



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



MEYVE POSALARININ EKZOPOLİSAKKARİT (EPS) ÜRETİMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Demet GENÇ KARADENİZ

**FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Dr. Öğretim Üyesi Banu KAŞKATEPE

ANKARA

2019

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MEYVE POSALARININ EKZOPOLİSAKKARİT (EPS)
ÜRETİMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Demet GENÇ KARADENİZ

**FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Dr. Öğretim Üyesi Banu KAŞKATEPE

Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün
18L0237005 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA

2019

Etik Beyan

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “MEYVE POSALARININ EKZOPOLİSAKKARİT (EPS) ÜRETİMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI ” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Demet GENÇ KARADENİZ

Tarih: 20.06.2019

İmza: 

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında
Demet GENÇ KARADENİZ tarafından hazırlanan
“MEYVE POSALARININ EKZOPOLİSAKKARİT (EPS) ÜRETİMİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından
YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ / OY
~~ÇOKLUĞU~~ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 20.06.2019



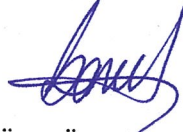
Prof. Dr. Nurten ALTANLAR

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi



Prof. Dr. Meral SAGIROĞLU

Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi



Dr. Öğr. Üyesi Banu KAŞKATEPE

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
(Danışman)

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet AKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	viii
Çizelgeler	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Laktik Asit Bakterileri	3
1.1.1. <i>Streptococcus thermophilus</i> 'un Genel Özellikleri	4
1.2. Polisakkaritler	7
1.2.1. Ekzopolisakkaritlerin Genel Özellikleri	8
1.2.2. Ekzopolisakkarit Üreten Mikroorganizmalar	11
1.2.3. Ekzopolisakkaritlerin Bileşimi ve Yapısı	12
1.2.4. EPS'lerin Biyosentezi	15
1.2.5. Mikrobiyal EPS Üretimini Etkileyen Faktörler	18
1.2.6. EPS'lerin Bakterilerdeki Fizyolojik Rolü	20
1.2.7. Biyoteknoloji Yolu ile EPS Üretimi	20
1.2.8. EPS'nin Potansiyel Uygulanması	21
1.2.8.1. Ekzopolisakkaritlerin Gıda Sanayisinde Kullanılması	22
1.3. Bazı Önemli Ekzopolisakkarit Çeşitleri, Özellikleri ve Uygulama Alanları	24
1.3.1. Levan	25
1.3.2. Dekstran	25
1.4. Meyve Posası	26
2. GEREÇ ve YÖNTEM	29
2.1. Gereç	29
2.1.1. <i>Streptococcus thermophilus</i> İzolatları	29
2.1.2. Kullanılan Besiyerleri	29
2.1.3. Kullanılan Boyalar ve Çözeltiler	33
2.1.3.1. Boyalar	33
2.1.3.2. Çözeltiler	33
2.1.4. Kullanılan Araç ve Gereçler	34
2.1.5. Kullanılan Meyve Posası	34
2.2. Yöntem	35
2.2.1. <i>Streptococcus</i> Türlerinin İzolasyonu ve Tanımlanması	35
2.2.2. Biyokimyasal Analizler	36
2.2.3. <i>S. thermophilus</i> Türünün Tanımlanmasında 16S rRNA Uygulanması	36
2.2.3.1. DNA İzolasyonu	36
2.2.3.2. DNA Konsantrasyonlarının Belirlenmesi	37
2.2.3.3. 16S rRNA PCR Reaksiyonu	37
2.2.3.4. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde Kontrol Edilmesi	39
2.2.3.5. PCR Ürünlerinin Pürifikasyonu	39

2.2.3.6. Pürifikasyon Ürünlerinin Konsantrasyon Analizi	40
2.2.3.7. Sekans Analizi	40
2.2.4. <i>S. thermophilus</i> 'un EPS Üretiminin Sağlanması	40
2.2.5. EPS Miktar Tayini	41
2.2.6. Meyve Posası Suyunun Hazırlanması	42
2.2.7. İnkübasyon Süresinin ve Uygun Besiyerinin EPS Üretimine Etkisinin Belirlenmesi	43
2.2.8. M17 Sıvı Besiyeri ve Meyve Posalarının EPS Üretimine Etkisinin Belirlenmesi	43
2.2.9. Hazırlanan Besi Ortamlarının EPS Üretimine Etkisinin Belirlenmesi	44
2.2.9.1. I Numaralı Baz Besi Ortamı ve Meyve Posalarının EPS Üretimine Etkisi	44
2.2.9.2. Farklı Azot Kaynakları İçeren Besi Ortamları ve Meyve Posalarının EPS Üretimine Etkisi	44
2.2.10. FTIR ile EPS Karakterizasyonu	45
2.2.11. İstatistiksel Analiz	45
3.BULGULAR	46
3.1.Çalışmada Kullanılan <i>S.thermophilus</i> Suşları	46
3.2. <i>S.thermophilus</i> İzolatlarının Tanımlanması	46
3.2.1. Koloni Morfolojisi	46
3.2.2. Gram Boyama ve Morfolojik Değerlendirme	47
3.2.3. Katalaz Testi	49
3.2.4. <i>S. thermophilus</i> Türünün Tanımlanmasında 16S rRNA Sonuçları	49
3.3. Meyve Posası Suyunun Şeker İçeriği	49
3.4. İnkübasyon Süresinin ve Uygun Besi Ortamının Belirlenmesi	50
3.5. M17 Besiyeri ve Meyve Posası Suyunda EPS Üretimi	53
3.6. Hazırlanan Farklı Besi Ortamının EPS Üretimine Etkisinin Belirlenmesi	56
3.6.1. Besi Ortamı I ve Meyve Posalarının EPS Üretimine Etkisinin Belirlenmesi	56
3.7. Meyve Posası Sularının Farklı Azot Kaynakları İçeren Besi Ortamlarında Birlikte Bulundukları zaman ki EPS Üretimi	59
3.9. FTIR Spektra Analiz	66
4.TARTIŞMA	67
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	75
ÖZET	77
SUMMARY	78
KAYNAKLAR	79
ÖZGEÇMİŞ	87

ÖNSÖZ

Ekzopolisakkaritler karbonhidrat yapısındaki biyopolimerlerdir. Birçok canlı grubu ekzopolisakkarit üretme özelliğine sahip olmasına rağmen günümüzde mikrobiyal ekzopolisakkarit üretimine büyük bir ilgi bulunmaktadır. Çünkü bakterilerin miktar ve çeşit bakımından en iyi EPS üreticileri oldukları belirlenmiştir. Bu çalışmada fermente süt ürünlerinden elde edilen *Streptococcus thermophilus*'un ekzopolisakkarit üretimi üzerine araştırma yapılmıştır.

Ekzopolisakkaritlerin benzersiz teknolojik ve fizyolojik özellikleri olmasından dolayı araştırmacılar EPS üretimini artırmaya yönelik çalışmalarda bulunmaktadır. Ekzopolisakkarit üretimini artırmak önemli olmakla birlikte ekzopolisakkarit üretimini artırmaya çalışırken maliyetinde yüksek olmamasını sağlamak ayrıca önemli bir unsurdur. Bu nedenden dolayı bu çalışmada ekzopolisakkarit üretimini incelemek amacı ile önemli bir atık bir materyal olan meyve posasının kullanılmış olması çalışmamızı diğer çalışmalardan farklı kılmaktadır.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, tüm süreç boyunca hep yanımda olan desteğini her zaman hissettiğim tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Banu KAŞKATEPE'ye, tüm Anabilim dalı hocalarıma, Ekzopolisakkarit miktar tayinini gerçekleştiren Dr. Öğr. Üyesi Mehmet GÜMÜŞTAŞ'a ve Arş. Gör. Kenan Can TOK 'a, FTIR Analizini gerçekleştiren Arş. Gör. Dr. Çiğdem KARAASLAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmaları sırasında benden yardımlarını esirgemeyen Ecz. Dilara ÇALIŞKAN'a ve diğer laboratuvardaki arkadaşlara teşekkür ederim. Ayrıca her zaman yanımda olan, sevgi ve destekleri ile bana güç veren eşim Dr. Resul KARADENİZ'e, annem Değer GENÇ'e, babam Mehmet GENÇ'e ve ailemizin tüm bireylerine teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
ATCC	American Tpye Culture Collection
bç	Baz çifti
c-EPS	Kapsüler Polisakkarit
EPS	Ekzopolisakkarit
FDA	Food and Drug Administration
FTIR	Fouirer Transform Infrared Spektrofotometre
G-C	Guanin-Sitozin
GRAS	Generally Recognized As Safe
GT	Glikozil Transferaz
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
HePS	Heteropolisakkarit
HoPS	Homopolisakkarit
kDa	Kilodalton
kb	Kilobar
LAB	Laktik Asit Bakterileri
LPS	Lipopolisakkarit
μ	Mikro
PCR	Polimer Zincir Reaksiyonu
PTS	Fosfotransferaz sistemi

ŞEKİLLER

Şekil 1.1 Üç farklı hücre içi EPS biyosentezlenme yoluna genel bakış	17
Şekil 2.1 Glikoz standard eğri	42
Şekil 3.1: <i>S. thermophilus</i> ATCC 19258 suşunun koloni görünümü	46
Şekil 3.2 Yoğurttan izole edilen <i>S. thermophilus</i> 'ların koloni görünümü	47
Şekil 3.3 Kefirden izole edilen <i>S. thermophilus</i> 'ların koloni görünümü	47
Şekil 3.4 Yoğurttan izole edilen <i>S. thermophilus</i> 'ların Gram boyama ile elde edilen mikroskop görüntüsü	48
Şekil 3.5 <i>Streptococcus thermophilus</i> ATCC 19258 suşunun Gram boyama ile elde edilen mikroskop görüntüsü	48
Şekil 3.6 Kefirden elde edilen <i>Streptococcus thermophilus</i> 'un Gram boyama ile elde edilen mikroskop görüntüsü	48
Şekil 3.7 S1 suşunun farklı inkübasyon sürelerinde ve farklı besiyerlerinde EPS üretimi	51
Şekil 3.8 S2 suşunun farklı inkübasyon sürelerinde ve farklı besiyerlerinde EPS üretimi	52
Şekil 3.9 S3 suşunun farklı inkübasyon sürelerinde ve farklı besiyerlerinde EPS üretimi	52
Şekil 3.10 S1 suşunun 24 saatlik inkübasyon süresinin sonunda içinde meyve posası suyu bulunan M17 besi ortamındaki EPS üretimi	54
Şekil 3.11 S2 suşunun 72 saatlik inkübasyon süresinin sonunda içinde meyve posası suyu bulunan M17 besi ortamındaki EPS üretimi	55
Şekil 3.12 S3 suşunun 72 saatlik inkübasyon süresinin sonunda içinde meyve posası suyu bulunan M17 besi ortamındaki EPS üretimi	56

Şekil 3.13 S1 suşunun hazırlanan besi ortamı I'deki 24 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi	57
Şekil 3.14 S2 suşunun hazırlanan besi ortamı I'deki 72 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi	58
Şekil 3.15 S3 suşunun hazırlanan besi ortamı I'deki 72 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi	59
Şekil 3.16 S1 suşunun hazırlanan besi ortamı I, II, III ve IV'deki 24 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi	61
Şekil 3.17 S2 suşunun hazırlanan besi ortamı I, II, III ve IV'deki 72 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi	62
Şekil 3.18 S3 suşunun hazırlanan besi ortamı I, II, III ve IV'deki 72 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi	62
Şekil 3.19 S1 suşunun genel EPS üretim miktarları	64
Şekil 3.20 S2 suşunun genel EPS üretim miktarları	65
Şekil 3.21 S3 suşunun genel EPS üretim miktarları	66
Şekil 3.22 EPS örneklerinin FTIR spektrumu	66

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1 Homopolisakkarit çeşitleri ve üreten mikroorganizmalar	13
Çizelge 1.2 Heteropolisakkarit üretebilen Laktik Asit Bakterileri	15
Çizelge 2.1 M17 agar besiyeri kimyasal içeriği	30
Çizelge 2.2 M17 sıvı besiyeri kimyasal içeriği	30
Çizelge 2.3 Nutrient sıvı besiyeri kimyasal içeriği	31
Çizelge 2.4 EPS üretmek için hazırlanan baz besi ortamı I içeriği	31
Çizelge 2.5 EPS üretmek için hazırlanan besi ortamı II içeriği	32
Çizelge 2.6 EPS üretmek için hazırlanan besi ortamı III içeriği	32
Çizelge 2.7 EPS üretmek için hazırlanan besi ortamı IV içeriği	33
Çizelge 2.8 Kullanılan primerler dizileri ve beklenen bant büyüklüğü (bp)	38
Çizelge 2.9 PCR karışım içeriği ve reaksiyon hacmi	38
Çizelge 2.10 PCR reaksiyonunda kullanılan PCR programı	38
Çizelge 2.11 Kullanılan sekans PCR programı	40
Çizelge 3.1 Meyve posası suyu içeriği	49
Çizelge 3.2 S1 suşunun farklı inkübasyon sürelerinde ve farklı besiyerlerinde EPS üretimi	51
Çizelge 3.3 S2 suşunun farklı inkübasyon sürelerinde ve farklı besiyerlerinde EPS üretimi	51
Çizelge 3.4 S3 suşunun farklı inkübasyon sürelerinde ve farklı besiyerlerinde EPS üretimi	52

Çizelge 3.5 S1 suşunun 24 saatlik inkübasyon süresinin sonunda içinde meyve posası suyu bulunan M17 besi ortamındaki EPS üretimi	53
Çizelge 3.6 S2 suşunun 72 saatlik inkübasyon süresinin sonunda içinde meyve posası suyu bulunan M17 besi ortamındaki EPS üretimi	54
Çizelge 3.7 S3 suşunun 72 saatlik inkübasyon süresinin sonunda içinde meyve posası suyu bulunan M17 besi ortamındaki EPS üretimi	55
Çizelge 3.8 S1 suşunun hazırlanan besi ortamı I'deki 24 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi	57
Çizelge 3.9 S2 suşunun hazırlanan besi ortamı I'deki 72 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi	57
Çizelge 3.10 S3 suşunun hazırlanan besi ortamı I'deki 72 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi	58
Çizelge 3.11 S1 suşunun hazırlanan besi ortamı I, II, III ve IV'deki 24 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi	60
Çizelge 3.12 S2 suşunun hazırlanan besi ortamı I, II, III ve IV'deki 72 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi	61
Çizelge 3.13 S3 suşunun hazırlanan besi ortamı I, II, III ve IV'deki 72 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi	62
Çizelge 3.14 S1 suşunun genel EPS üretim miktarları	63
Çizelge 3.15 S2 suşunun genel EPS üretim miktarları	64
Çizelge 3.16 S3 suşunun genel EPS üretim miktarları	65

1. GİRİŞ

Laktik asit bakterileri (LAB) gram pozitif, kok veya çubuk, aside karşı dirençli, spor oluşturmayan, katalaz negatif, anaerobik veya mikroaerofil özellikleri ile karakterizedirler. Şekeri laktik aside fermente edebilme yetenekleri vardır. LAB'ların daha çok bilinenleri *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus* ve *Streptococcus*'lardır. Daha az bilinen LAB'ları ise *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Teragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weisella*'dır. LAB'lar uzun yıllardır kozmetik, gıda ve ilaç sanayisinde kullanılmasına rağmen ekzopolisakkarit (EPS) üretebilme yetenekleri son yıllarda daha çok karşımıza çıkmaktadır. EPS'ler fiziko-kimyasal özelliklerinden dolayı sanayide önemli ticari değerlere sahiptir. LAB'ların değişik kompozisyonlarda ve işlevsellikte çok çeşitli EPS üretebilme yetenekleri endüstriyel alanlarda kullanımlarını artırmaktadır. Gıda ile ilişkili LAB'lar GRAS statüsünde bulunmaktadır. Bu bakterilerin fonksiyonel EPS üretimi için uygun canlı grubu oldukları bulunmuştur. EPS üretebilen LAB'lar gıda endüstrisinde yoğurt, peynir, süt asidi ve sütlü tatlıların yapımında kullanılmaktadır (Patel ve ark., 2012).

