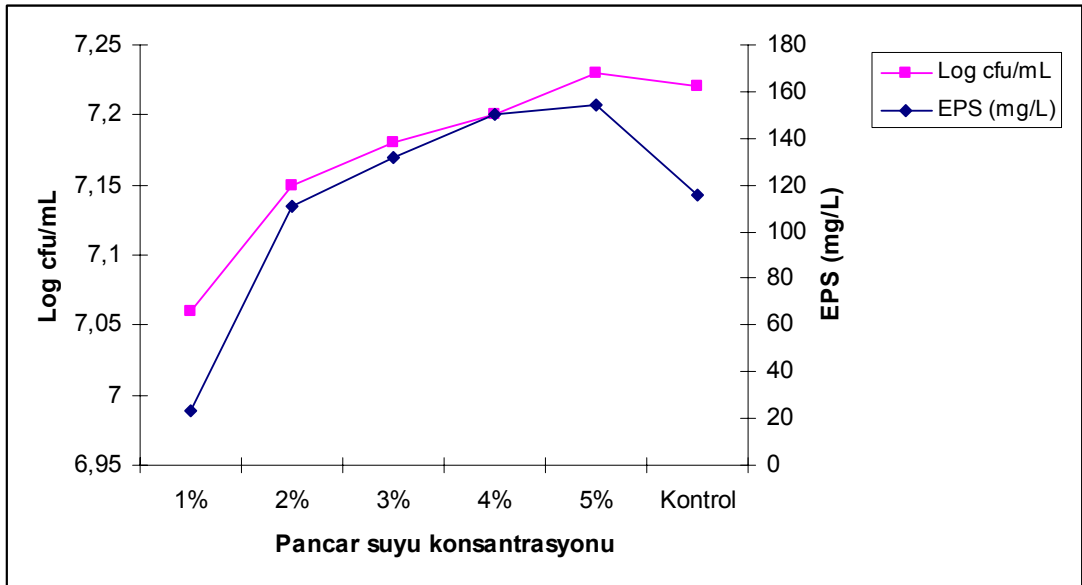
Şekil 4.42. *S. thermophilus* W22 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



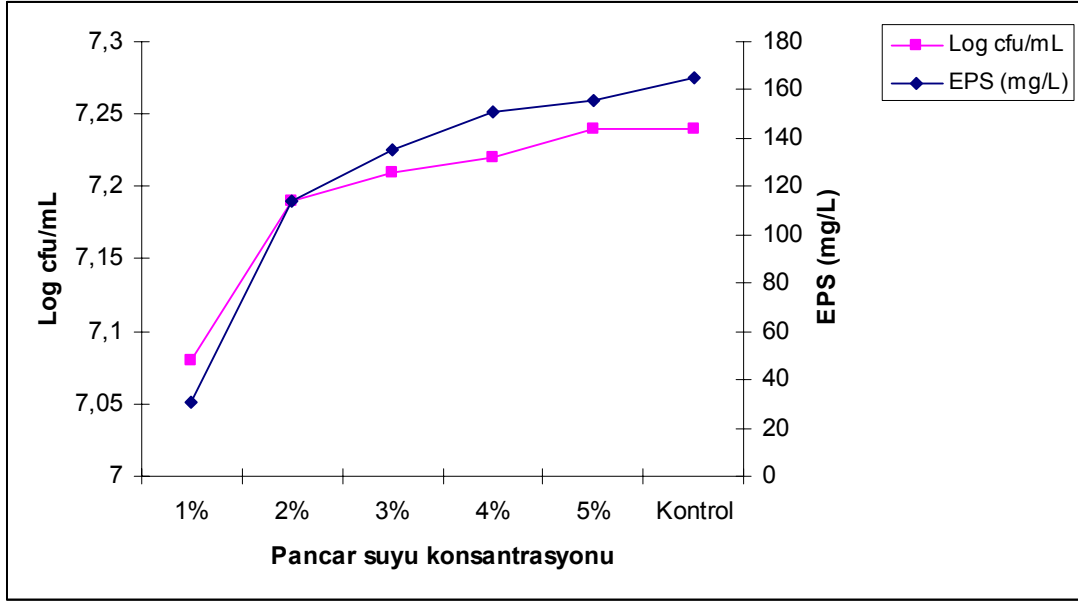
Şekil 4.43. *S. thermophilus* T12 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



Şekil 4.44. *S. thermophilus* T12 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.



Şekil 4.45. *S. thermophilus* T8 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.

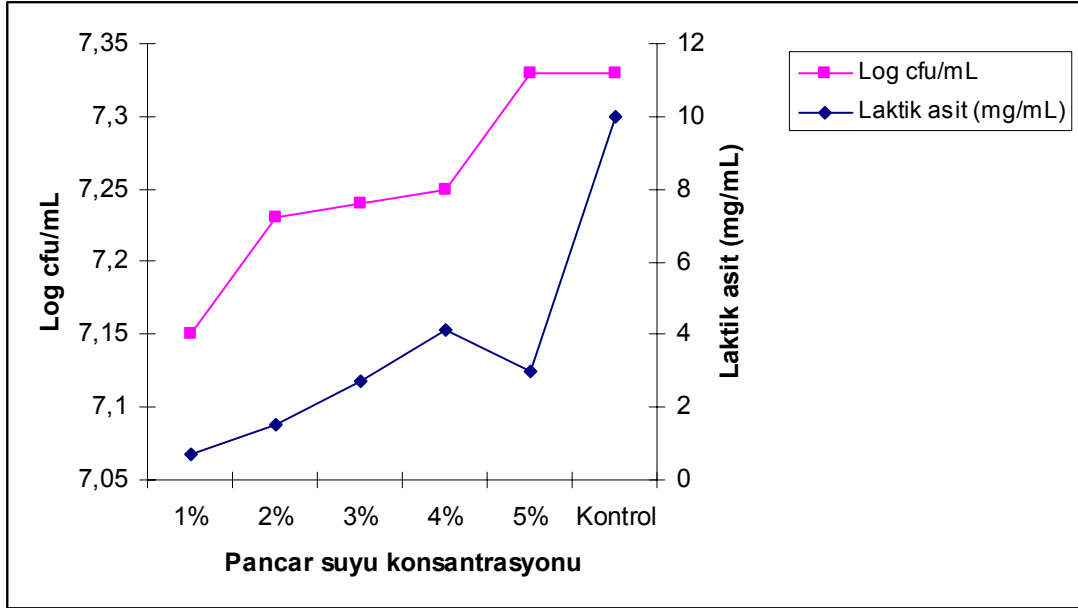


Şekil 4.46. *S. thermophilus* T8 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve EPS üretimleri.