Ekzopolisakkaritler yüksek molekül ağırlığına sahip, geri dönüşebilen polimelerdir. Ekzopolisakkaritler, homopolisakkarit ve heteropolisakkarit olmak üzere iki grup şeklinde sınıflandırılmaktadırlar (Sanalibaba ve Cakmak, 2016). Ekzopolisakkarit üreten canlılar arkeler, bakteriler ve ökaryotlardır. Fakat son yıllarda mikrobiyal ekzopolisakkarit üretimine olan ilgi artmaktadır. İlginin sebebi ise çok düşük konsantrasyonlarda bile vizkos çözelti oluşturmaları ve psödoplastik yapıya sahip olmalarıdır (Soyuçok ve ark., 2016). Mikrobiyal ekzopolisakkaritler birçok mikroorganizma tarafından üretilerek hücre dışına salgılanan karbonhidrat yapısındaki polisakkaritlerdir (Ergene ve Avcı, 2016). Mikrobiyal EPS'lerin fizyolojik görevleri mikroorganizmayı fagositoza, faj saldırılarına, antibiyotiklere, toksik metal iyonlarına ve osmotik strese karşı korumaktır (Fukuda ve ark., 2010).

EPS'ler, yeni ve endüstriyel açıdan önemli biyopolimerler olarak artan bir hız ile

ilgi çekmeye devam etmektedirler. Özgün ve karmaşık kimyasal yapılarına ek olarak birçok ilginç fizikokimyasal ve reolojik özellikleri bulunmaktadır. Mikrobiyal EPS'ler, gıda, yem, ambalaj, kimya, tekstil, kozmetik, atık su arıtımı, tarım, tıp ve ilaç endüstrisi gibi çeşitli alanlarda çok çeşitli ticari uygulamaları bulunmaktadır. Çok sayıda mikrobiyal EPS çeşidi olmasına rağmen sadece birkaç mikrobiyal EPS çeşidi ticari olarak kullanılmaktadır. Bunun nedeni ise yüksek üretim maliyetlerinin olmasıdır (Ates, 2015).

GRAS statüsünde bulunması ve reolojik özellikleri nedeni ile LAB'ların ürettiği EPS'lere daha fazla ilgi bulunmaktadır. Gıda endüstrisinde EPS'ler kıvam verici, emülgatör, vizkosite sağlayıcı olarak kullanılmaktadır. Gıda da kıvamın artmasında ve yapının düzenlenmesinde görev almaları nedeniyle yeni dönemin gıda kalınlaştırıcılarını oluşturmaktadırlar. Ayrıca yapılan çalışmalarda EPS'lerin tedavi edici özelliklerinin olduğu da bildirilmiştir (Kanamarlapudi ve Muddada, 2017).

EPS'lerin geniş kullanım alanına sahip olmasından dolayı farklı mikroorganizmaların ekzopolisakkarit üretimini artırmaya yönelik olarak yapılan çalışma sayısı da artmıştır. EPS üretimi büyüme koşullarından etkilenmektedir. Örneğin kültür ortamı, sıcaklık, pH, inkübasyon süresi EPS üretimini etkileyen önemli koşullardır (Bengoa ve ark., 2018). Ayrıca şeker çeşidi de EPS üretimini etkilemektedir. Yapılan bir araştırmada homopolisakkarit çeşidi olan dekstran ve levanın üretilmesinde karbon kaynağı olarak sükrozun kullanılıyor olması üretilen EPS miktarının artmasına sebep olmaktadır (Grobbe, 1998). Bu çalışmada ise ekzopolisakkarit üretimini incelemek amacı ile atık bir materyal olan meyve posası kullanılmıştır. Meyve posası meyve suyu üretimi sırasında ortaya çıkan bir yan üründür (Yalçinkaya ve ark., 2012). Çalışmada atık bir ürün olan meyve posasının kullanılmış olması çalışmayı diğer çalışmalardan farklı kılmaktadır.

Bu çalışmada kefir, boza ve yoğurt olmak üzere üç farklı kaynaktan *S. thermophilus* izole edilerek EPS üretiminin araştırılması ve farklı meyve posalarının mikroorganizmanın EPS üretimi üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

1.1. Laktik Asit Bakterileri

Laktik asit bakterileri sınırlı biyosentez yapabilme yetenekleri ve yüksek miktarda karbon ve nitrojen kaynağına ihtiyaç duymaları nedeni ile besin yönünden zengin ortamlarda yaygın bulunan mikroorganizmalardır (Settanni ve Moschetti, 2010). LAB'lar bitkilerde, fermente gıdalarda, insanların, karasal ve deniz hayvanlarının mukozal yüzeylerinde bulunabilmektedirler. LAB'lar gram pozitif, mikroaerofil veya anaerobik, katalaz negatif, spor oluşturmeyen, DNA bileşimleri %53 mol G+C bazından daha az olan mikroorganizmalardır. Kok veya çubuk şeklindedirler. Glikozu fermente edebilme özelliklerine göre homofermentatif veya heterofermantatif olarak iki gruba ayrılmaktadırlar (Florou-Paneri ve ark., 2013). LAB'lar genellikle hareketsiz mikroorganizmalar olarak bilinmektedir fakat *L. agilis*, *L. ghanensis* ve *L. capillatus* türleri hareketli LAB'lardır (Settanni ve Moschetti, 2010).

LAB'lar önceleri, genel olarak 'sütü ekşiten mikroorganizmalar' olarak adlandırılmışlardır. Fermentasyon yapmaları nedeni ile besin ve yem kaybına sebep oldukları için önceleri genellikle gıdalar ile ilgili olumsuz ilişkilendirilmişlerdir. Fakat günümüzde LAB'lar giderek artan bir şekilde yararlı mikroorganizmalar olarak kabul görmektedir. Örneğin bazı suşların probiyotik özelliği olduğu düşünülmektedir (Li ve ark., 2014). Ayrıca LAB'lar, fermente gıdaların lezzet yapısına, besin değerine ve mikrobiyal güvenliğine önemli derecede katkıda bulunmaktadır (Settanni ve Moschetti, 2010). Çok çeşitli fermente ürünlerin üretiminde görev alan önemli endüstriyel mikroorganizmalar olduğu belirtilmektedir (Batish ve ark., 1997).

LAB'lar, 'GRAS' statüsünde kabul edilmektedirler. Bazı LAB suşlarına, EPS ürettiği ve fermente süt ve gıda ürünlerinin reolojisine ve dokusuna olan katkısı nedeniyle son birkaç yıldır artan bir ilgi bulunmaktadır (JB Prajapat, 2013). Laktik asit bakterilerinin yaklaşık 30 türü EPS üreticisi olarak bilinmektedir (Ates, 2015). Laktik asit bakterileri starter (başlatıcı) kültür olarak bazı besinlerin fermentasyonunda kullanılmaktadır. Örneğin günlük tükettiğimiz süt ürünlerinde, fermente et ve balık ürünlerinde, meyve ve sebze turşularında, fermente tahıl ürünlerinde LAB'lar kullanılmaktadır. Yoğurt yapımında *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*, *S. thermophilus*,

fermente süt retiminde *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*, *S. thermophilus* *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. johnsonii*, kefir üretiminde ise *L. kefir*, *L. kefiranofacies*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. paracasei spp. paracasei*, *Lc. lactis spp. lactis*, *Leuc. mesenteroides* türleri starter kültür olarak kullanılmaktadır.

LAB'ın üretilmesi için kullanılan ortamın bileşimi oldukça önemlidir. LAB için büyüme ortamında temel fermente şeker kaynağı laktozdur. Ayrıca LAB'lar laktik asit üretmek için sükroz ve dekstroz şekerlerini de kullanmaktadırlar. Büyüme ortamının temel azot kaynakları arasında maya özütü, tripton ve peptonlar bulunmaktadır (Jaiswal ve ark., 2014).

LAB'ların ürettiği değişik bileşikler besinlerin kokusunun, tadının, renginin ve yapısının oluşumunda katkıda bulunmaktadır (Rattanachaikunsopon ve Phumkhachorn, 2010). Bakteriyosinler, LAB'lar tarafından geniş çeşitlilikte üretilen ve inhibitör etkiye sahip protein yapılı bileşiklerdir. Özellikle *Lc. lactis subsp. laktik*, *Lc.lactis subsp. cremoris*, *Lc. lactis subsp. diacetylactis*, *L. acidophilus*, *L.plantarum* ve *L. bulgaricus*, vb. nisin, diplokokin, laktasin, laktostrepsin, laktokokin, laktasin F, bavarisin A, vb. gibi ayrıntılı antibakteriyel polipeptitler üretmektedir (Batish ve ark., 1997). Patojen ve besin bozulmasına sebep olan bakteriler bakteriyosinler tarafından inhibe edilebilmektedir (Rattanachaikunsopon ve Phumkhachorn, 2010). LAB'lar büyük bir çeşitlilik ile hem homopolisakkarit (HoPS) hem de heteropolisakkarit (HePS) yapıda EPS üretimini gerçekleştirmektedir. EPS'nin yanı sıra, bazı LAB'lar, hücreye bağlı kalan ve salgılanmayan kapsüler polisakkaritler (c-EPS) de üretmektedir (Van der Meulen ve ark., 2007).

1.1.1. *Streptococcus thermophilus*'un Genel zellikleri

S. thermophilus, oval şekilde, çiftler halinde bulunan veya kısa zincirlerde meydana getiren gram-pozitif bir bakteridir. Optimum büyüme sıcaklık aralığı 37-45 °C'dir. Aerotolerant anaerop olan termofilik bir bakteridir. Nisbeten sıcaklığa dirençli mikroorganizmalardır. *S. thermophilus*, peynir ve yoğurt gibi fermente süt ürünlerinde

başlangıç kültürü olarak kullanılan, patojenik olmayan homofermentatif mikroorganizmalardır. *S. thermophilus*, *S. salivarius* ve *S. vestibularis*'i de içeren *salivarius* grubunun bir türüdür. *S. thermophilus*, gıda endüstrisinde kullanılan tek *Streptococcus* türüdür. Ayrıca yüzyıllardır insanlarda hiç hastalık yapmadığından dolayı Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından Genel Olarak Güvenli Bir Bakteri (GRAS) olarak kabul edilen tek *Streptococcus* türüdür. *Lc. lactis*'den sonra ikinci en önemli endüstriyel LAB türüdür. Yoğurt oluşumunu başlatıcı temel bakterilerinden biridir. Fakat sadece yoğurt yapımında değil çok çeşitli peynirlerin üretiminde de kullanılmaktadır (Li ve ark., 2016; Uriot ve ark., 2017).

S. thermophilus yoğurt ve fermente süt ürünü olan peynir üretiminde genellikle *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lc. lactis* ve *L. helveticus* ile birlikte kullanılmaktadır. *S. thermophilus*'un sütün fermentasyonundaki görevi sadece laktik asit üretimiyle ilişkili değildir. Ayrıca şeker metabolizması, galaktoz kullanımı, proteolitik aktivite ve üreaz aktivitesi gibi diğer bazı önemli teknolojik özelliklere de sahiptir. Bir diğer önemli görevleri ise hızlı asidifikasyonu sağlamaktır. *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* arasında simbiyotik bir ilişki bulunmaktadır. *S. thermophilus*'un ürettiği formik asit ve CO₂ *Lactobacillus*'ların büyümesini teşvik etmektedir. *L. bulgaricus* süt proteinlerini hidroliz ederek asetalaldehit gibi aroma veren bileşenleri, peptidleri ve proteinleri serbest bırakmaktadır. Böylece *S. thermophilus*'un süt de büyümesine katkı sağlanmaktadır. *S. thermophilus* parmesan, mozeralla, İsviçre peyniri gibi çok çeşitli peynirlerin üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca mezofilik starterler ile birlikte çedar peynirinin üretiminde de kullanılmaktadırlar (Stiles ve Holzapfel, 1997 ; Iyer ve ark., 2010; Li ve ark., 2014; Uriot ve ark., 2017).

S. thermophilus'un endüstriyel süt fermentasyonunda birinci görevi yüksek sıcaklıkta laktozu laktata çevirmektir. *S. thermophilus*'un şeker metabolizmasına baktığımız zaman karbonhidratlardan yararlanmada sınırlı yetenekleri vardır. Çoğu gram pozitif bakteriden farklı olarak birincil karbon ve enerji kaynağı olarak laktozu glikoza tercih etmektedirler. *S. thermophilus* sükrozu ve laktozu kometabolizma ederken sırası ile bir fosfotransferaz sistemi (PTS) ve PTS olmayan substrat

kullanılmaktadır (Uriot ve ark., 2017). Bazı *S. thermophilus* suşlarının, Glu, Cys, His ve Met gibi en az dört amino asit için oksotrofik olduğu bilinirken diğer LAB'ların daha fazla amino aside ihtiyacı olduğu bilinmektedir (Hols ve ark., 2005).

İnsanlarda ve hayvanlarda yapılan bazı yeni çalışmalar ile *S. thermophilus*'un sağlık üzerinde yararlı etkileri olabileceği bulunmuştur. Laktoz intoleransının hafifletilmesi, kronik gastritin önlenmesi, ishalin önlenmesi *S. thermophilus*'un sağlık üzerindeki yararlı etkilerindendir (Uriot ve ark., 2017). Ayrıca probiyotik potansiyele de sahiptirler. *S. thermophilus*'un probiyotik özellikleri; küçük çocuklarda diyare, prematüre yenidoğanda enterokolit ve inflamatuvar bağırsak hastalığı üzerinde olumlu etkileri olduğu bilinmektedir. Ayrıca laktoz intoleransı olan bireylerde laktoz sindirimini iyileştirdiği, bağırsak bağışıklık sistemini geliştirdiği, belirli kanserlerin, ülserlerin, vajinal ve bağırsak enfeksiyonlarının riskini azalttığı çalışmalarda gösterilmiştir (Iyer ve ark., 2010).

S. thermophilus'lar ekstrasellüler polisakkarit, vitamin ve bakteriyosin üretmektedir (Iyer ve ark., 2010). EPS üretimi, *S. thermophilus* suşlarının en önemli ve çekici özelliklerinden biridir. *S. thermophilus*'ların ürettiği EPS genellikle heteropolisakkarit yapıdadır. Başlıca galaktoz, glikoz ve ramnoz monomerlerinden oluşmaktadır ancak yapıda asetil-galaktozamin, fukoz ve asetillenmiş galaktoz kısımları içeren N-polimerleri de bulunmaktadır (Laws ve ark., 2001; Cui ve ark., 2017).

S. thermophilus türünün EPS üretmek için gerekli olan gen kümesi kromozomlar üzerinde bulunmaktadır ve gen kümesi en az 13 gen içermektedir (Tidona ve ark., 2016). *S. thermophilus*'un kromozomlar üzerinde bulunan EPS gen kümeleri üç kısma ayrılmaktadır. İlk bölge, EPS üretim genleri olan *epsA*, *epsB*'nin düzenlenmesi ile EPS zincir uzunluğu genleri olan *epsC*, *epsD*'nin belirlenmesi ile ilgilidir. İkinci bölge, tekrar eden EPS birimlerinin biyosentezi ile alakalıdır. En son kısım ise tekrarlanan birimlerin polimerizasyonu ve taşınmasından sorumludur. Yaklaşık olarak 15-36 kb uzunluğunda olan *S. thermophilus*'un *eps* gen kümeleri oldukça çeşitlidir ve bu özellik EPS'lerin yapısal çeşitliliğinde önemli bir rol

üstlenmektedir (Cui ve ark., 2017) .

S. thermophilus'un EPS üretimi genellikle bakterinin büyüme hızına bağlıdır. Bununla birlikte sıcaklık, pH, karbon kaynağı, karbon konsantrasyonu ve karbon ile nitrojen oranı gibi çevresel faktörlerin etkisi de bulunmaktadır (Shene ve ark., 2008). Ayrıca EPS üretimine büyüme fazı, çalkalama ve havalandırma da etki etmektedir (Barcelos ve ark., 2019).