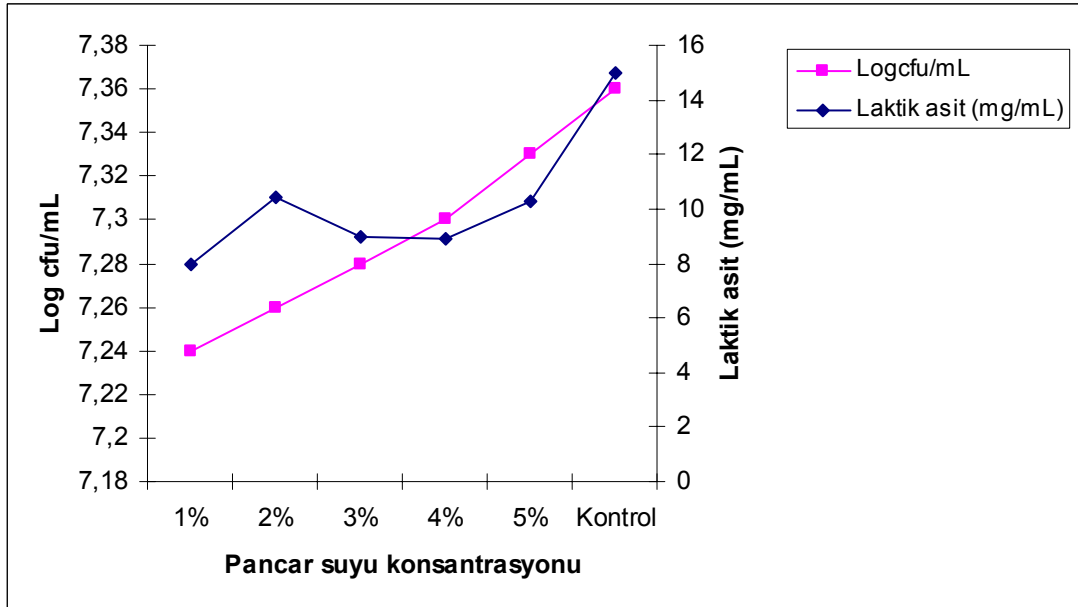
4.1.6. Pancar suyunda laktik asit üretiminin belirlenmesi

Suşların farklı pancar suyu konsantrasyonlarında (%1-5) ve farklı sürelerde (24. ve 48.saat) ürettikleri laktik asit miktarları Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6 Şekil 4.47- Şekil 4.56'da gösterilmiştir. Pancar suyu besiortamında pancar suyu konsantrasyonunun artışına paralel olarak suşların ürettiği laktik asit miktarları farklılık göstermiştir. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşları arasında en yüksek laktik asit B3 suşunda %2 pancar suyu konsantrasyonunda 10,4 mg/mL olarak belirlenirken, *S. thermophilus* W22 suşunda en yüksek laktik asit üretimi %4 pancar suyu konsantrasyonunda 6,02 mg/mL olarak tespit edilmiştir.

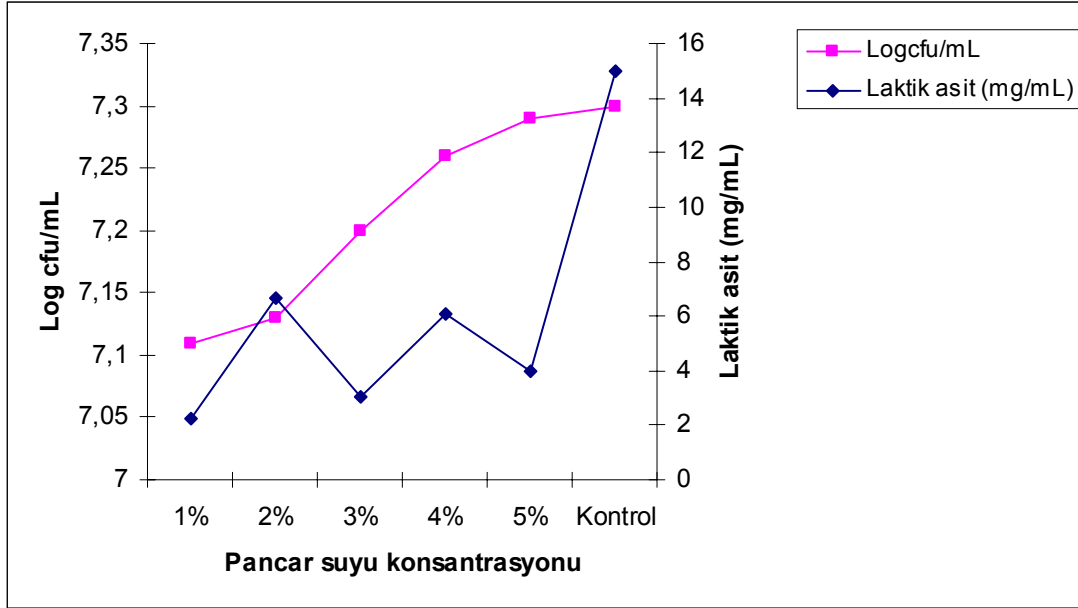
Her iki bakteri türüne ait suşların 48. saatte ürettikleri laktik asit miktarları 24. saat inkübasyona kıyasla arttığı gözlenirken, son kültür pH' larında azalma belirlenmiştir (Çizelge 4.5-4.6). Tüm suşların kontrol besiortamlarına kıyasla laktik asit üretimleri daha az bulunmuştur.



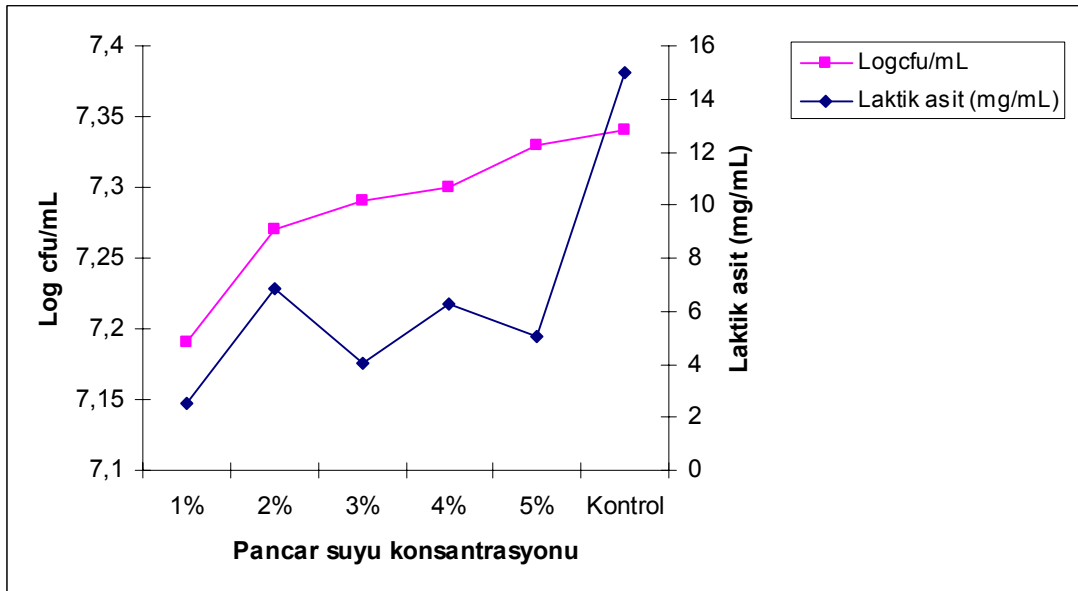
Şekil 4.47. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B3 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



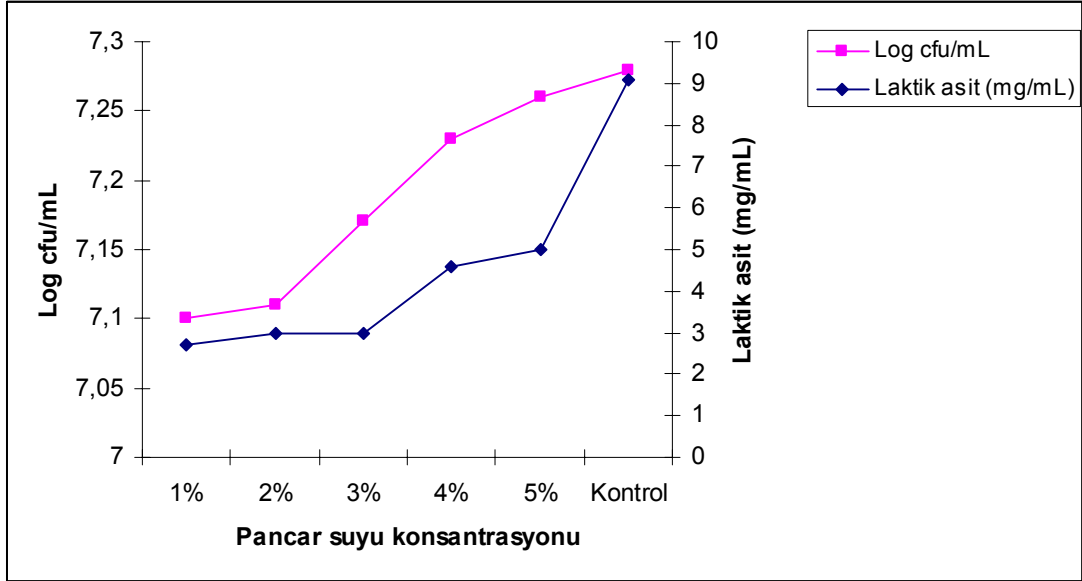
Şekil 4.48. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B3 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



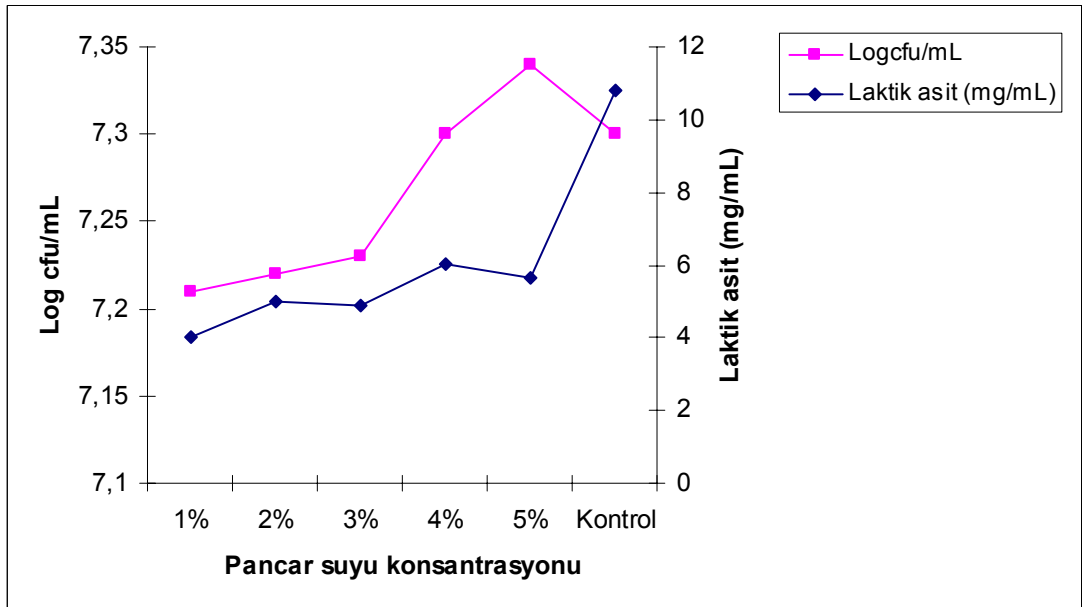
Şekil 4.49. *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* G12 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sa yıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