S. thermophilus'ların ürettiği EPS'lerinin antibakteriyel ve antioksidan aktivitelere sahip oldukları, konakçı hayvanların sağlığına fayda sağladığı ve konakçı hayvanların epitel hücre rejenerasyonunu ve immünolojik doğuştan savunma mekanizmalarını uyardığı keşfedilmiştir. Bu mikroorganizmanın ürettiği, tanımlanmış biyoaktif ve probiyotik özelliklere sahip EPS'ler, çeşitli tıbbi ve farmasötik alanlarda antioksidan, antikanser, anti-enflamatuar ve immüno-modülatör ajanlar olarak kullanım alanı bulmaktadır (Cui ve ark., 2017).

1.2. Polisakkaritler

Polisakkaritler, şeker veya şeker türevi ünitelerden oluşan bir iskelete sahip makromoleküllerin bir parçası veya makromoleküllerdir. Polisakkaritler bakteriler, mantarlar ve algler tarafından sentezlenebilmektedir. Yüksek moleküler ağırlıklı genellikle 100 ila 90000 monomer biriminden oluşan moleküllerdir. Hidroliz edildikleri zaman monomerleri açığa çıkmaktadır. Doğrusal veya çok dallı yapıda olabilmektedirler. Polisakkaritlerin çok sayıda görevleri bulunmaktadır ve çok çeşitli şekillerde üretilmektedirler. Örneğin yapısal polisakkarit şeklinde, gram negatif bakterilerin lipopolisakkarit kısmı şeklinde, glikoproteinlerin polisakkarit kısmı şeklinde ve hücre içinde veya hücre dışında saf halde bulunan polisakkaritler şeklinde üretilmektedirler (Grobbe, 1998; Hussain ve ark., 2017; Barcelos ve ark., 2019) .

Mikrobiyal polisakkaritler mikrobiyal hücre içindeki pozisyonlarına göre sınıflandırılmaktadırlar. Bunlar; (i) teikoik asitler, lipopolisakkaritler (LPS) ve

peptidoglikanlar gibi hücre duvarını oluşturan yapısal polisakaritler; (ii) enerji sağlayan ve hücre için karbon kaynağı görevi gören sitozolik polisakaritler veya hücre içi polisakaritler (IPS) olarak adlandırılan polisakaritler; (iii) hücre dışı ortama biyofilm veya kapsüller formunda salgılanan ekzopolisakaritler (EPS) olarak sınıflandırılabilirler (Barcelos ve ark., 2019).

Ekzoselüler polisakarit olan EPS ve c-EPS, hücre yüzeyine bağlanma şekline göre en fazla farklılık gösteren polisakarit çeşitleridir. c-EPS, hücre yüzeyine sıkıca kovalent olarak bağlanır ve hücre etrafında bir kapsül oluşturmaktadır. EPS, hücre dışı matris içine salgılanmaktadır veya hücre yüzeyi ile gevşek bir şekilde ilişkilidir (Zeidan ve ark., 2017).

1.2.1. Ekzopolisakaritlerin Genel Özellikleri

Bakteriyel ekzopolisakaritlerin keşfi 19'uncu yüzyılın ortalarında şarapta ekzopolisakaritin bulunmasıyla başlamaktadır daha sonra bu ekzopolisakaritin dekstran olduğu ve üretiminden sorumlu mikroorganizmanın *Leuconostoc mezenteroides* olduğu belirlenmiştir. İlerleyen zamanlarda keşfedilen diğer ekzopolisakaritler, selüloz, aljinat ve ksantanı içermektedir (Nwodo ve ark., 2012). Bitkiler tarafından üretilen selüloz, pektin ve nişasta, algler tarafından üretilen agar, aljinat ve karagenan ve bakteriler tarafından üretilen aljinat, dekstran, jellan, pullulan ve ksantan gibi farklı polisakarit çeşitleri jelleştirici, stabilize edici veya kalınlaştırıcı özelliklerinden dolayı gıda katkı maddeleri olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Kumar Singha, 2012).

Hayvanlardan, bitkilerden ve mantarlardan elde edilen polisakaritler hakkında birçok çalışma olmasına rağmen günümüzde ilgiyi mikrobiyal EPS'ler görmektedir. Bunun nedeni ise laktik asit bakterilerinden gelen EPS'nin 'GRAS' statüsünde olması ve insanlara yararlı etkilerinin keşfedilmiş olmasıdır (Wang ve ark., 2014). Ancak mikroorganizmaların ürettiği EPS'nin kullanılmasını sınırlayan temel faktör, üretim maliyetlerinin pahalı olmasıdır (Donot ve ark., 2012).

Mikrobiyal polisakkaritler sentezlendikten sonra dış çevreye salgılanan veya hücre duvarı bağlantılı enzimler ile direkt hücre dışında sentezlenen polimerlerdir. Bu polisakkaritler, ekzopolisakkaritler olarak adlandırılmaktadır. Mikrobiyal ekzopolisakkaritler kimyasal yapılarına, molekül ağırlıklarına, işlevselliklerine ve bağ bağlantılarına göre sınıflandırılabilirler. Ayrıca EPS'ler hücrede bulundukları konuma göre, kimyasal ve fiziksel yapı özelliklerine ve görevlerine göre de sınıflandırılmaktadır. Monomerik bileşimlerine göre homopolimerik veya heteropolimerik olarak gruplandırılmaktadırlar. Homopolisakkaritler sadece bir tür monosakkarit içerirken heteropolisakkaritler tekrarlayan birimlerden oluşmaktadır. EPS'ler 10 ila 1000 kDa arasında çeşitli yüksek molekül ağırlıklarına sahip olabilmektedirler. Üretilen ekzopolisakkaritlerin miktarı bakteri türüne göre değişiklik gösterebilmektedir. EPS'ler özelliklerinden dolayı sanayi ve medikal sektörde çok geniş alanlarda kullanılabilmektedirler. Kullanım alanları arasında eczacılık, fonksiyonel gıda üretimi, herbisit ve kozmetik verilmektedir (Ruas-Madiedo ve ark., 2002; Nwodo ve ark., 2012; Ergene ve Avcı, 2016). EPS'ler başlıca karbonhidratlardan ve bazı karbonhidrat olmayan asetat, pirüvat, süksinat ve fosfat gibi sübsituentlerden oluşmaktadır (Ates, 2015).

EPS'ler, biyotik ve abiyotik stres faktörlerine cevap olarak veya zor çevre koşullarına uyum sağlamak amacı ile üretilmektedir ve temel görevi çevresel zorluklara karşı mikroorganizmanın korunmasına yardımcı olmaktır (Donot ve ark., 2012). Mikroorganizmalarda EPS üretimi logaritmik gelişme fazında veya sonlarında gerçekleşmektedir. Ayrıca durağan fazda birincil veya ikincil metabolik ürün olarak da EPS üretimi gerçekleşebilmektedir (Ergene ve Avcı, 2016).

Çeşitli suşların ürettiği bakteriyel ekzopolisakkaritler iki temel biçimde oluşmaktadır. Birinci biçim, hücre yüzeyine kovalent bağlar ile bağlı olan kapsüler polisakkaritler (c-EPS), İkinci biçim ise hücre yüzeyi ile kovalent olmayan, zayıf bağlarla bağlanmış slime (sümüksü) polisakkaritlerdir (r-EPS) (Kumar ve ark., 2007; Ergene ve Avcı, 2016). EPS üretebilen çoğu bakteri suşu r-EPS üretirken, bazı LAB suşları aynı anda hem c-EPS hem de r-EPS üretebilmektedir (Wang ve ark., 2014). Ekzopolisakkaritler enerji kaynağı olarak kullanılmazlar (Milci ve Yaygın, 2005).

Mikrobiyal polisakkaritler suda çözünür polimerlerdir ve iyonik veya noniyonik olmaktadır. Mikrobiyal EPS'ler % 90 veya daha fazla polisakkarit içermektedirler (Razack ve ark., 2013). Gram-negatif bakterilerin ürettiği bazı polisakkaritler nötr veya polianyonik yapıdadır. Bazı gram-pozitif bakterilerde ise EPS'lerinin kimyasal bileşimi katyonik yapıdadır (Vu ve ark., 2009). EPS üreten suşların ropy (yapışkan) ve mukoid olmak üzere iki fenotipi bulunmaktadır. Ropy fenotipindeki mikroorganizmalar uzun bir filament oluşturmaktadır fakat mukoid fenotip uygun agar plakaları üzerinde büyüyen parlak ve pürüzsüz koloniler olarak görünmektedir (Zannini ve ark., 2016).

Mikrobiyal EPS'ler çoğunlukla kozmetik, gıda, tekstil, ilaç endüstrisi gibi alanlarda ve çevre iyileştirme alanlarında daha sık kullanılmasına rağmen sağlık gelişimi ile ilgili uygulamalar günümüzde ve gelecek yıllarda daha çok araştırılacaktır. EPS'lerin antitümör, antioksidan, antidiyabetik, antiviral, makrofaj aktivasyonu, prebiyotik, kolesterol düşürücü, immünomodülatör ve antiülser aktiviteleri gibi biyolojik etkileri olduğu bilinmektedir (Yildiz ve Karatas, 2018; Zannini ve ark., 2016).

EPS'lerin fermente süt ürünlerinin fiziko-kimyasal ve reolojik özelliklerinde doğal biyo-kalınlaştırıcı maddeler ve in-situ üretilen stabilizörler olarak önemli görevleri bulunmaktadır (Yılmaz ve ark., 2015).

EPS sentezini kodlayan genler, *Lc. lactis* ve *L. casei* türlerinde olduğu gibi plazmid üzerinde veya termofilik LAB'da olduğu gibi kromozomlarda bulunmaktadır (Welman ve Maddox, 2003). Farklı LAB suşlarının ürettiği HePS geni kümeleri arasında yüksek oranda benzerlik bulunmaktadır (Van der Meulen ve ark., 2007).

EPS'nin ekstraksiyon yöntemleri kimyasal ve fiziksel yöntemler olarak iki gruba ayrılmaktadır. Kimyasal yöntemler arasında alkalin, etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) ve katyon değişim reçinesi bulunmaktadır. Fiziksel yöntemler arasında ise santrifüj, ultrason ve ısıtma bulunmaktadır (Barcelos ve ark., 2019). Sıvı kültür ortamından EPS izolasyonu için kimyasal ve fiziksel yöntemlerin her ikisini de içeren

üç temel adım bulunmaktadır. Bu adımlar hücre uzaklaştırılması, polimer çökmesi ve kurutmadır. Hücre uzaklaştırma normal olarak polisakarite bağlı olarak hız ve zamanla santrifüjleme kullanılarak elde edilirken, çökeltme, örneğin metanol, etanol, izopropanol veya aseton gibi su ile karışabilen bir çözücü olan önleyici bir madde kullanılarak yapılmaktadır. Polisakarit termal olarak kararlı olduğundan dolayı, EPS'yi bozabilecek enzimlerin yok edilmesi için ısı uygulanabilmektedir (Freitas ve ark., 2011).

EPS'lerin detaylı yapısal analizi zaman alıcı ve farklı tekniklerin kullanımı içermektedir. Kimyasal bozunma yöntemleri (örneğin hidroliz), ayırma yöntemleri (örneğin SEC-kromatografi ve HPLC / HPAEC) ve tanımlama yöntemleri (örneğin, GLC-EIMS ve ^1H / ^{13}C NMR spektroskopisi) EPS'lerin yapısının aydınlatılmasında kullanılmaktadır (Gerwig, 2019).

1.2.2. Ekzopolisakkarit Üreten Mikroorganizmalar

EPS, mezofilik, termofilik ve halofilik gruplara ait Arkea, Bakteri, Mantar ve Alg gibi farklı canlılardan izole edilmiştir. Laktik asit bakterileri, EPS üreticisinin iyi bilinen mezofilik grubudur. Mezofilik bakteri cinsleri arasında iyi EPS üretici olduğu bilinen *Bacillus spp.*, *L. bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. brevis*, *Lc lactis*, *Leuc. mesenteroides* ve *Streptococcus spp* bulunmaktadır. Diğer EPS üreticileri *Pseudomonas spp.*, *Aureobasidium spp.*, *Sinorhizobium spp.*, *Escherichia spp.*, *Asetobacter spp.*'dir. Arkea ve bakteri filumlarındaki EPS üretebilen termofilik mikroorganizmalar çeşitli termofilik ortamlardan izole edilebilmektedir. EPS üretebilen termofilik bakterilere örnek olarak *Bacillus thermantarcticus*, *Geobacillus thermodenitrificans*, *Bacillus licheniformis* ve *Thermotoga maritima* gibi bakteriler verilmektedir. En yaygın halofilik EPS üretici bakteri cinsi *Halomonas*'dır. Bu cins içerisinde en önemlileri ise *H. maura*, *H. eurihalina*, *H. ventosae* ve *H. anticariensis*'dir (Kumar Singha, 2012).

En yüksek miktarda mikrobiyal EPS üreticisi olarak *Xanthomonas campestris*

olaral bilinmektedir ve bu mikroorganizma yaklaşık olarak 30-50 g / L ksantan sakızı üretmektedir. (Harutoshi, 2013). *Streptococci* ve ilgili cinsler EPS'yi çok daha az miktarda üretse de, *Lactobacilli*'nin litre büyüme ortamı başına 1-10 g EPS ürettiği, *Weissella* türlerinin ise optimize koşullar altında 18 g / L'ye kadar üretim yaptığı bilinmektedir (JB Prajapat, 2013).

1.2.3. Ekzopolisakkaritlerin Bileşimi ve Yapısı

Homopolisakkaritler (HoPS) α -D-glukanlar, β -D-glukanlar, fruktanlar ve diğerleri (örneğin poligalaktanlar) şeklinde dört gruba ayrılmaktadır. Bu gruplandırmanın temelinde monomerik birimlerin doğası ve bağlar arası bağlantı bulunmaktadır. Homopolisakkaritler yüksek moleküler ağırlığa sahiptirler. Homopolisakkaritlerin üretimi için ortamda süktroz gibi belirli bir substratın bulunması gerekmektedir. HoPS'ler glikozil hidrolaz ailesine ait hücre dışı enzimler ile sentezlenmektedir. α -glukanlar ve β -fruktanlar sırası ile glukansükrazlar ve fruktansükrazlar tarafından sentezlenmektedir. Ayrıca monosakkaritlerin birleşmesi hücre dışında gerçekleşmektedir. Selüloz, dekstran, mutan, alternan, pullulan, levan, kurdan homopolisakkarit yapısında olan önemli EPS çeşitleridir. Çizelge 1.1'de homopolisakkarit üreten LAB'ları ve homopolisakkarit çeşitlerini göstermektedir (Ruas-Madiedo ve ark., 2002; Harutoshi, 2013; Zannini ve ark., 2016; Ergene ve Avcı, 2016).