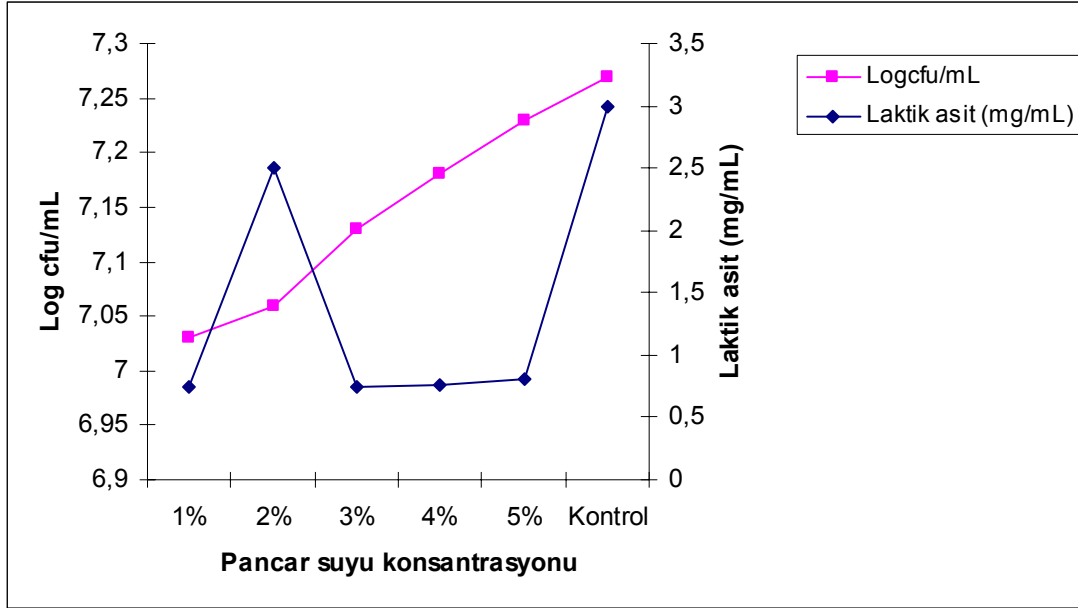
Şekil 4.50. *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* G12 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sa yıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



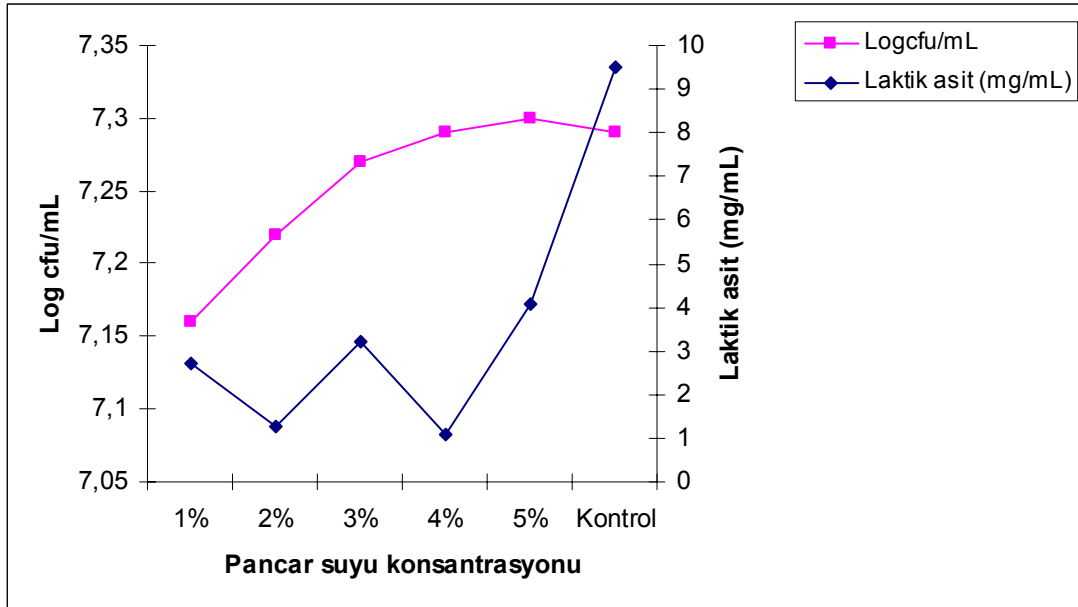
Şekil 4.51. *S. thermophilus* W22 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



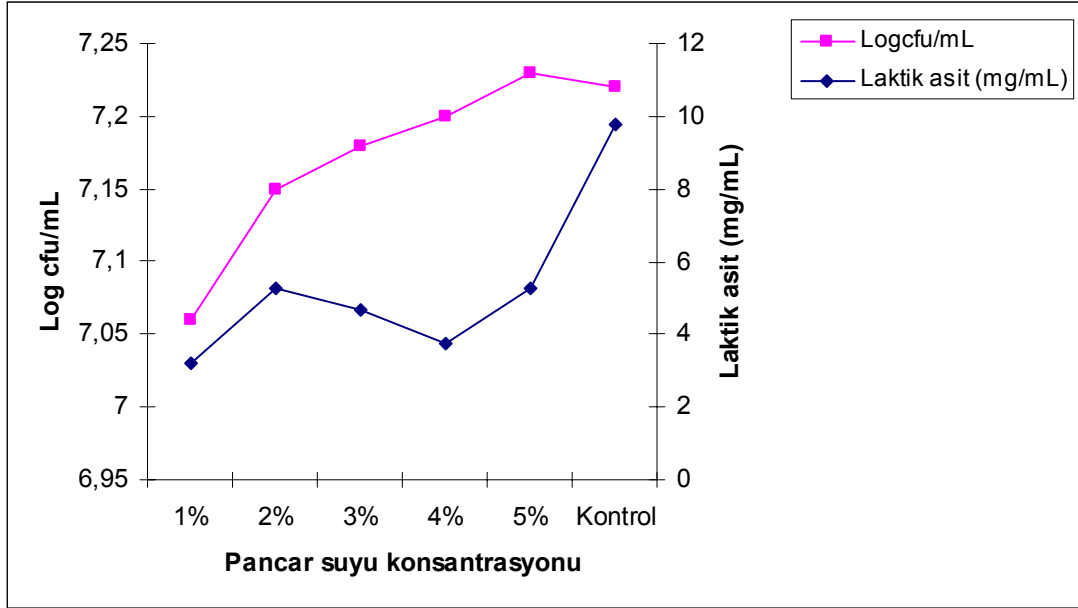
Şekil 4.52. *S. thermophilus* W22 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



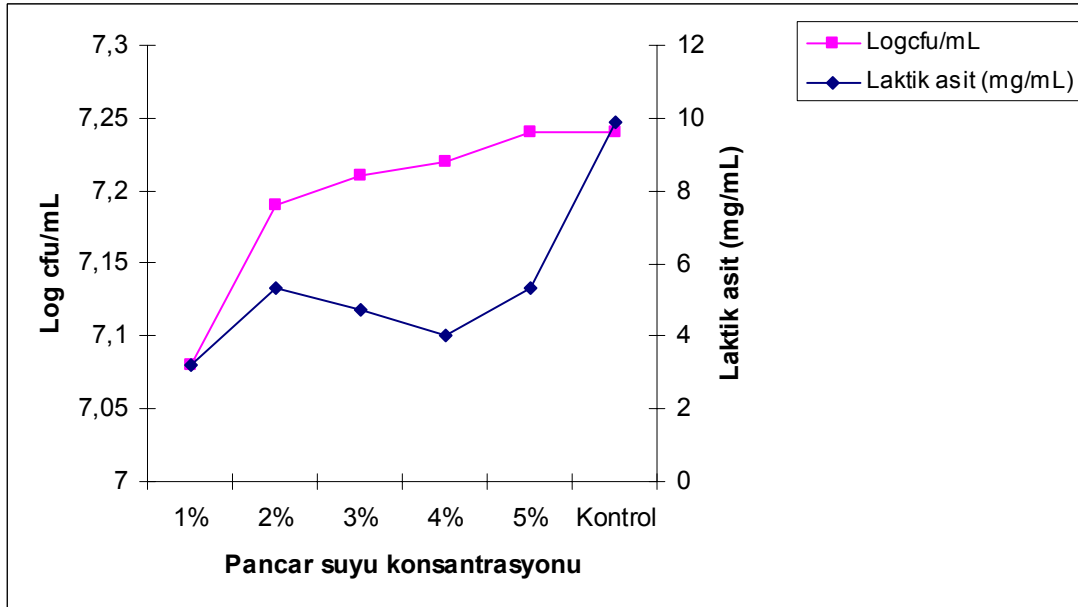
Şekil 4.53. *S. thermophilus* T12 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



Şekil 4.54. *S. thermophilus* T12 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



Şekil 4.55. *S. thermophilus* T8 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 24. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.



Şekil 4.56. *S. thermophilus* T8 suşunun farklı pancar suyu konsantrasyonlarında 48. saat inkübasyonunda canlı hücre sayıları (log cfu/mL) ve laktik asit üretimleri.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Fermente süt ürünlerinin yapımında kullanılan birçok laktik asit bakterileri fermentasyon sırasında ekzoseller polisakkaritleri (EPS) salgılamaktadırlar. Bu yapılar son ürünün yapısının oluşumunu sağlarken pıhtılaşmayı önleyici özellik göstermektedir [Cerning ve ark, 1994]. Bakteriler tarafından oluşturulan EPS bakteri hücresini kurumadan, fagositozdan ve faj etkisinden koruduğu gibi yüksek oksijen gerilimi sağladığı, metal iyonlarının alımında görev aldığı ve yüzey tutunmasında yapıştırıcı işlevine sahip olduğu bilinmektedir. EPS üreten bakteriler, genellikle bu polimeri katabolize etme yeteneğinde olmadıklarından, üretilen EPS bakteri tarafından enerji kaynağı olarak kullanılmamaktadır [Koçer, 2002].

S. thermophilus ve *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşları genel olarak glukoz, galaktoz ve ramnoz monosakkaritlerini içeren heteropolisakkarit yapıda EPS retirler. Yapılan bir çalışmada EPS retim miktarı *S. thermophilus* suşlarında 50-350 mg/L, *Lb. bulgaricus* suşlarında 60-150 mg/L ve *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* suşlarında 80-600 mg/L arasında olduğu rapor edilmiştir. Suşların EPS üretimleri suşlara ve besiortamına bağlı olduğu gösterilmiştir [Cerning ve ark, 1994]. Bu çalışmada melas besiortamında *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşlarının (109-290 mg/L), *S. thermophilus* suşlarının (65-276 mg/L) EPS ürettikleri tesbit edilmiştir (izelge 4.1- izelge 4.2 Şekil 4.1- Şekil 4.10).

Laktik asit bakterileri tarafından üretilen EPS, organizmanın gelişim şartlarına (sıcaklık ve inkübasyon süresi) ve besiyerinin içeriğine bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir [Cerning ve ark, 1994]. *S. thermophilus*' un fiziksel ve kimyasal kltvasyon şartlarının EPS rimi üzerine etkisinin incelendiği çalışmalarda en fazla öneme sahip faktörlerin inkübasyon sıcaklığı, pH, oksijen gerilimi, çalkalanma hızı ve inkübasyon sresinin olduğu bildirilirken, EPS verimini belirleyen kimyasal faktörlerin de karbon ve nitrojen kaynağı, karbon/nitrojen

oranı, tuz ve vitamin gibi besiyeri bileşenlerinin varlığı gösterilmiştir [Gancel ve Novel, 1994, De Vuyst ve ark, 1998, Degeest ve ark, 2003].

Lb. casei CG11 suşu tarafından üretilen EPS'nin verim ve yapısı üzerinde etkili olan besiyerindeki karbon kaynağına bağlı olduğu ve glukozun EPS üretimi için önemli bir karbon kaynağını teşkil ettiğini gösterilmiştir [Cerning ve ark, 1994].

Bir araştırmada *S. thermophilus* suşunun, laktoz, sukroz, fruktoz ve glukoz içeren farklı şeker ortamlarında EPS üretimleri incelemiş, bakterinin glukoz ortamında (334 mg/L), fruktozda (143,4 mg/L) EPS ürettiği tesbit edilirken, laktoz ve sukroz ortamlarında bakterinin EPS üretimi sırasıyla 98 ve 53 mg/mL' den daha fazla olduğu bildirmiştir [Grobbe ve ark, 1998]. Aynı araştırmacılar, EPS üretiminin karbonhidrat kaynaklarına bağlı olduğunu ve *Lb. bulgaricus* NCFB 2772 suşunun glukoz veya laktozlu ortamlarda EPS üretiminin fruktozlu ortama kıyasla daha yüksek olduğunu açıklamışlardır. Yapılan bir diğer çalışmada *L. lactis* ssp. *cremoris* NIZ B40 ve NZ4010 suşlarının glukozlu ortamda 460 mg/L ve 310 mg/L EPS ürettiğini, fruktozlu ortamda ise suşların EPS üretimi 65 mg/L ve 85 mg/L olarak daha az olduğu gösterilmiştir [Looijesteijn ve ark, 1999].

Endüstriyel işlemlerde ticari ürün üretimi ve pazarlamayı sınırlandıran en önemli faktörlerden biri de fermentasyonda kullanılan karbon kaynağıdır, özellikle de karbonhidratın maliyetidir. Bu amaçla maliyet giderini düşürmek amacıyla farklı ve ucuz karbon kaynaklarının fermentasyonda kullanımı önemlidir. Bu amaçla son yıllarda endüstriyel proseslerde melas ve PAS gibi ucuz atık maddenin fermentasyon ortamı olarak kullanımı artmıştır.