Çizelge 1.1 Homopolisakkarit çeşitleri ile bu homopolisakkaritleri üreten mikroorganizmalar (Zannini ve ark., 2016)

Homopolisakkarit Çeşitleri	Homopolisakkarit Üreten Türler
1) α -Glukanlar	
Dekstran	<i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus sakei</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i> , <i>Lactobacillus parabuchneri</i> , <i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranum</i> , <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus downei</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Streptococcus gordonii</i> , <i>Weissella</i>
Mutan	<i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus downei</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i>
Alternan	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Reuteran	<i>Lactobacillus reuteri</i>
2) β -Glukanlar	<i>Pediococcus damnosus</i> , <i>Pediococcus parvulus</i> , <i>Lactobacillus</i> sp.
3) Fruktanlar	
Levan	<i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i> , <i>Streptococcus salivarius</i>
İnülin Benzerler	<i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Leuconostoc citreum</i> , <i>Streptococcus mutans</i>
4) Poligalaktanlar	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> H414

Heteropolisakkaritler (HePS) çok çeşitli mezofilik ve termofilik LAB'lar tarafından üretilmektedir. Bakteriyel EPS'nin çoğunluğu heteropolisakkaritler olarak sınıflandırılmaktadır. HePS üreten termofilik LAB'lar mayalanmış süt ürünlerinde kullanılmaktadır. Çünkü bunlar süt ürünlerinin yapısının oluşmasında ve gelişmesinde etkili olmaktadır. Ayrıca ağızda bıraktığı tadın oluşmasında da görev almaktadırlar. Heteropolisakkaritlerin önemli iki üyesi jellan ve ksantandır. Çoğunlukla D-glukoz,

D-galaktoz ve L-ramnoz birimlerinin kombinasyonunu ve bazı durumlarda N-asetilglukozamin (GlcNAc), N-asetilgalaktozamin (GalNAc) veya glukuronik asit (GlcA) içermektedir. Yapıda bazen karbohidrat olmayan fosfat, asetil ve gliserol gibi sübstitüentler bulunmaktadır. Heteropolisakkaritlerin moleküler kütlesi 4.0×10^4 ile 6.0×10^6 Da arasında değişmektedir. HePS, ropy veya mukoid yapıda olabilmektedir (Ruas-Madiedo ve ark., 2002; Ergene ve Avcı, 2016; Zannini ve ark., 2016; Barcelos ve ark., 2019). Heteropolisakkaritlerin çoğu üronik asit varlığından dolayı polianyonik yapıdadır (Singh ve ark., 2008). Heteropolisakkaritlerin öncü tekrar birimleri hücre içi olarak sentezlenmekte ve polimerizasyonun hücre dışında olabilmesi için izoprenoid glikozil taşıyıcı lipidler bu öncü tekrar birimlerinin hücre zarından taşınmasından görev almaktadır (Nwodo ve ark., 2002). Çizelge 1.2’de heteropolisakkarit sentezleyen mikroorganizmalar gösterilmektedir.

Homopolisakkarit ve heteropolisakkaritler arasında kimyasal yapı, bağlantı bağları, sentetik enzimleri ve sentez bölgeleri bakımından farklılıklar bulunmaktadır (Nwodo ve ark., 2002). Heteropolisakkaritler çoğunlukla hücre içinde sentezlenirken homopolisakkaritler genellikle sükroz kullanılarak ekstraselüler enzimlerce sentezlenmektedir (Ergene ve Avcı, 2016). *Serratia marcescens*, *Aeromonas salominicida* ve *Pseudomonas sp. NCIB 2021* suşlarının hem homopolisakkarit hem de heteropolisakkarit yapıdaki EPS’leri üretebildiği bilinmektedir (Kumar ve ark., 2007).

Çizelge 1.2 Heteropolisakkarit üretebilen Laktik Asit Bakterileri (Ruas-Madiedo ve ark., 2002)

<i>Lactobacillus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Lactococcus</i>
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> 291	<i>S. macedonius</i> Sc136	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> NIZO B39
<i>L. helveticus</i> Lb161	<i>S. thermophilus</i> SFi 20	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> NIZO B891
<i>L. helveticus</i> K16 <i>. rhamnosus</i> C83	<i>S. thermophilus</i> Rs <i>S. thermophilus</i> Sts <i>S. thermophilus</i> MR-1C <i>S. thermophilus</i> S3 <i>S. thermophilus</i> 8Sb	

1.2.4. EPS'lerin Biyosentezi

Bakterilerin ürettiği çok çeşitli ekzopolisakkaritler farklı biyosentez yolları ile sentezlenmektedir. Her EPS çeşidi kendi biyosentetik yolağına ve dolayısıyla bu yolları etkileyebilecek faktörlere sahiptir. (Barcelos ve ark., 2019; Schmid ve ark., 2015). Mikrobiyal EPS üretimi için çok sayıda enzim ve düzenleyici protein görev almaktadır (Jaiswal ve ark., 2014).

EPS üretimi için regülasyonu kodlayan, zincir uzunluk tayini, tekrar-ünite grubu, polimerizasyon ve taşınmayı gerçekleştiren genetik elemanlara ihtiyaç bulunmaktadır (Péant ve ark., 2005).

EPS biyosentezi temel olarak üç ana aşamaya ayrılabilir. İlk olarak bir karbon substratın asimilasyonu gerçekleşmekte daha sonra polisakkaritlerin hücre içi sentezi ve en son olarak ise hücre dışına EPS'nin eksüdasyonu sağlanmaktadır (Donot ve ark., 2012). Hücre dışında sentezlenen dekstran, levan ve mutan gibi homopolisakkaritler haricinde bakteriyel EPS'ler hücre içinde üretilmekte ve daha sonra enzimlerin yardımı ile hücre dışı ortama taşınmaktadırlar (Ates, 2015).

EPS sentezinde görev alan enzimleri dört grup altında incelenmektedir. Bu enzimler hücrenin farklı kısımlarında bulunmaktadır. Birinci grup heksokinaz gibi hücre içi enzimlerdir. Bu enzimler glikozu (Glc) glikoz-6-fosfata (Glc-6-P) fosforile etmektedir. İkinci grup, şeker nükleotidlerinin dönüşümünü katalize etmek için gereklidir. Glc-1-P'den UDP-Glc'ye, dönüşümü katalize eden Uridin-5'-difosfat (UDP) -glukoz pirofosforilaz ikinci gruba örnek verilmektedir. Üçüncü grup, hücre periplazmik zarında bulunan glikozil transferazlardır (GT). Şeker nükleotidleri, GT'lar tarafından glikozil taşıyıcı lipide bağlanan tekrarlayan bir birime transfer edilmektedir. En son grup ise makromoleküllerin polimerizasyonunda görev almaktadır ve hücre zarı ile hücre duvarının dış tarafında bulunmaktadır (Ates, 2015). Elde edilen EPS miktarının daha yüksek değerlerini elde etmek için sentez, enzim yönetimi ve genetik modifikasyonların oranında bir artışa ihtiyaç duyulmaktadır (Barcelos ve ark., 2019).

EPS'lerin üretilmesi için Wzx / Wzy'ye bağlı yol, ATP-bağlayıcı cassette (ABC) taşıyıcısına bağımlı yol, sentaz bağımlı yol ve tek bir sükras proteini kullanılarak hücre dışı sentezinin yapıldığı genel mekanizmalar bulunmaktadır. Hücrenin içinde, öncü moleküllerden ilk üç mekanizma ile aktive edilmiş şeker veya şeker asitleri enzimler tarafından oluşturulmaktadır. Ekstraselüler üretim yolunda, di-veya trisakkaritlerin bölünmesiyle elde edilen monosakkaritlerin doğrudan ilave edilmesi ile polimer iplikçik uzatılmaktadır (Ates, 2015).

Wzx-Wzy yolu ile sentezlenen polisakkaritlerin kimyasal yapısında dört veya beş tip şeker bulunmaktadır ve bu nedenle heteropolimerler olarak sınıflandırılmaktadır. Bu yolu kullanan tüm suşların, hücre dışı polisakkarit operonları içinde flippaz (Wzx) ve polimerazın (Wzy) genlerini taşımaktadırlar. Membran-kapsayan multiprotein kompleksi ile biyosentez katalizlenmektedir. Başlangıç aşamasında yer alan fosfoglikoziltransferaz (pGT), ilk asidik residue (kalıntıyı) bir membran lipid taşıyıcısına fosforil bağ yolu ile tutturmaktadır. Tekrarlanan ünitenin ardışık GT'ler tarafından tamamlanmasından sonra, Wzx ile hücre içinden hücre dışına taşınmakta ve daha sonra Wzy proteini tarafından polimerize edilmektedir. Dış zar boyunca son translokasyon, Wza gibi dış zar polisakkaritleri ile yapılmaktadır. Heteropolisakkaritin biyosentezi için gerekli olan gen grupları, tekrarlayan birimin

Bakteriyel eksopolisakkarit biyosentezinin ikinci mekanizması olan ABC taşıyıcısına bağımlı yol esas olarak kapsüller polisakkarit (c-EPS) biyosentezinde kullanılmaktadır. Wzx / Wzy mekanizmasında olduğu gibi, ABC-transportere bağımlı yoldan sentezlenen c-EPS, iç zarın sitoplazmik yüzünde GT'lerin etkisi ile birleştirilmektedir. Eğer birleştirme aşamasında sadece tek bir GT içeren operon bulunuyor ise homopolimerler sentezlenmektedir. Fakat birleştirme aşamasında çoklu GT'ler kullanılıyor ise heteropolimerler sentezlenmektedir (Schmid ve ark., 2015).

The diagram illustrates three pathways for peptidoglycan synthesis across the bacterial cell envelope, which consists of the outer membrane, periplasm, and inner membrane.

- I- Wzx/Wzy bağımlı yol (Wzx/Wzy dependent pathway):** Precursors are synthesized in the cytoplasm and then pass through the inner membrane (via a transporter like Wzx) and the periplasm (via a transporter like Wzy) to be incorporated into the peptidoglycan layer.
- II- ABC taşıyıcı bağımlı yol (ABC transporter dependent pathway):** Precursors are synthesized in the cytoplasm and then pass through the inner membrane (via a transporter like ABC) and the periplasm (via a transporter like ABC) to be incorporated into the peptidoglycan layer.
- III- Sentaz bağımlı yol (Synthase dependent pathway):** Precursors are synthesized in the cytoplasm and then pass through the inner membrane (via a transporter like Synthase) and the periplasm (via a transporter like Synthase) to be incorporated into the peptidoglycan layer.

The legend identifies the precursors and their transporters:

- UDP-Glucose (red circle)
- UDP-Glutamate acid (blue circle)
- dTDP-L-Alanine (green circle)
- C-Acetyl (yellow circle)
- Isd-linker (red circle)
- Phosphate (blue circle)

17

1.2.5. Mikrobiyal EPS Üretimini Etkileyen Faktörler

Yüksek EPS üretimini garanti eden tek bir kültür koşulu bulunmamaktadır. Çünkü mikroorganizmaların karbon ve azot kaynağı kullanımında, mineral gereksinimlerinde, optimum sıcaklık ve pH koşullarında farklılıklar bulunmaktadır. Karbon (C), nitrojen (N), fosfat (P) ve oksijen (O) gibi faktörler karbon kaynağının polisakkaride çevrilmesini etkileyen faktörlerden sadece birkaçıdır. Mikrobiyal EPS'lerin miktarı ve kalitesi, beslenme ve çevre koşullarından önemli ölçüde etkilenmektedir. Kültür koşullarının değiştirilmesi ile polimer üretiminde artış sağlamak mümkün olabilmektedir (Kumar ve ark., 2007). Üretilen EPS miktarı birçok iç faktörden ve fermentasyon sıcaklığı, pH gibi dış faktörlerden etkilenmektedir (Dertli ve ark., 2016).

Yapılan bazı çalışmalarla maksimum EPS üretimi için sabit bir pH gerektiği bulunmuştur. Glikozil-hidrolaz enzimi, molar kütleyi azaltan uzun fermentasyon koşullarından sonra EPS'yi parçalayabilmektedir. Bu nedenle üretim ve bozulmanın etkilerini, optimum pH dengelemektedir (Barcelos ve ark., 2016).

EPS üretimini etkileyen temel faktörler arasında karbon ve nitrojen kaynağı bulunmaktadır. Karbon kaynağı, EPS'nin sentezlenmesi için kullanılmaktadır. EPS üretmek için kullanılan çok çeşitli karbon kaynakları arasında sakkaroz, glikoz, laktoz, maltoz, mannitol, sorbitol, peynir altı suyu, nişasta, şeker konsantrasyonları ve metanol yer almaktadır. Bu karbon kaynaklarının kombinasyonlar şeklinde kullanılması üretilen EPS miktarını artırabilmektedir. Nitrojen kaynağı olarak amonyum sülfat, pepton, sodyum nitrat, üre ve maya özütü kullanılmaktadır. Organik azot kaynağının kullanılması daha yüksek miktarda EPS üretimini sağlamaktadır. Temel hücre bileşenlerinin sentezlenmesi için nitrojenin ortamda bulunması gerekmektedir. EPS üretimi için yüksek karbon / azot oranı tercih edilmektedir. En uygun oran ise 10:1 olarak kabul görmektedir. Bu nedenle, daha yüksek bir C / N oranı ve yeterli miktarda hem karbon hem de azotun ortamda bulunuyor olması EPS üretiminin artmasına sebep olmaktadır. Fazla miktarlarda karbon kaynağının kullanılması mikroorganizmaların büyüme fazını uzatabilmekte ve büyük miktarlarda

azot kaynağının kullanılması degrade edici enzimin üretimini artırabilmektedir. EPS üretimi için gerekli diğer faktörler arasında iyon kaynağı, oksijen ve havalandırma oranı, ortamın vizkositesi, inkübasyon sıcaklığı ve pH bulunmaktadır (Kumar ve ark, 2007; Kumar Singha, 2012; Harutoshi, 2013; Barcelos ve ark., 2019).

EPS üretimi hem büyüme evresine hem de mikroorganizmaya bağlıdır. Yapılan birçok araştırmada yüksek miktarda EPS üretimi normalde inkübasyondan 24 saat sonra ortaya çıkan durağan faz ile ilişkili olmaktadır. Fakat yapılan çalışmalarla farklı mikroorganizmaların büyüme eğrisinin farklı evrelerinde EPS üretilebildiğini göstermiştir. Örneğin *Rhodopseudomonas acidophila* için durağan faz, *Bacillus megaterium* için geç log fazı ve *Saccharophagus degradans* ve *Vibrio harveyi strain VB23* için başlangıç durağan fazına geç giriş ile log fazı gibi dönemlerde EPS üretilmektedir (Barcelos ve ark., 2019).

EPS üreticilerinin çoğunun aerobik olması nedeniyle yüksek havalandırma EPS üretiminde daha iyi sonuçlar alınmasına neden olabileceği düşünülmektedir. Buna neden olarak ise moleküler oksijenin EPS üretiminde birincil enerji metabolizması kaynağı olarak kullanılması gösterilmektedir (Barcelos ve ark., 2019).

Yapılan bazı araştırmalar ile EPS üretiminde ağır metallerin etkisi incelenmiştir. Yapılan bir çalışmada lityum, bakır, kurşun ve kadmiyum gibi farklı ağır metallerin farklı konsantrasyonlarında *Cyanothece sp. CCY 0110*'ın büyüme ve EPS üretimin etkisi incelenmiştir. EPS üretiminin bu ortamda büyüme modelini izlemeye devam ettiği bulunmuştur (Mota ve ark., 2015).

Yapılan bir araştırmada ise UV ışınlarının EPS üretimi üzerinde olumsuz bir etkisi olduğu bulunmuştur. 10 dakika ile 70 dakika arasında düzenli aralıklarla UV ışınlarına maruz kaldıktan sonra, EPS'nin yavaş yavaş bozulduğu ve bu süre içerisinde hücrelerin az miktarda EPS ürettiği rapor edilmiştir (Razack ve ark., 2013).

1.2.6. EPS'lerin Bakterilerdeki Fizyolojik Rolü

Ekzopolisakkaritlerin doğal ortamda mikroorganizmayı koruyucu görevleri vardır. EPS'ler kötü çevre koşullarına karşı hücreler için koruyucu bir tabaka oluşturmakta ve besin kıtlığı olduğu zamanlar da karbon ve enerji rezervleri olarak kullanılmaktadırlar. EPS'lerin çok çeşitli biyolojik görevleri bulunmaktadır. EPS'ler mikroorganizmayı antimikrobiyal faktörlere karşı korumaktadır. Bu antimikrobiyal faktörler arasında bakteriyofajlar, fagositoz, protozoa saldırıları, metal iyonları, nisin, lizozim, temizlik maddeleri, etanol ve antibiyotikler bulunmaktadır. Mikroorganizmayı ayrıca kurumaya, faj saldırısına, toksik bileşiklere ve ozmotik strese karşı korumaktadır. EPS'lerin ayrıca hücre tanıma, yüzeylere yapıştırma ve çeşitli ekosistemlerde biyofilm oluşumunda önemli rolleri bulunmaktadır (Ruas - Madiedo ve ark., 2002; Kumar Singha, 2012; Zannini ve ark., 2016).

1.2.7. Biyoteknoloji Yolu ile EPS Üretimi

Mikrobiyal EPS'lerin biyoteknolojik üretimi için genetik mühendisliğinin kullanımı halen çalışılmakta olan umut verici alternatif bir yoldur. Ticari ölçekte üretimini ve çeşitli alanlarda uygulama olanaklarını geliştirmek hedeflenmektedir. Bu amaca ulaşmak için yapılanlar arasında en uygun genetik araçlar: (i) mikrobiyal polisakaritlerin genetik belirleyicilerinin daha verimli konakçılara aktarılması ve EPS üretimini arttırması veya (ii) polisakkaritin tekrar ünitesinin değiştirilmesidir. Ancak EPS üretimi için genetik ve metabolik mühendisliğin kullanımı, genetik araçların yeterli olmamasından dolayı hala yaygın değildir (Barcelos ve ark., 2019).

Yapılan bir araştırmada ürettiği EPS'nin yapısında glikoz, galaktoz ve N-asetilgalaktozamini içeren *S. thermophilus Sfi6'* nın gen kümesi izole edilip EPS üreticisi olmayan konakçı *Lc. lactis MG1363* 'e transfer edilmiştir. Sonuç olarak yüksek moleküler ağırlıklı ve farklı yapıya sahip yeni bir EPS üretilmiştir (Barcelos ve ark., 2019). Polisakkarit üretimi için *Lc. lactis NIZO B40* suşunun kullanıldığı bir başka araştırmada ise bu suşun pNZ4000 geninin ekspresyonunu yükselterek EPS üretiminin artması sağlanmıştır. Bu sonuç, EPS üretiminin, EPS

öncüllerinin seviyesinden ziyade, pNZ4000 gen kümesinin ekspresyon aktivitesi ile ilgili olduğunu ortaya çıkarmıştır (Boels ve ark., 2003).

1.2.8. EPS'nin Potansiyel Uygulanması

Ekzopolisakkaritler doğada yenilenebilir olmaları, toksik olmamaları ve mikroorganizmalar tarafından üretililebilmeleri nedeniyle biyopolimerler olarak geniş kullanım alanları bulmaktadırlar (Razack ve ark, 2013). EPS'lerin fiziksel ve kimyasal özelliklerine dayanan çok çeşitli EPS uygulamaları bulunmaktadır. EPS'nin moleküler yapısındaki geniş çeşitlilik nedeniyle mikrobiyal EPS uygulamaları, gıda sektöründen medikal sanayiye çok geniş bir alana sahiptir (Barcelos ve ark., 2019).

Çeşitli endüstriyel uygulamalar için doğal polimerlere olan talep, mikroorganizmalar tarafından üretilen EPS'lere karşı ilgiye yol açmıştır. Jelleştirme maddesi, emülgatör, dengeleyici veya doku yapıcı madde olarak çeşitli kullanımlara sahip olabilen mikrobiyal polisakkaritlerin izolasyonu ve tanımlanmasına ilgi artmıştır (Sutherland, 2001). Geleneksel uygulamalarda bitki veya yosun polisakkaritleri yerine ksantan, jellan, dekstran ve kurdan gibi benzersiz fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip bakteriyel EPS'lerin kullanılması tercih edilmektedir (Ates, 2015).

Mikrobiyal EPS uygulama alanları arasında tekstil, süt ürünleri, kozmetik ürünler, ilaç ve eczacılık gibi sağlık alanları, çevre iyileştirme bulunmaktadır. Mikrobiyal EPS'ler güvenli alternatif flokülasyon maddeleri olarak kullanılmaktadır (JB Prajapat, 2013). EPS'ler, hücre agregatlarının oluşumu, flokülasyon ve benzeri süreçlerin oluşumunda temel bir rol oynamaktadırlar. Günümüzde EPS'ler arındırıcı (depollution) ajanlar olarak kullanılmaya başlanmıştır (Zannini ve ark., 2016).

Mikrobiyal ekzopolisakkaritler, 20. yüzyılın ortalarından itibaren, medikal genleştirici olarak dekstran çözeltilerinde yapılan ilk klinik deneylerle tıbbi uygulama alanı bulmuşlardır. Mikrobiyal EPS'ler bazı özelliklerinden dolayı ilaç salım sistemleri için umut verici bir materyal haline gelmektedir. EPS'lerin hidrofilik

özellikleri, hidrojeller oluşturma kabiliyeti, çok miktarda suyu tutan çapraz bağlı 3D ağ yapıları ve çözünmez halde kalmaları onları ilaç taşıyıcıları olarak çok faydalı kılmaktadır. Aljinatlar, reflü karşıtı, diş gösterimleri veya tabletler için matris olarak kullanılmaktayken hiyaluronik asit ve türevleri cerrahi, artrit tedavisi veya yara iyileşmesinde kullanılmaktadır. Bakteriye selüloz ise doku mühendisliği alanında kullanılmaktadır (Moscovici, 2015).

1.2.8.1. Ekzopolisakkaritlerin Gıda Sanayisinde Kullanılması

Mikrobiyal EPS'lerin gıda sanayide kullanılması giderek artan bir şekilde ilgi görmektedir. LAB'lar tarafından üretilen EPS'lerin gıdanın reolojik özelliklerini ve yapısını değiştirebilmesinden dolayı gıda endüstrisinde viskozite sağlayıcı, stabilizatörler, emülsifiye edici veya jelleştirici madde olarak kullanım alanı bulmaktadırlar. Gıda katkı maddesi gerektiren ürünler için EPS'ler iyi bir alternatif olmaktadır. Fakat hem üretim maliyeti hem de LAB'lar tarafından düşük miktarda EPS üretilmesi, mikrobiyal EPS'lerin endüstriyel uygulamaları için engelleyici faktörlerdir (Caggianiello ve ark, 2016).

LAB'lar tarafından üretilen EPS'ler, yoğurt, peynir ve süt bazlı tatlıların endüstriyel üretiminde doğal tekstür sağlayıcılar olarak görev almaktadır (Harutoshi, 2013). Ayrıca EPS'ler gıda ürünlerinde kalınlaştırıcılar olarak kullanılmaktadır (Donot ve ark., 2012). Yoğurt dahil olmak üzere fermente süt ürünlerinde fermentasyon sırasında EPS üreten kültürlerin EPS üretmeyen kültürlerle kıyaslandığı zaman daha yüksek viskozite değerleri sağladığı rapor edilmiştir (Yılmaz ve ark., 2015).

Fermente süt ürünlerindeki EPS'lerin reolojik görevlerini monosakkarit bileşimi, bağlantı türü, yan zincirler, net yük, EPS'nin moleküler ağırlığı ve özellikle proteinler ve iyonlar gibi süt bileşenleri ile etkileşimleri gibi çeşitli faktörler etkilemektedir. Ayrıca reolojik görevlerini etkileyen bir başka etken ise EPS'nin kompaktlığıdır. Bu etkeni ise EPS molekülündeki dalların derecesi ve uzunluğu belirlemektedir (Yılmaz ve ark., 2015).

Amerika Birleşik Devletleri Federal Düzenlemeler Yasasına göre düşük yağlı yoğurdun içeriğinde % 0,5'den az yağ olmamalı ve % 2'den fazla yağ içermemesi gerektiğini belirtmektedir. Fakat yağlar yoğurdun duysal özelliklerine ve yapısına etki eden önemli bileşendir. Gıda endüstrisi çoğunlukla doğal viskozitörler ve doku geliştiriciler olarak bitkisel karbonhidratlar veya jelatini yağlara alternatif olarak kullanmaktadır. Fakat bunların kullanımı ise Avrupa Birliği'nde kısıtlıdır. Bu nedenle Avrupa'da EPS üretim kapasitesine sahip yoğurt kültürleri üretilmeye başlanmıştır. Yoğurdun içindeki EPS üreten kültürlerin gelişmiş duysal özellikleri artırdığı belirlenmiştir. Bu özellikler arasında viskozite, ağız hissi, tat algısı, parlaklık ve krema, gelişmiş su bağlama kapasitesi ve nihai ürünün depolama stabilitesi bulunmaktadır (London ve ark., 2015). Bu özelliklerin gelişmesi sağlanırken ise son ürünün lezzetini değiştirmedeği bulunmuştur (Caggianiello ve ark., 2016).Yapılan bir çalışmada *Lactobacillus mucosae*'nin in situ ortamda ürettiği EPS'nin, yoğurdun dokusal ve reolojik özelliğini geliştirdiği fakat starter (başlatıcı) kültürleri etkilemediği bulunmuştur (London ve ark., 2015).

Geniş çeşitlilikte üretilen ve fiziko-kimyasal özelliklerinden dolayı ilgi çekici olan mikrobiyal EPS'ler Amerika Birleşik Devleti gıda endüstrisinde katkı maddeleri olarak yalnızca ksantan ve jellanın kullanılmasına izin verilmektedir (Donot ve ark., 2012).

Yapılan bir çalışmada EPS'ler, peynirlerin dokusal ve reolojik özelliklerini geliştirmek için, azaltılmış yağlı ve yarı yağlı peynirlerde kullanılmıştır. Bir başka çalışmada ise belirli koşullarda EPS üretebilen starterlerin kullanımının, daha yüksek nem seviyelerine yol açtığını ve EPS-üreten starter ile üretilen yağsız peynirin mikro yapısının, tam yağlı peynirlere benzediğini göstermiştir (Lynch ve ark., 2014).

Son yıllarda ekmek fermentasyonu gerçekleştiği sırada üretilen mikrobiyal ekzopolisakkaritlerin üzerine çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. LAB'lar tarafından üretilen ekzopolisakkaritlerin ekmek geliştiriciler olarak kullanılan daha pahalı bitkisel hidrokoloidlerin yerini almak için geçerli ve daha ucuz bir alternatif olabileceği düşünülmektedir (Arendt ve ark., 2007). *L. sanfranciscensis*'in ürettiği

fruktanların hamur reolojisinde ve ekmeğin dokusunda olumlu katkıları olduğu bulunmuştur. Ayrıca in situ üretilen EPS'nin dışarıdan eklenenlere göre daha etkili olduğu belirtilmiştir (Arendt ve ark., 2007). Bir homopolisakkarit çeşiti olan dekstranların unlu ürünlerde katkı maddesi olarak kullanılması Avrupa Komisyonu tarafından onaylanmıştır (Lynch ve ark., 2014).

1.3. Bazı Önemli Ekzopolisakkarit Çeşitleri, Özellikleri ve Uygulama Alanları

Günümüzde yapılan çalışmalar EPS'lerin potansiyel kullanımı üzerine odaklanılmıştır (Yildiz ve Karatas, 2018). Mikrobiyal EPS'nin endüstriyel uygulaması, yüksek üretim maliyeti ve geri kazanım süreçleri nedeniyle sınırlı olmaktadır (JB Prajapat, 2013). Ancak dekstran, ksantan, jellan, pullulan, kurdlan ve levan gibi EPS'ler endüstriyel açıdan oldukça önemli olan EPS çeşitleridir (Ergene ve Avcı, 2016). Pullulan gıda endüstrisi, sağlık ve eczacılık alanlarında kullanılmaktadır (Ravella ve ark., 2010). Kurdlan, gıdaların yapısal kalitesinin, su taşıma kapasitesinin ve termal stabilitesinin iyileştirilmesi amacı ile jelleştirme malzemesi olarak kullanılmaktadır (Shih ve ark., 2009; Hussain ve ark., 2017; Yıldiz ve Karatas, 2018). En yaygın olarak kullanılan EPS çeşitlerinden biri olan Ksantan zatkı gıdalarda, tuvalet malzemelerinde, yağların geri dönüştürülmesinde ve kozmetik gibi geniş bir alanda kullanım alanı bulmaktadır. Tarım endüstrisinde, mantar öldürücüler, herbisitler ve insektisitler de akışkanlığı arttırmak için kullanılmıştır. Petrol endüstrisinde ise petrol sondajı, parçalama, boru hattı temizliğinde kullanılmaktadır (Rosalam ve England, 2006). Jellan ise gıdalarda lezzetin açığa çıkmasını sağlamaktadır. Ayrıca gıda ürünlerinde bulunan geniş pH aralığında stabil kalmaktadır. Jellan diş ve kişisel bakım ürünlerinde jelleştirici maddeler olarak kullanılmaktadır. Nişasta ile karıştırıldığında ise kagıt üretiminde kullanılmaktadır (Sutherland, 1998; Banik ve ark., 2000). Bazı *Streptococcus* cinsine ait türler dekstran ve levan sentezlemektedir.

1.3.1. Levan

Levan, fruktoz içeren bir homopolisakkarittir (Srikanth ve ark., 2015). Levan biyosentezi, levansükraz adı verilen sakkarozu substrat olarak kullanılan hücre dışı enzim ile yapılmaktadır (Donot ve ark., 2012). Mikrobiyal levanlar EPS matrisinin oluşumuna etkileri bulunmaktadır ve mikrobiyal biyofilm oluşumuna yardımcı olmaktadır. Biyo-uyumluluk, biyo-bozunurluk, yenilenebilirlik, esneklik, toksik olmayan ve çevre dostu özelliklerine ek olarak biyomedikal özellikleri de bulunmaktadır. Örneğin anti-oksidan, anti-inflamatuar, anti-kanserojen, anti-AIDS, hiperglisemik inhibitör gibi etkileri bulunmaktadır (Srikanth ve ark., 2015).

Kişisel bakım ve kozmetik alanında çevre dostu ve güvenli ürünlere karşı olan talep levan için oldukça dikkat çekici bir alandır. Levan, saç fiksatif ürünlerinde birçok kullanım alanı bulunmaktadır. Saç tutma özelliklerini arttırmak için mevcut saç tutucu jellere, köpüklere sulu levan çözeltileri eklenmektedir. Levan'ların düşük içsel viskozitesi bitmiş ürünlerin fiziksel özelliklerini büyük ölçüde etkilememektedir (Oner ve ark., 2016).

Levan, yüksek moleküler ağırlığı ve düşük viskozite gibi özellikleri sebebi ile gıda endüstrisinde potansiyel ve işlevsel bir polisakkarit olarak kabul görmektedir. Doğal olarak çeşitli gıda ürünlerinde bulunmaktadır ve insanlar tarafından çok düşük miktarlarda tüketilmektedir. Prebiyotik özelliğe sahip olan levanlar, Bifidobakterilerin büyümesini uyarak kolonik mikrobiyotayı önemli ölçüde etkilemektedir (Srikanth ve ark., 2015).

1.3.2. Dekstran

Dekstranlar ilk üretilen endüstriyel polisakkaritlerdir. 1880 yılında, şeker kamışı veya pancar şuruplarında, dekstranın şurupların kalınlaşmasından ve jelleşmesinden sorumlu olduğu keşfedilmiştir. Üretilen dekstranların yapısal farklılıkları nedeniyle, bazıları suda çözünebilirken bazıları çözünememektedir (Yang,

2000). Moleküler ağırlıkları ortalama 110-160 kDa aralığında değişmektedir (Schmid ve ark., 2015). Dekstranlar, d-glikozil-transferaz olarak da bilinen dekstransükraz enzimi tarafından sentezlenmektedir (Donot ve ark., 2012) .

Dekstranlar hem prebiyotik özellikleri nedeni ile hem de fırıncılık ve tahıl bazlı fermente edilmiş fonksiyonel içeceklerin üretimi gibi geniş endüstriyel kullanımları olması nedeni ile oldukça fazla ilgi görmektedir (Rosca ve ark., 2018). Dekstranlar, nem tutmayı geliştirmek, viskoziteyi iyileştirmek ve şekerlerin kristalleşmesini önlemek amacı ile şekerleme endüstrisinde kullanılmaktadır. Sakız ve jöleli şekerler içinde jelleştirici maddeler olarak görev yapmaktadır. Dondurmada kristalizasyonu engellemek amacı ile kullanılmaktadır. Ayrıca puding karışımlarında istenen yapının oluşmasını sağlamaktadır (Yang, 2000).

Biyolojik olarak bozunabilirliği ve biyouyumluluğuna bağlı olarak, plazma hacim genişleticisi, ilaç dağıtımı gibi çeşitli biyomedikal uygulamalar için kullanılmıştır (Jiang ve ark., 2004). Tıpta antitrombotik ajanlar olarak kullanılmaktadır. Kan viskozitesini azaltmakta ve hacmini ise artırmaktadırlar. Dekstran bazlı nanopartiküller, hedefe yönelik ilaç tedavisindeki uygulamalara sahiptir. Ayrıca metal nanopartiküllerin oksidasyonuna karşı koruma için kaplama olarak da kullanılmaktadır (Rosca ve ark., 2018).