Şeker endüstrisinin bir yan ürünü olan melas, kristalize şekerin eldesinden sonra şeker imali ve rafinesinin son ürünüdür. Melasta bulunan başlıca karbon kaynağı sükrozdur. Sükrozun yanı sıra rafinoz şekeri ve birçok mineral ve vitamin içermektedir. Kullanılabilir karbon kaynakları bakımından

zengin olduğunda bakteri fermentasyonlarında substrat olarak kullanımı üzerindeki çalışmalar artmıştır [Ediz, 2004]. Farklı melas konsantrasyonlarında bakterilerin EPS üretimleri incelediği bu çalışmada melas konsantrasyonundaki (%1-5) artışa paralel olarak bakterilerin EPS üretimlerinde artış gözlenmiştir. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşları arasında en yüksek EPS üretimi B3 suşunda (290 mg/L) % 5 melas konsantrasyonunda 48. saat inkübasyon sonunda tespit edilirken, *S. thermophilus* suşları arasında W22 suşunun % 5 melas konsantrasyonunda 48. saatte en yüksek (276 mg/L) EPS ürettiği tespit edilmiştir. Farklı sürelerdeki (24 ve 48 saat) EPS üretimleri incelenen suşların, inkübasyon süresindeki artışa paralel olarak EPS üretimlerinde de artış gözlenmiştir. Bakterilerin %5 melas konsantrasyonunda canlı hücre sayıları ile EPS üretimleri kontrol besiyortamlarına kıyasla dikkate değer bir artış belirlenmiştir (Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2 Şekil 4.11- Şekil 4.20).

Yapılan bu çalışmada %3, 4 ve 5 melas konsantrasyonlarında bakterilerin EPS üretimlerinin, farklı karbon kaynaklarına (glukoz ve laktöz) ortamlarındakinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Melas besiyortamında *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşları arasında en yüksek laktik asit üretimi G12 suşunda 48.saat inkübasyon sonunda %1 melas konsantrasyonunda 10,1 mg/mL olarak tesbit edilmiştir. Son kültür pH' da 4,23 olarak belirlenmiştir. Diğer *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B3 suşu %1 melas konsantrasyonunda 9,9 mg/mL laktik asit üretirken, son kültür pH' nın 4,32 olarak ölçülmüştür. *S. thermophilus* W22 suşu en yüksek laktik asit üretimi 48.saat inkübasyon sonunda %1 melas konsantrasyonunda 8,8 mg/mL olarak üretirken, son kültür pH' sının 4,27 olarak belirlenmiştir.

Melas besiyortamında melas konsantrasyonuna paralel olarak arttığı suşların ürettiği laktik asit miktarında azalma ve son kültür pH' larında bir artış gözlenmiştir. Suşların melas konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak canlı hücre sayılarında da bir artış gözlenmiştir. Her iki bakteri türüne ait suşların

48. saatte laktik asit üretimleri, 24. saate kıyasla artarken, son kültür pH'larında azalma görülmüştür. Kontrol besiortamlarında tüm suşlar daha fazla laktik asit üretmişlerdir.

Beyatlı ve Tunail (1991) izole ettikleri *L. bulgaricus* suşlarının *S. thermophilus*' dan daha yüksek laktik asit üretimine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar *Lb. bulgaricus* suşlarının laktik asit üretimini 2,27 - 10,35 mg/mL arasında ve *S. thermophilus* suşlarının laktik asit üretimini ise 1,03 ile 5,45 mg/mL arasında tespit etmişlerdir [Yüksekdağ ve ark, 2004a]. Kefirden izole ettikleri 3 adet *Lb. bulgaricus* suşunun laktik asit üretim miktarlarının 1,7-4,9 mg/mL arasında olduğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar, kefirde izole ettikleri 3 adet *S. thermophilus* suşunun laktik asit üretim miktarlarının 3,9-8,5 mg/mL arasında olduğunu bildirmişlerdir [Yüksekdağ ve ark, 2004b.].

Membran reaktör kullanılarak *Lactococcus lactis* melas besiortamında 40. saat inkübasyon sonunda 120 g/L laktik asit ürettiği gösterilmiştir [Ohashi ve ark, 1999]. İmmobilize *Lactobacillus delbrueckii* IFO 3202 suşunun laktik asit üretimi araştırılmış ve en yüksek değer %5,91 olarak tesbit edilmiştir [Yekta ve Güvenç, 1999].

PAS, peynir yapımı sırasında peynir maddesini oluşturan kazeinin ve yağın pıhtı halinde ayrılmasından sonra serbet kalan sarımsı yeşil renkte % 4-5 oranında laktoz içeren bir atık maddedir [Yöneş, 1997]. Yüksek oranda kullanılabilir karbon kaynağı içerdiğinden dolayı endüstriyel ölçekte bakteri fermentasyonlarında kullanılan önemli bir maddedir.

Lb. delbrueckii ssp. *bulgaricus* G12 ve B3 ile *S. thermophilus* T8, T12 ve W22 suşlarının PAS ve katkılı ortamlarındaki EPS üretimleri belirlenmiştir (Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4, Şekil 4.21- Şekil 4.28). Bu ortamlarda suşların EPS miktarında dikkate değer bir artış belirlenmiştir. Ortama ilave edilen maddelerin EPS üretimini artırırken, canlı hücre sayılarında az bir artış tespit

edilmiştir. Suşların PAS da inkübasyon süresindeki artışına paralel olarak ürettikleri EPS miktarında da artış gözlenmiştir.

Suşların PAS ve PAS' a çeşitli maddelerin ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$, Yeast extract, Pepton) ilavesiyle zenginleştirilen besiortamında suşların ürettikleri laktik asit miktarları Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4, Şekil 4.29- Şekil 4.36' de gösterilmiştir. En yüksek laktik asit üretimi *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B3 suşunda 48. saat inkübasyonunda 15,0 mg/mL tesbit edilirken, *S. thermophilus* suşları arasında en yüksek üretimin W22 suşunda 48. saat inkübasyonunda 7,9 mg/mL olarak belirlenmiştir.

PAS' a madde ilave edildiğinde bakteri hücre sayısında bir artış belirlenmiştir. Buna paralel olarak da tüm suşlarda laktik asit üretimi artmıştır. PAS + katkı madde ortamında suşların 48. saatte ürettikleri laktik asit miktarları, 24. saate kıyasla artış gözlenirken, son kültür pH' larında azalma gözlenmiştir. Katkılı PAS' da suşların ürettiği laktik asit miktarları, normal PAS' da laktik asit miktarlara göre dikkate değer bir artış gözlenmiştir. Zenginleştirilmiş ortamda en yüksek laktik asit üretimi *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B3 suşunda 48. saat inkübasyonda (pH 4,37) 15,4 mg/mL tesbit edilirken, *S. thermophilus* suşlarında en yüksek üretimi W22 suşunda 48. saat inkübasyonda 9,6 mg/mL olarak bulunmuştur. Ortama ilave edilen katkı maddelerin laktik asit üretimini arttırırken, inkübasyon süresindeki artışında laktik asit üretimi miktarını arttırmıştır. Suşların katkılı peyniraltı suyunda ürettikleri laktik asit miktarları normal PAS' a kıyasla artış gözlenirken, bu suşların katkılı ve katkısız PAS' da laktik asit üretimleri kontrol besiortamlarına kıyasla daha az bulunmuştur. İmmobilize *Lactobacillus casei* ssp. *casei* suşunun peynir altı suyunda L-laktik asit üretimi gerçekleştirilmiştir. Bakterinin bu ortamda laktik asit üretimi 40 g/L olarak bulunmuştur [Krischke ve ark, 1991].

Beyatlı ve Tunail (1991) yoğurtdan izole ettikleri *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşlarının toplam laktik asit üretimlerini 2,27-10,35 mg/mL değerleri arasında tespit etmişlerdir [Beyatlı ve Tunail, 1991]. Ragout ve ark.'

ları (1989) *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ATCC 11842 suşunun farklı besiyerlerindeki D (-) laktik asit üretimlerini 0,48-0,59 g/L arasında bulmuşlardır.

Bu çalışmada *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşları arasında en yüksek EPS üretimi B3 suşunda %5 pancar suyu konsantrasyonunda, 48.saat inkübasyonunda 260 mg/L olarak belirlenmiştir. *S. thermophilus* suşları arasında en yüksek EPS üretimi W22 suşunda 160 mg/L olarak % 5 melas konsantrasyonunda 48. saatte tespit edilmiştir. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşları arasında en yüksek laktik asit B3 suşunda %2 pancar suyu konsantrasyonunda 10,4 mg/mL, (pH 6,20) gözlenirken, *S. thermophilus* W22 suşunda en yüksek laktik asit üretimi ise %4 pancar suyu konsantrasyonunda 6,02 mg/mL (pH 6,8) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.5-4.6, Şekil 4.37-4.56).

Bu çalışma sonunda son yıllarda biyoteknolojik olarak önemli bir polimer olarak yoğun ilgi duyulan EPS' nin doğal izolatlarımızdaki normal besiyerlerindeki ve önemli endüstriyel atık maddeler olan melas ve PAS' da üretim durumları belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlardan ekonomik olan her üç besiyerlerinin EPS ve laktik asit üretimleri için uygunluk gösterdiği gözlenmiştir.

Bu çalışma ile endüstriyel atık maddelerden olan melas ve peyniraltı suyunun EPS ve laktik asit üretiminde kullanımları uygunluk gösterdiği gözlenmiştir. Verim artışını sağlamak amacıyla daha fazla çalışmalara gerek duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

Aiba, Y., Suzuki, N., Kabir, A., Takagi, A., Koga, Y.,. "Lactic acid-mediated suppression of Helicobacter pylori by the oral lactic administration of Lactobacillus salivarius as a probiotic in a gnotobiotic murine model", **The American J. Gastroenterology** ,96 (11): 2097-2101 (1998).

Akalın, S., Gönç, S., Senderya, S., "Probiyotik süt ürünleri ve prebiyotikler", **VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu** (Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri), Tekirdağ, 29-36 (2000).

Beyatlı, Y., Tunail, N.,. "Yoğurtlardan izole edilen kimi bakterilerin starter olarak seçilme olanakları", **J. Biol. Fac. Sci. Arts Gazi Univ**, 2: 343-363 (1991).

Buchanan, R.E.,Gibbons, N.E., Bergey 's Manuel of Determinative Bacteriology Eight edition .**The Willams end Wilkins Company**, Baltimore xxxvi +1268 (1974).

Bulut, Ş.,. "Rhizopus oryzae'den laktik asit üretimi", Yüksek Lisans Tezi, **Firat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Elazığ, 17-19 (2002).

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

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

Cerning, J., Bouillanne, C., Desmazeaud, M.J., Landon, M.,. "Isolation and Characterization of Exopolysaccharides from Slime-Forming Mesophilic Lactic Acid Bacteria ",**J.of Dairy Sci.** 75: 692-699 (1992).

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

Çağlar. A., Çakmakçı, S., "Yoğurdun insan sağlığı ve beslenmesindeki rolü ve önemi", **III.Milli Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu**, İstanbul. 205-217(1995).

Çelen, E., Hız, I., Vural, T.,. "Probiyotikler", **Güncel Gastroenteroloji Dergisi.** 403-408 (1999).

Degeest, B., Vanningelgem, F., Laws, A. P., De Vuyst, L., “UDP-N-Acetylglucosamine 4-Epimerase Activity Indicates the Presence of N-Acetylgalactosamine in Exopolysaccharides of *Streptococcus thermophilus* Strains”, ***Appl. Environ. Microbiol.***67: 3976-3984 (2003).

Dellaglio F.;Dicks ,L.M.T.;Du Toit ,M.;S.,. ***Int J.Sys.Bacteriol*** .41: 340 (1991).

De Vuyst, L., Vanderveken, S., Van de Ven, and Degeest, B., “Production by and isolation of exopolysaccharides from *Streptococcus thermophilus* grown in a milk medium and evidence for their growth-associated biosynthesis”, ***J. Appl.Microbiol.*** 84: 1059-1068 (1998).

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

Ediz, N.,. “Bazı Bacillus Cinsi Bakterilerin Melas Besiortamında PHB Üretimleri, Toplam Protein Profilleri ve Plazmid DNA’ larının İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, ***Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü***, Ankara. 4-5 (2004)

Forestier, C., De Champs, C., Vatoux, C., Joly, B.,. “Probiotic activities of *Lactobacillus casei rhamnosus*: in vitro adherence to intestinal cells and antimicrobial properties”. ***Res. Microbiol.***152: 167-173 (2001).