1.4. Meyve Posası

Meyve posaları birçok meyve suyu fabrikasından yan ürün olarak ortaya çıkmaktadır. Posalar depolanmaları sırasında içermiş oldukları yüksek düzeydeki su nedeniyle kolayca bozulabilmektedir. Meyve posalarının bir miktarı taze olarak hayvanlara yedirilerek değerlendirilmekte fakat büyük bir çoğunluğu ise değerlendirilemeden atılmaktadır (Yalçinkaya ve ark., 2012). Meyve posaları zayıf bir hayvan yemi takviyesidir çünkü çok düşük miktarda protein ve yüksek miktarda şeker içermektedirler. Biyoteknolojik ürünlerin elde edilmesinde tarım endüstrisinin kullanılması artık olan meyve posalarının sebep olduğu çevre kirlilik sorunlarının

özölmesine yardımcı olacağı düşünölmektedir (Vendruscolo ve ark., 2008).

Çeşitli mikrobiyal kaynaklı ürünlerin elde edilmesinde meyve posası gibi farklı endüstriyel atıkların kullanıldığı bilinmektedir. Meyve posaları çeşitli oranlarda sulandırılarak mikrobiyal üretim için kullanılmaktadırlar. Örneğın sitrik asit, gibberillik asit, amilaz ve selölazın elde edilmesinde endüstriyel atık maddeler kullanılmaktadır (Aksoz, 1990) . Enzimler, tek hücre proteini, aroma bileşikleri, etanol, organik asitler, polisakkaritler ve mantarlar gibi çeşitli katma değeri ürünler üretmek için elma posasının kullanılması için girişimlerde bulunulduğu bilinmektedir (Vendruscolo ve ark., 2008).

Meyve posaları yüksek miktarda şeker içermektedir ve farklı karbon kaynaklarından zengin olduklarından dolayı birçok biyoproses için mükemmel bir substrat olarak görölmektedir. Meyve posaları oldukça ucuzdur. Ayrıca hasat dönemi boyunca bol miktarda bulunmaktadır (Vendruscolo ve ark., 2008). Yaygın olarak kullanılan karbon kaynağı glikoz veya süroz yerine ucuz meyve posasının kullanılması, son ürünün daha düşük bir maliyetiyle elde edilmesi ile sonuçlanabilmektedir (Stredansky ve Conti, 1999). Mikroorganizmalar tarafından üretilen polisakkaritler için agro-endüstriyel yan ürünlerin kullanılmasının hem üretim maliyetlerini düşürmede hem de doğal kaynakların geri dönüşümünde birçok avantaj sağlamaktadır. Jellan ve pullulan üretimi için soya fasülyesi posasının nitrojen kaynağı olarak kullanıldığı yapılan araştırmalar ile rapor edilmiştir (Jin ve ark., 2006).

Stredansky ve Conti (1999), elma posası kullanarak ksantan üretimini incelemiştirler. En yüksek ksantan verimini 2:3 oranında elma posası kullanılarak elde etmişlerdir. Ayrıca narenciye posası kullanılarak ksantan üretimi de incelenmiştir (Stredansky and Conti, 1999). Agro-endüstri ürünü olan pekmezler, yüksek vitamin ve mineral içeriğine sahiptir. Ayrıca önemli bir büyüme uyarıcı etkiye sahip olduğu için büyüme ortamında oldukça etkilidirler. Pekmezler, yüksek süroz ve diğer besin içerikleri, düşük maliyet ve depolama kolaylığı gibi birçok avantajı nedeniyle kurdlan, ksantan, dekstran, skleroglukan ve jellan gibi ticari polisakkaritlerin üretimi için substrat olarak kullanılmaktadır (Razack ve ark., 2013).

Bu çalışmanın amacı, kefir, boza ve yoğurt olmak üzere üç farklı kaynaktan *S. thermophilus* izole edilerek EPS üretiminin araştırılması ve farklı meyve posalarının mikroorganizmanın EPS üretimi üzerine etkisinin araştırılmasıdır.



2.GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. *Streptococcus thermophilus* İzolatları

Çalışmada kullanılan *S. thermophilus* suşları kefir ve probiyotikli yoğurt örneklerinden izole edilmiştir. Araştırmada kontrol suşu olarak *S. thermophilus* ATCC 19258 kullanılmıştır. Bakteriler M17 agar besiyerinde 48 saat inkübe edilerek aktifleştirilmiştir. Örnekler çalışmanın sonraki aşamalarında kullanmak üzere %20'lik gliserol çözeltisinde derin dondurucuda -20°C'de depolanarak korunmuştur.

2.1.2. Kullanılan Besiyerleri

Araştırmada *S. thermophilus* suşlarının izolasyonu için M17 sıvı ve M17 agar besiyerlerinden yararlanılmıştır. Çalışmada kullanılan M17 agar (Liofilchem, Italy) ve M17 sıvı (Liofilchem, Italy) besiyeri bileşenleri çizelge 2.1 ve 2.2'de gösterilmiştir.

Ekzopolisakkaritlerin üretiminde M17 ve Nutrient sıvı (Neogen, UK) besiyerlerine ilave olarak meyve posası ile hazırlanan besi ortamları kullanılmıştır. Nutrient sıvı içeriği ve hazırlanan besi ortamı içerikleri aşağıdaki çizelge 2.3, 2.4, 2.5, 2.6 ve 2.7'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1 M17 agar besiyeri kimyasal içeriği

Bileşen	Miktar (g/L)
Tripton	2,5
Soyaton	5,0
Et Ekstrakt	5,0
Laktoz	5,0
Pepton	2,5
Askorbik Asit	0,5
Maya Ekstrakt	2,5
Magnezyum Sülfat	0,25
Disodyum-Beta-gliserofosfat	19
Agar	15

1000 mililitre distile su içerisine 57,3 g hazır besiyerinden alınmıştır ve tamamen çözünme olana kadar ısıtılmıştır. Gerek duyulduğu zaman besiyerinin pH'ı 0,01 N HCl ve 0,01 N NaOH' le $7,2 \pm 0,2$ 'ye ayarlanmıştır. Daha sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

Çizelge 2.2 M17 sıvı besiyeri kimyasal içeriği

Bileşen	Miktar (g/L)
Tripton	5,0
Soy Pepton	5,0
Maya Ekstrakt	2,5
Et Ekstrakt	5,0
Sodyum Gliserofosfat	19
Magnezyum Sülfat	0,25
Askorbik Asit	0,5
Laktoz	5,0

1000 mililitre distile su içerisine 42,2 g hazır besiyerinden alınmıştır ve tamamen çözünene kadar ısıtılmıştır. Gerek duyulduğu zaman besiyerinin pH' ı 0,01 N HCl ve 0,01 N NaOH' le $6,9 \pm 0,2$ 'ye ayarlanmıştır. Daha sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

Çizelge 2.3 Nutrient sıvı besiyeri kimyasal içeriği

Bileşen	Miktar (g/L)
Beef Ekstrakt	1,0
Maya Ekstrakt	2,0
Pepton	5,0
Sodyum Klorür	5,0

1000 mililitre distile su içerisine 13 gram hazır besiyerinden alınmıştır ve tamamen çözünene kadar ısıtılmıştır. Gerek duyulduğu zaman besiyerinin pH'ı 0,01 N HCl ve 0,01 N NaOH' le $7,4 \pm 0,2$ 'ye ayarlanmıştır. Daha sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

Çizelge 2.4 EPS üretmek için hazırlanan baz besi ortamı I içeriği

Bileşen	Miktar (g/L)
Magnezyum Sülfat	0,2
Mono Potasyum Fosfat	3
Sodyum Klorür	1
Pepton	2,5

EPS üretmek için çizelge 2.4'de verilen maddeler ile hazırlanan baz besi ortamına şeftali, kayısı ve vişne posası suyu ayrı ayrı eklenerek farklı besi ortamları oluşturulmuştur. Bu amaçla öncelikle 1000 mL distile su içerisine çizelge 2.4'de verilen kimyasallar eklendikten sonra tamamen çözünme olana kadar ısıtılmış ve ortamın pH'ı $6,0 \pm 0,2$ 'ye ayarlanmıştır. Daha sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlanmıştır.

Çizelge 2.5 EPS üretmek için hazırlanan besi ortamı II içeriği

Bileşen	Miktar (g/L)
Magnezyum Sülfat	0,2
Mono Potasyum Fosfat	3
Sodyum Klorür	1
Beef Ekstrakt	2,5

EPS üretmek için çizelge 2.5’de verilen maddeler ile hazırlanan besi ortamına şeftali, kayısı ve vişne posası suyu ayrı ayrı eklenerek farklı besi ortamları oluşturulmuştur. Bu amaçla öncelikle 1000 mL distile su içerisine kimyasallar eklendikten sonra tamamen çözünme olana kadar ısıtılmış ve ortamın pH’ı $6,0 \pm 0,2$ ’ye ayarlanmıştır. Daha sonra 121°C ’de 15 dakika otoklavlanmıştır.

Çizelge 2.6 EPS üretmek için hazırlanan besi ortamı III içeriği

Bileşen	Miktar (g/L)
Magnezyum Sülfat	0,2
Mono Potasyum Fosfat	3
Sodyum Klorür	1
Triptofan	2,5

EPS üretmek için çizelge 2.6’ da verilen maddeler ile hazırlanan besi ortamına şeftali, kayısı ve vişne posası suyu ayrı ayrı eklenerek farklı besi ortamları oluşturulmuştur. Bu amaçla 1000 mL distile su içerisine kimyasallar eklendikten sonra tamamen çözünme olana kadar ısıtılmış ve ortamın pH’ı $6,0 \pm 0,2$ ’ye ayarlanmıştır. Daha sonra 121°C ’de 15 dakika otoklavlanmıştır.

Çizelge 2.7 EPS üretmek için hazırlanan besi ortamı IV içeriği

Bileşen	Miktar (g/L)
Magnezyum Sülfat	0,2
Mono Potasyum Fosfat	3
Sodyum Klorür	1
Triptofan	2,5
Beef Ekstrakt	2,5
Pepton	2,5

EPS üretmek için çizelge 2.7’ de verilen maddeler ile hazırlanan besi ortamına şeftali, kayısı ve vişne posası suyu ayrı ayrı eklenerek farklı besi ortamları oluşturulmuştur. Bu amaçla öncelikle 1000 mL distile su içerisine kimyasallar eklendikten sonra tamamen çözünme olana kadar ısıtılmış ve ortamın pH’ı $6,0 \pm 0,2$ ’ye ayarlanmıştır. Daha sonra 121°C ’de 15 dakika otoklavlanmıştır.

2.1.3. Kullanılan Boyalar ve Çözeltiler

2.1.3.1. Boyalar

- Kristal Viyole Solüsyonu (Bilgehan, 2002)
- Safranin Solüsyonu (Bilgehan, 2002)
- İyot Solüsyonu (Bilgehan, 2002)

2.1.3.2 Çözeltiler

- %3’lük H_2O_2 Çözeltisi (Bilgehan, 2002)
- % 96’lık Etil Alkol (DOP Organik Kimya, Türkiye)
- % 20 ‘lik Gliserol Çözeltisi (CARLO ERBA REAGENTS)
- %85 ‘lik Trikolroasetik asit (TCA)
- D-(+) Glikoz 1000 mg, Nest (SUPELCO)

2.1.4. Kullanılan Araç ve Gereçler

- Sartorius Hassas Terazî
- Vorteks
- Hirayama Otoklav
- Heraus Etüv
- Esco Marka Derin Dondurucu
- Soğutmalı Santrifüj
- Spektrofotometre
- FTIR
- CLARIOstar BMG LABTECH

2.1.5. Kullanılan Meyve Posası

Araştırmada kullanılan meyve posaları Dimes firmasından tedarik edilmiştir.

2.2. Yöntem

2.2.1. *Streptococcus* Türlerinin İzolasyonu ve Tanımlanması

Araştırmamızda kullanılmak üzere süpermarketten farklı markalara ait kefir, boza ve yoğurt olmak üzere 3 farklı fermente süt ürünü alınmıştır. Süpermarketten alınan boza ve yoğurt örneğinden istenilen mikroorganizma elde edilememiş bu nedenle eczaneden alınan probiyotik yoğurt mayası ile evde yapılan yoğurt örneği kullanılmıştır. Kefir mayası kullanılarak kefir de evde yapılmıştır. Bu ürünler laboratuvara getirildikten sonra kullanılıncaya kadar + 4°C’de saklanmıştır. *S. thermophilus* izolasyonu için M17 besiyeri kullanılmıştır. Hazırlanan M17 sıvı besiyeri tüplere 10 mL olacak şekilde paylaştırıldı. Ayrıca M17 agardan hazırlanan besiyeri ile birlikte Otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilizasyon işlemine tabi tutuldu. Otoklavlanan katı besiyeri soğutulduktan sonra petri kaplarına 25 mL olacak şekilde paylaştırıldı.

Yoğurt ve boza örneklerinden 1 g tartılarak içinde 9 ml steril serum fizyolojik (% 0.85) bulunan tüpler içinde homojenize hale getirildi. Homojenize hale getirilen örneklerden 0,1 mL alınarak M17 sıvı besiyerine ekim yapıldı. Kefir örneği sıvı olduğundan dolayı serum fizyolojik ile karıştırılmadan M17 sıvı besiyerine ekimi yapıldı. Örnekler 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası M17 agara sıvı kültürden pasaj yapıldı. Pasaj işlemi sonrasında 48 saat inkübasyona bırakıldılar.

İnkübasyon işlemi sonrasında plaklarda gelişen bakteri kolonilerinin tanımlanması amacı ile gram boyama ve katalaz testi yapıldı. Gram (+) ve katalaz (-) olan suşların 16S rRNA analizi ile identifikasyonları sağlandı. 16S rRNA ile doğrulaması yapılan *S. thermophilus* kolonileri öze ile alınıp M17 agar besiyerine ekimi yapılarak elde edilen saf kültürler daha sonraki aşamalarda kullanıncaya kadar - 80°C’de %20’lik gliserolde saklandı (Aslım ve ark., 2011 ; Çelik ve ark., 2016). *S. thermophilus* ATCC 19258 standart suşu S1, yoğurttan izole edilen *S. thermophilus* S2, kefirde izole edilen *S. thermophilus* ise S3 olarak kayıt altına alındı.

2.2.2. Biyokimyasal Analizler

Gram Boyama: Gram boyama yaparken 16-24 saatlik saf kültüre ilk olarak 3 dakika kristal viyole ile muamele edildi. Kristal viyole saf su ile akıtıldı. Daha sonra lugol çözeltisi damlatılıp 2 dakika bekletildi ve alkol ile 15 saniye boyunca dekolorizasyon işlemi yapıldı. Karşıt boya olarak safranin ile 1 dakika muamele edildi. Yıkanan preparatlara immersiyon yağı damlatılıp 100'lük objektif de mikroskopta incelendi (Bilgehan, 2009).

Katalaz Testi: M17 besiyerinden elde edilen 18-24 saatlik izolatlardan öze yardımı ile alındı ve temiz bir lam üzerine yayıldı. Daha sonra 1 damla %3'lük hidrojen peroksit çözeltisi lamın üzerindeki bakterilerin üzerine damlatıldı. Hava kabarcığı oluşumuna göre sonuç değerlendirildi (Reiner, 2010).

2.2.3. *S. thermophilus* Türünün Tanımlanmasında 16S rRNA Uygulanması

S. thermophilus olduğu düşünülen izolatların 16S rRNA analizi ile tür bazında tayini yapılmıştır. Tür düzeyinde tanımlanan izolatlar %20 (v/v) gliserol içeren steril ependorf tüplerinde, -20°C'de muhafaza edilmiştir. İdentifikasyon Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü tarafından yapılmıştır.