Gancel, F and Novel,G., “Exopolysaccharide Production by *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* cultures 1. conditions of production”, ***J. Dairy Sci.*** 77: 685-688.(1994).

Grobber, G.J., Chin-Joe, I., Kitzen, V.A., Boels, I.C., Boer, F., Sikkema, J., Smith, M.R., De Bont, J.A.M.,. “Enhancement of Exopolysaccharide Production by *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* NCFB 2772 with a simplified Defined Medium”, ***Appl. Environ. Microbiol.*** 64(4): 1333-1337 (1998).

Güvener, Z.,. “Probiyotikler”, ***Flora.*** 4(3) : 156-162 (1999).

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

Klaenhammer, R.T., Kullen, J.M.,. “Selection and design of properties”, ***Int. J. Food Microbiol.***, 50: 45-57 (1999).

Koçer, E., “Ekzopolisakkarit üreten laktokok suşlarının izolasyonu, tanısı ve bu suşlarda ekzopolisakkarit üretiminin genetik analizi”, Yüksek Lisans Tezi, **Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara 12-15 (2002).

Krischke,W., Schröder,M., Trösch,W.,. “Continous production of L-Lactic acid from whey permeata by immobilized *Lactobacillus casei* ssp.casei”, **Appl Microbiol Biotechnology**. 34: 573-578 (1991).

Le Bras G.,. “Crystallization of D-lactate dehydrogenase from *Lactobacillus bulgaricus*”. **J. Mol. Biol.**, 235: 370-371 (1994).

Looijesteijn, P.J., Boels, I., Kleerebezem, M., Hugenholtz, J., “Regulation of Exopolysaccharide production by *Lactococcus lactis* ssp. cremoris by the sugar sources”, **Appl. Environ. Microbiol.** 65(11): 5003-5008 (1999).

Man, J.C., Ragosa, M., Sharpe, M. E., “A medium for the cultivation of *Lactobacilli*”, **J. Appl. Bact.** 23: 130-138 (1960).

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

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

Mater, Y.,. “Prokaryot Hücrelerde Anyonik Yerlerin Belirlenmesi ve İlişki Olarak *Pseudomonas aeruginosa*’ nın Trake Epiteline Bağlanmasına Sialik Asidin rolü”, **E.Ü.Araş.Fon .Say**, 5-10 (1992).

Mishra, C., Lambert, J.,. “Production of anti-microbial substances by probiotics”, **Asia Pasific J. Clin. Nutr.** 5: 20-24 (1996).

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

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

Pera L.M. and Callieri D.A.,. “ Influence of calcium on fungal growth and citric acid production during fermentation of a sugarcane molasses-based medium by a strain of *Aspergillus niger*”, **World J. Microbiol & Biotechnol.** 15: 647-649 (1999).

Ragout, A., Perce de Ruiz Holgado, A., Oliver, G., Sineriz, F., " Presence of an L (+) –lactate dehydrogenase in cells of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*", **Biochimie**. 71: 639-644 (1989).

Rašić, L.J. and Kurmann, J.A., " Lactic acid fermentation, In Yoghurt, Scientific grounds, technology, manufacture and preparations", **Stämpfli Press.**, Switzerland .51-52 (1978).

Raukas, T., and Katzekidov, P.,. "Lactic acid production from deproteinized whey by mixed cultures of free and co immobilized *Lactobacillus casei* and *Lactococcus lactis* cells using fed batch culture", **Enzyme and Microbial Technology**, 22: 199-204 (1998).

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

Scheneide, S.,. " Şekerin teknolojisi", **T.Ş.Faş.yayınları**.Ankara. 1-2 (1971).

Silin,A.,. "Pancar şekeri fabrikasyon teknolojisi", **2.Cilt.T.Ş. TAŞ .Yayınları**. Ankara . P.M. 1-2 (1956).

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

Soomro. A.H., Masud. T., Andvvar. K., "Role Lactic Acid Bacteria (LAB) in Food Preservation and Human Health – A Review", Pakistan **J. Nutrition**. 1(1) : 20-24 (2002).

Steinholt, K., Calbert, H.E., "A rapid colorimetric method fort he determination of lactic acid in milk and milk products", **Milchwissenschaft**, 15: 7-11 (1960).

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

Tekinşen, O.C., Atasever, M.,. "Süt ürünleri üretiminde starter kültür", 150, **Selçuk Ü. Vet. Fak. Yayınları**, Konya.18-80 (1994).

Ulubas, H.,. "Şeker pancarı melasın yükseltgenerek diğer kimyasal maddelere dönüştürülmesi" Y.Lisans tezi. **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara. 12-20 (1991).

Vandenberg, P.A.,. "Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth", **FEMS Microbiol. Rev.** 12: 221-238 (1993).

Vural. T.,. "Probiyotikler", **XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı**. 33-34 (1998).

Yetişmeyen, A.,” Süt Teknolojisi,“ 1214, **A.Ü. Ziraat Fak. Yayınları**. Ankara, 229 (1995).

Yekta ,G., Güvenç, U.,. “Production of lactic acid from beet molasses by calcium alginate immobilized *Lactobacillus delbruackii* IFO 3202”. **Chem Technol Biotechnol**, 74: 131-136 (1999).

Yıldırım, Z., Yıldırım, M.,. “Probiyotik özellik gösteren Bifidobakteriler”, **VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu** (Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri), Tekirdağ. 266-271 (2000).

Yöney, Z.,. “Süt Kimyası, ”**A.Ü. Ziraat Fak. Yayınları**, Ankara. 234-246 (1997).

Yüksekdağ, Z.N., Beyatlı, Y., Aslım, B.,. “Metabolic activities of *Lactobacillus* spp. Strains isolated from kefir”, **Milchen**. 48, (3): 218-220 (2004a).

Yüksekdağ, Z.N., Beyatlı, Y., Aslım, B.,. “Determination of some characteristics coccoid forms of lactic acid bacteria isolated from Turkish kefirs with natural probiotic”, **Lebensm Wiss u Technol**.,37: 663-667 (2004b).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : YENİEL, Neslihan
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 08.04.1981.Kayseri
Medeni hali : Bekar
Telefon : 0 (312) 381 60 66
Faks : -
e-mail : neslihanyeniel81@yahoo.com.

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi /Biyoloji Bölümü	2006
Lisans	Niğde Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2003
Lise	Kalaba Lisesi	1998

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
-	-	-

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Hobiler

Resim, Müzik, Kitap Okuma