2.2.3.1. DNA İzolasyonu

Bakteri örneklerinin aktifleştirilmesi için M17 sıvı besiyeri kullanılmıştır. Sigma-Gen Elute Bacterial Genomic DNA Kit ile DNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Kit protokolü aşağıda verilmektedir;

- 1,5 mL kültür tüpe alıp 12,000-16,000 g' de 2 dakika santrifüj edilir, supernatant kısmı dökülür.

- Pelleti 200 μ L Lizozim Solüsyonunda çözülür ve 37°C' de 30 dakika inkübasyona bırakılır.
- Hücre süspansiyonuna 20 μ L Proteinaz K (20 mg/mL) ve 200 μ L Lysis Solution C eklenir 15 saniye vorteks yaparak karıştır ve 55°C' de 10 dakika inkübe edilir.
- Hücreler inkübe olurken; her bir bağlanma kolonuna 500 μ L Column Preparation Solution eklenir.
- $\geq 12,000$ g' de 1 dakika santrifüj yapılır. Akan kısmı uzaklaştırılır.
- 200 μ L %100 etanol, hücre lizatına eklenir ve 5-10 saniye vortekslenir.
- Etanolü karışımı kolonlu tüpe aktarılır.
- ≥ 6500 g' de 1 dakika spin atılır. Collection tüpü atılır ve yeni bir tane 2 mL collection tüp alınır.
- 500 μ L Wash Solution 1 eklenir ve ≥ 6500 g' de 1 dakika spin atılır.
- Collection tüpü atılır ve yeni bir tane 2 mL collection tüp alınır. Kolona 500 μ L Wash Solution Concentrate eklenir ve $\geq 12,000$ g' de 3 dakika santrifüj edilir.
- Kolon yeni bir collection tüpe transfer edilir ve 200 μ L Elution Solution eklenir. Oda sıcaklığında, 5 dakika inkübe edilir. Sonra ≥ 6500 g' de 1 dakika spin atılır.

2.2.3.2 DNA Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

DNA saflığına nanodropta A_{260}/A_{280} oranına bakılmak suretiyle ölçülmüştür.

2.2.3.3. 16S rRNA PCR Reaksiyonu

İzole edilen DNA'lar agaroz jel elektroforezinde görüntülenmiş ve daha sonra, 16S rDNA primerleri kullanılarak PCR yapılmıştır. Reaksiyonda kullanılan primerler, PCR karışım içeriği ve PCR reaksiyonunda kullanılan PCR programı aşağıdaki çizelgelerde verilmektedir;

Çizelge 2.8 Kullanılan primerler dizileri ve beklenen bant büyüklüğü (bp)

Primer	Dizi Bilgisi (5'.....3')	Beklenen bant büyüklüğü (bp)
16S – F	5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG -3'	974
16S – R	5'-CCG TCA ATT CCT TTG AGT TT -3'	

Çizelge 2.9 PCR Karışım İçeriği ve Reaksiyon Hacmi

PCR karışım içeriği	Reaksiyon hacmi
Steril distile su	29,75 µL
5X PCR tampon	10 µL
dNTP (2mM)	1 µL
İleri primer	1 µL
Geri primer	1µL
MgCl ₂ (25mM)	4 µL
Taq DNA Polimeraz (5u/mL)	0,25 µL
DNA (stok)	3 µL
Toplam	50µL

Çizelge 2.10 PCR reaksiyonunda kullanılan PCR programı aşağıda verilmektedir.

95°C	3 dakika	
95°C	1 dakika	
54°C	15 saniye	30 döngü
72°C	1 dakika	
72°C	10 dakika	
12°C	∞	

2.2.3.4. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde Kontrol Edilmesi

Elde edilen PCR ürünleri, %1,5' lik agaroz jel elektorforezinde kontrol edilmiştir. PCR ürünleri, agaroz jele, 100 bp görüntülenerek, genotiplerde ilgili primere ait istenilen bant büyüklüklerinin markır (Solis Bio Dyne-100bp DNA Marker) eşliğinde, 25 µL olarak yüklenmiş ve elektroforez işlemi, 100 Voltta, 45 dakika olarak gerçekleştirilmiştir. Agaroz jel elektroforezi sonrası PCR ürünlerine ait bant büyüklükleri, UV görüntüleme sistemi (Gene Genius Imaging System) yardımı ile görüntülenmiştir.

2.2.3.5 PCR Ürünlerinin Pürifikasyonu

Jelde yürütülen PCR bantları steril bistüri yardımı ile kesilerek, darası alınan 1,5'luk ependorf tüplere konulmuş ve sonrasında Promega-Wizard SV Gel and PCR Clean-UpSystem Kiti kullanılarak pürifiye edilmiştir. Uygulanan pürifikasyon yöntemi aşağıda verilmektedir.

- Jelden alınan bantların ağırlıkları ölçülür.
- Üzerlerine 1:1 oranında (ağırlık:hacim)“MembranBinding Solution” eklenir ve 65°C 'de eritilir.
- Kolonlar temiz tüpe takılır ve üzerlerine örnekler yüklenir.
- 1dakika beklenir.
- 14000 rpm' de, oda sıcaklığında 1dakika santrifüj yapılır.
- Alt solüsyonları dökülür.
- Kolonlara 700 µL “MembranWash Solution” eklenir.
- 14000 rpm' de, oda sıcaklığında 1dakika santrifüj yapılır.
- Alt solüsyonları dökülür.
- “Membran Wash Solution” dan 500 µL eklenir
- 14000 rpm' de 5 dakika santrifüj yapılır.
- Kolonlar temiz tüplere takılır.

- 20 µL “NucleaseFreeWater” membrana değmeden tam ortasına bırakılır. 1 dakika beklenir.
- 14000 rpm’ de, oda sıcaklığında 1 dakika santrifüj yapılır.
- Kolonlar atılıp, tüplerin kapakları kapatılır ve +4°C’ de saklanır.

2.2.3.6 Pürifikasyon Ürünlerinin Konsantrasyon Analizi

PCR ürünü konsantrasyonu nanodropta A_{260}/A_{280} oranına bakılmak suretiyle ölçülmüştür.

2.2.3.7 Sekans Analizi

Her örneğe ait pürifiye PCR’lar 94°C’ de 4 dakika denatüre edilmiştir. 4. dakika’nın sonunda hemen buz üzerine alınarak suğutulmuş ve 1500 rpm’ de 1dakika santrifüj edilmiştir. Sekans PCR hacmi toplam 20,0 µL olarak alınmıştır. Bu 20,0 µL ‘in içerisinde PCR ürünü 5 µL (200-400 ng), Primer (1,6 pmol/ µL) 2,0 µL, Premix 5,0 µL ve ddH₂O x,x µL alınmıştır. Kullanılan Sekans PCR programı aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir.

Çizelge 2.11 Kullanılan Sekans PCR programı.

96° C	3 dk
96°C 20 sn	34 döngü
55°C 20 sn	
60°C 4 dk	

2.2.4 *S. thermophilus*’un EPS Üretiminin Sağlanması

%20’lik gliserolde -20°C’de muhafaza edilen mikroorganizmalar M17 agara çizme yöntemi ile ekildikten sonra 37°C’de 48 saat inkübasyona bırakılarak

aktifleştirilmiştir. İnkübasyon sonrasında bir öze yardımıyla petriden tek koloni seçilerek M17 broth'a alınmış ve yine 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakılarak ikinci kez aktifleşmesi sağlanmıştır.

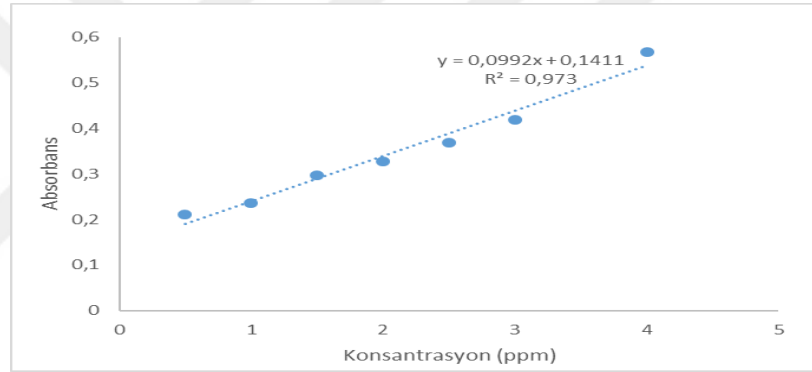
Aktifleştirilen suşlardan 10 mL'lik M17 broth besiyerine ikişer paralelli olarak %4 oranında ekim yapılmış ve 37°C'de 24-72 saat inkübe edilerek EPS üretilmesi sağlanmıştır.

İnkübasyon sonrasında ependorf tüplerine 1 mL örnek alınmıştır ve 100°C' de 15 dakika kaynatılıp oda sıcaklığına gelinceye kadar soğutulmuştur. Kaynatma işlemi ile bakteri ve enzimlerin inaktivite edilmesi sağlanmıştır. Oda sıcaklığına gelen örnek üzerine 3,4 µL TCA (trikloroasetik asit) eklenmiş (%85 w/v) ve örneği homojenize hale getirebilmek için vortekslenmiştir. Ardından +4°C'de 13000 rpm' de 30 dakika santrifüj edilerek hücrelerin ayrılması sağlanmıştır. Santrifüj işlemi sonrasında süpernatant temiz bir ependorf tüpüne alınmıştır. Süpernatant üzerine hacmi kadar yaklaşık 1 mL etanol eklenmiştir. Yarım saat bekletildikten sonra +4°C'de 13,000 rpm'de 30 dakika santrifüj edilerek EPS-protein kompleksi çöktürülmüş ve pellet elde edilmiştir. Süpernatant dökülerek pelletin üzerine ikinci kez yaklaşık 1 mL etanol ilave edilmiş pelletin etanol içinde çözünmesi için yine yarım saat bekletilmiştir. Daha sonra örnekler +4°C'de 13000 rpm de 30 dakika santrifüj edilmiş ve santrifüj sonrası alkol uzaklaştırılarak EPS elde edilmiştir (Dubois ve ark., 1956).

2.2.5 EPS Miktar Tayini

EPS miktarının belirlenmesi için kolorimetrik bir yöntem olan fenol-sülfürik asit metodu kullanılmıştır. Bu yöntem ile basit şekerler, oligosakkaritler, polisakkaritler ve bunların türevleri olan metil eterler, fenol ve konsantre sülfürik asit ile muamele edildiğinde turuncu-sarı bir renk vermektedir. (Ruas-Madiedo ve de los Reyes-Gavilán, 2005). Fenol-sülfürik asit yöntemi basit, hızlı ve hassas olmasına ek olarak tekrarlanabilir sonuçlar veren güvenilir bir yöntemdir. Pelletler 100 µL steril

saf suda çözüldükten sonra fenol sülfürik asit metodu uygulanmıştır. Örneklerin üzerine önce 50 µL fenol eklenir ve vorteksleme yapılır. Daha sonra hızlı bir şekilde sülfürik asit ilave edilerek toplam hacim 2 mL 'ye tamamlanır. Ölçümler yapılmadan önce 10 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra iyice çalkalanır. Süre bitiminden sonra örnekler mikropate kucuğuna 200 µL olacak şekilde eklenmiş ve OD değerleri 480 nm dalga boyunda on paralelli okuma sonuçlarının ortalaması ile alınmıştır. Sonuçlar CLARIOstar veri analiz programı ile elde edilmiştir. EPS üretim miktarlarını belirlemek için 0.5-4 ng/µL arasında değişen oranlarda glikoz kullanılarak fenol sülfürik asit metodu için standart bir eğri çıkarılmıştır. Bu standarda göre örneklerin EPS miktarları mg/L olarak belirlenmiştir (Dubois ve ark., 1956). Şekil 2.1'de kullanılan glikoz standard eğrisi verilmiştir.



Şekil 2.1 Glikoz standard eğri

2.2.6 Meyve Posası Suyunun Hazırlanması

Çalışmamızda vişne, kayısı ve şeftali posaları kullanılmıştır. Bu posalar 2018 Temmuz ayında Dimes firmasından temin edilmiş ve kullanılıncaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Meyve posaları kullanılmadan önce 1/5 (ağ/ağ) oranında saf suyla karıştırıldıktan sonra ısıtıcı üzerinde karıştırılarak kaynatılmıştır. Bir saat kaynatıldıktan sonra soğutulmaya bırakılmıştır. Meyve posaları oda sıcaklığına gelince kaba filtre kağıdı yardımıyla süzölmüş ve elde edilen meyve posası suyu EPS

üretiminde kullanılacağı zaman 0.22 µm por çaplı membran filtre ile tekrar süzölmüştür. Ayrıca hazırlanan bu meyve posası suyu şeker kromatografisi yöntemi ile analiz edilmek için Düzen NorthWest laboratuvarına götürölmüştür. Elde edilen steril meyve posası suları -20°C’de muhafaza edilerek EPS üretiminde ihtiyaç duyulduklarında kullanılmıştır.

2.2.7. İnkübasyon Süresinin ve Uygun Besiyerinin EPS Üretimine Etkisinin Belirlenmesi

Optimum inkübasyon süresinin ve uygun besiyerinin belirlenmesi için hem Nutrient hem de M17 besiyerine %4 oranında inoküle edilen S1, S2 ve S3 suşlarımız 37°C’de, inkübatörde 72 saat inkübasyona tabi tutulmuş ve gelişmenin 24, 48, 72 saatlerinde örnek alınarak EPS miktarı fenol-sülfürik asit yöntemi ile belirlenmiştir.

2.2.8. M17 Sıvı Besiyeri ve Meyve Posalarının EPS Üretimine Etkisinin Belirlenmesi

Toplam besi ortamı 10 mL olacak şekilde M17 besiyerinin içerisine ayrı ayrı 2 mL ve 5 mL vişne, kayısı ve şeftali posası suyu eklenmiştir. Kısaca bir ortamda 8 mL M17 var ise o ortama 2 mL posa suyu eklenmiş ortamda 5 mL M17 var ise o ortama 5 mL posa suyu eklenmiştir. Daha sonra bu hazırlanan besi ortamı içerisine %4 oranında S1, S2 ve S3 suşlarımızın ekimi yapılmıştır. S1 suşumuz EPS üretimi için 37°C’de inkübatörde 24 saat inkübasyona bırakılırken S2 ve S3 suşlarımız ise EPS üretimi için 37°C’de inkübatörde 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sürelerinin sonunda EPS’ler elde edilmiş ve fenol-sülfürik asit yöntemi ile miktar tayini yapılmıştır.

2.2.9. Hazırlanan Besi Ortamlarının EPS Üretimine Etkisinin Belirlenmesi

2.2.9.1. I Numaralı Baz Besi Ortamı ve Meyve Posalarının EPS Üretimine Etkisi

Gereç bölümünde çizelge 2.4’de verilen içeriğe göre hazırlanan besi ortamına elde ettiğimiz meyve posası suları eklenmiştir. Çizelge 2.4’de içeriği verilen besi ortamı I ‘den 5 mL alınarak üzerine de 5 mL posa suyu eklenerek bir ortam oluşturulmuştur. Daha sonra bu hazırlanan besi ortamı içerisine %4 oranında S1, S2 ve S3 suşlarımızın ekimi yapılmıştır. S1 suşumuz EPS üretimi için 37 °C’de inkübatörde 24 saat inkübasyona bırakılırken S2 ve S3 suşlarımız ise EPS üretimi için 37°C’de inkübatörde 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sürelerinin sonunda EPS’ler elde edilmiş ve fenol-sülfürik asit yöntemi ile miktar tayini yapılmıştır.

2.2.9.2. Farklı Azot Kaynakları İçeren Besi Ortamları ve Meyve Posalarının EPS Üretimine Etkisi

Çizelge 2.4, 2.5, 2.6 ve 2.7’de içerikleri verilen hazırlanan besi ortamlarından steril tüplere 4 mL alınarak üzerine 2 mL vişne, 2 mL şeftali ve 2 mL kayısı posası suyu eklenerek 10 mL’lik her üç posa suyunda birlikte olduğu ortamlar hazırlanmıştır. Bu hazırlanan besi ortamlarının içerisine %4 oranında S1, S2 ve S3 suşlarımızın ekimi yapılmıştır. S1 suşumuz EPS üretimi için 37°C’de inkübatörde 24 saat inkübasyona bırakılırken S2 ve S3 suşlarımız ise EPS üretimi için 37°C’de inkübatörde 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sürelerinin sonunda EPS’ler elde edilmiş ve fenol-sülfürik asit yöntemi ile miktar tayini yapılmıştır.

2.2.10. FTIR ile EPS Karakterizasyonu

Saflaştırılmış EPS'lerin fonksiyonel gruplarını belirlemek için Fourier ile transforme edilmiş infrared (FT-IR) spektroskopisi kullanıldı. Saflaştırılmış EPS fraksiyonlarının kızılötesi spektrumları, bir FT-IR sistemi kullanılarak 4000-400 cm⁻¹ alanına kaydedildi. Kızılötesi analiz için pelletler, 200 mg kuru KBr ile 2 mg EPS içeren bir karışımın öğütülmesi ve bunu takiben karışımın 16 mm çaplı bir kalıba bastırılması suretiyle elde edildi (Bramhachari ve Dubey, 2006).

2.2.11. İstatiksel Analiz

Çalışmalarda elde edilen sonuçlar ortalama olarak verilmiştir. Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS (Version, 17.0) paket programı kullanılmıştır. Oluşturulan besi ortamlarında elde edilen EPS miktarlarının M17 besiyerinde elde edilen EPS miktarı ile karşılaştırılması Wilcoxon testi ile yapılmıştır ($p \leq 0,05$ olan değerler anlamlı olarak kabul edilmiştir). Çalışma çift kontrollü olarak yürütülmüştür.

3.BULGULAR

3.1. Çalışmada Kullanılan *S. thermophilus* Suşları

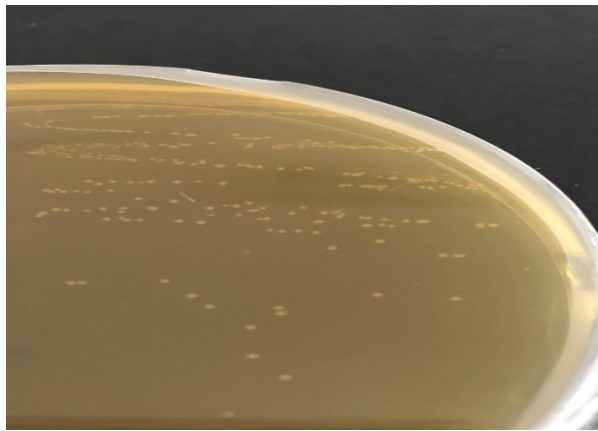
Çeşitli marka bozalar denenmesine rağmen boza örneklerinden *S. thermophilus* izole edilememiştir. 16S rRNA analizi sonucuna göre bozadan *Enterococcus faecalis* izole edilebilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda bozadan elde edilen izolat kullanılamamıştır. Çalışmamızda kefir ve yoğurttan izole edilebilen *S. thermophilus* suşları ile standard suş olarak *S. thermophilus* ATCC 19258 kullanılmıştır.

Standard suşumuz olan *S. thermophilus* ATCC 19258 S1, yoğurttan izole edilen *S. thermophilus* suşu S2, kefirde elde edilen *S. thermophilus* suşu S3 olarak adlandırılmıştır.

3.2. *S. thermophilus* İzolatlarının Tanımlanması

3.2.1. Koloni Morfolojisi

S. thermophilus M17 agar besi ortamında küçük, mat ve beyaz koloni oluşturmuştur.



Şekil 3.1: *S. thermophilus* ATCC 19258 suşunun koloni görünümü



Şekil 3.2 Yoğurttan izole edilen *S. thermophilus* 'un koloni görünümü



Şekil 3.3 Kefirden izole edilen *S. thermophilus* 'un koloni görünümü

3.2.2. Gram Boyama ve Morfolojik Değerlendirme

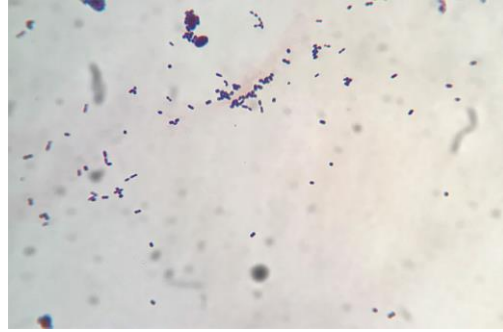
Gram boyama yapılan preparatlar immersiyon yağı damlatılarak ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Gram boyama sonucunda kristal viyole ile mor renge boyandıkları için Gram pozitif özellikte oldukları belirlenmiştir. Morfolojik görünümleri ise kok şeklinde bulunmuştur.



Şekil 3.4 Yoğurttan izole edilen *S. thermophilus*'un Gram boyama ile elde edilen mikroskop görüntüsü



Şekil 3.5 *S. thermophilus* ATCC 19258 suşunun Gram boyama ile elde edilen mikroskop görüntüsü



Şekil 3.6 Kefirden elde edilen *S. thermophilus*'un Gram boyama ile elde edilen mikroskop görüntüsü

3.2.3. Katalaz Testi

S. thermophilus'lar katalaz negatif özellik göstermektedir. M17 agarda 48 saat üretilen koloniler steril bir kürdan yardımı ile alınarak temiz lam üzerindeki %3'lük H₂O₂ çözeltisi içerisine bırakılmıştır. Gaz çıkışı gözlenmediğinden dolayı elde edilen suşların katalaz negatif olduğu bulunmuştur.

3.2.4 *S. thermophilus* Türünün Tanımlanmasında 16S rRNA Sonuçları

Test edilen kefir ve yoğurt örneklerinin dizi analizi sonucunda *S. thermophilus* olduğu boza örneğinden elde edilen suşun ise *Enterococcus faecalis* türü olduğu saptanmıştır.

3.3 Meyve Posası Suyunun Şeker İçeriği

Meyve posalarından elde edilen vişne, kayısı ve şeftali posa suyu şeker içerikleri çizelge 3.1'de verilmektedir.

Çizelge 3.1 Meyve Posası suyu içeriği

	Sakkaroz (g/ L)	Glikoz (g/ L)	Fruktoz (g/ L)
Vişne Posa Suyu	0,08	4,9	2,8
Kayısı Posa Suyu	8,7	15,4	6,3
Şeftali Posa Suyu	0,08	13,8	3,8

İçerikleri incelendiğinde kayısı posası suyunun glikoz, fruktoz ve sakkaroz açısından diğer iki posa suyuna göre daha fazla miktarda şeker içerdiği görülmektedir. Vişne posası suyunun ise glikoz ve fruktoz miktarı en azdır. Sakkaroz miktarı ise hem

vişne posası suyunda hem de şeftali posası suyunda en düşük miktarda bulunmaktadır.

3.4. İnkübasyon Süresinin ve Uygun Besi Ortamının Belirlenmesi

S1, S2 ve S3 suşlarının en yüksek EPS'yi ürettiği süreyi ve ortamı belirlemek için bakterilerimiz M17 ve Nutrient besiyerinde geliştirilmiş ve inkübasyonun 24, 48 ve 72. saatlerinde örnekler alınarak EPS miktarları belirlenmiştir. Elde edilen EPS miktarları aşağıdaki çizelgelerde gösterilmiştir.

S1 suşumuz olan *S. thermophilus ATCC 19258* Nutrient besiyerinde ve M17 besiyerinde 24 saatlik inkübasyon süresinin sonunda en yüksek EPS üretimini (sırasıyla 1,141 ve 4,490 mg /L) sağlarken 72 saatlik inkübasyon süresinin sonunda en düşük EPS üretimini Nutrient besiyerinde sağlamıştır. M17 ve Nutrient besiyerlerini karşılaştırdığımız zaman S1 suşumuz en çok M17 besiyerinde 24 saatlik inkübasyon süresinin sonunda en yüksek EPS üretimini sağlamıştır.

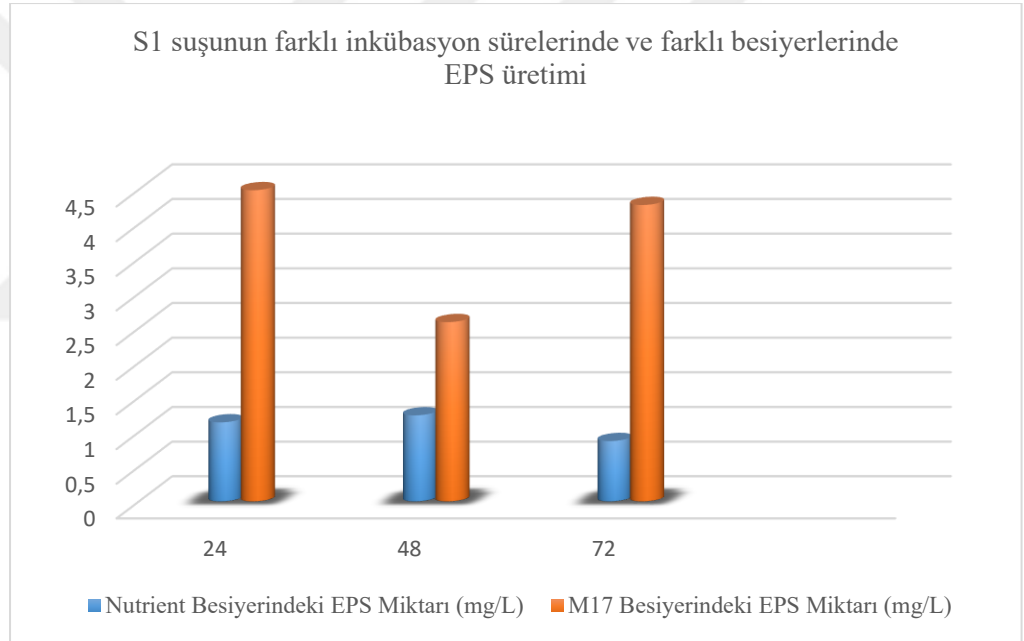
Yoğurttan izole ettiğimiz S2 suşumuz ise Nutrient besiyerinde 48 saatlik inkübasyon süresinin sonunda en yüksek EPS'yi üretirken en düşük EPS'yi bu besiyerinde 72 saatte üretmiştir. M17 besiyerinde ise en yüksek EPS 72 saatlik inkübasyon süresinin sonunda elde edilirken en düşük EPS miktarı 24 saatlik inkübasyon süresinin sonunda elde edilmiştir. İki besiyerini karşılaştırdığımız zaman M17 ortamında daha çok EPS elde edilmiştir.

Kefirden izole ettiğimiz S3 suşumuz Nutrient besiyerinde en yüksek EPS 72 saatlik inkübasyon süresinin sonunda elde edilirken en düşük EPS miktarı ise 48 saatlik inkübasyon süresinin sonunda elde edilmiştir. M17 ortamında ise en düşük EPS miktarına 24 saatlik inkübasyon süresinin sonunda ulaşılırken en yüksek EPS miktarına 72 saatlik inkübasyon süresinin sonunda ulaşılmıştır. İki besiyeri karşılaştırıldığı zaman en yüksek EPS miktarı M17 besiyerinde elde edilmiştir.

Üç suşumuz içinde en iyi EPS üretilen ortam M17'dir. S1 suşumuz 24 saatlik inkübasyon sonrasında en yüksek EPS üretimini sağlarken S2 ve S3 suşlarımız 72 saatlik inkübasyon süresinin sonunda en yüksek miktarda EPS üretmektedir.

Çizelge 3.2 S1 suşunun farklı inkübasyon sürelerinde ve farklı besiyerlerinde EPS üretimi

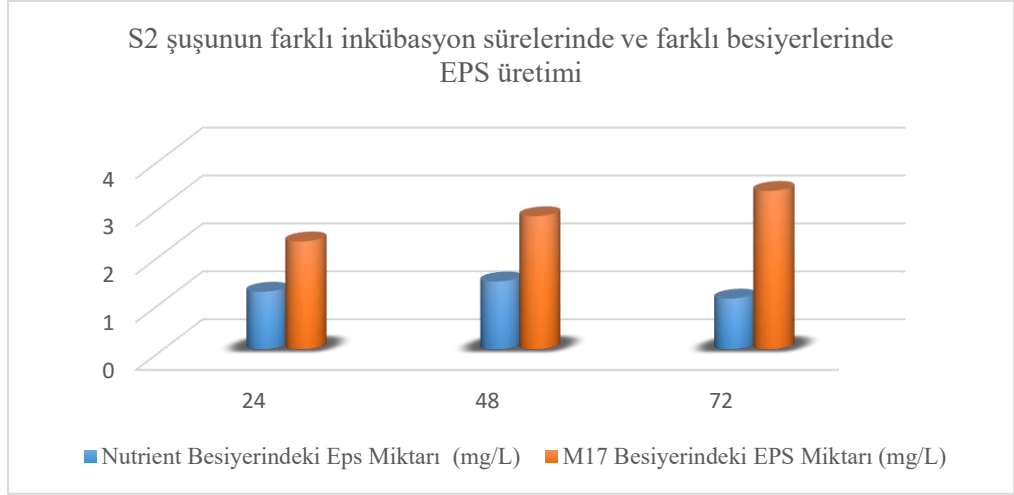
Süre	Nutrient Besiyerindeki EPS Miktarı (mg/L)	M17 Besiyerindeki Ortalama EPS Miktarı (mg/L)
24	1,141	4,490
48	1,242	2,587
72	0,871	4,277



Şekil 3.7 S1 suşunun farklı inkübasyon sürelerinde ve farklı besiyerlerinde EPS üretimi

Çizelge 3.3 S2 suşunun farklı inkübasyon sürelerinde ve farklı besiyerlerinde EPS üretimi

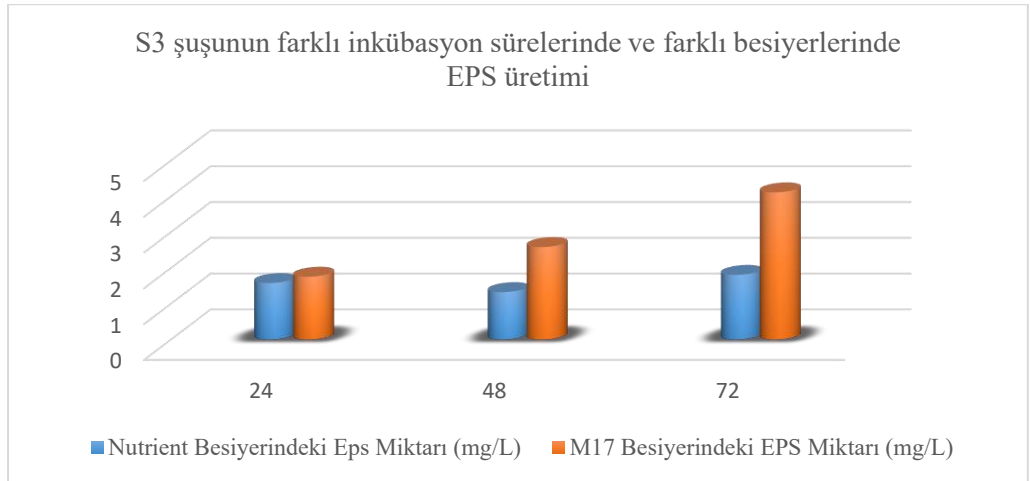
Süre	Nutrient Besiyerindeki Eps Miktarı (mg/L)	M17 Besiyerindeki Ortalama EPS Miktarı (mg/L)
24	1,205	2,254
48	1,418	2,780
72	1,061	3,309



Şekil 3.8 S2 şuşunun farklı inkübasyon sürelerinde ve farklı besiyerlerinde EPS üretimi

Çizelge 3.4 S3 şuşunun farklı inkübasyon sürelerinde ve farklı besiyerlerinde EPS üretimi

Süre	Nutrient Besiyerindeki Eps Miktarı (mg/L)	M17 Besiyerindeki Ortalama EPS Miktarı (mg/L)
24	1,581	1,758
48	1,327	2,586
72	1,809	4,114



Şekil 3.9 S3 Şuşunun farklı inkübasyon sürelerinde ve farklı besiyerlerinde EPS üretimi

3.5 M17 Besiyeri ve Meyve Posası Suyunda EPS Üretimi

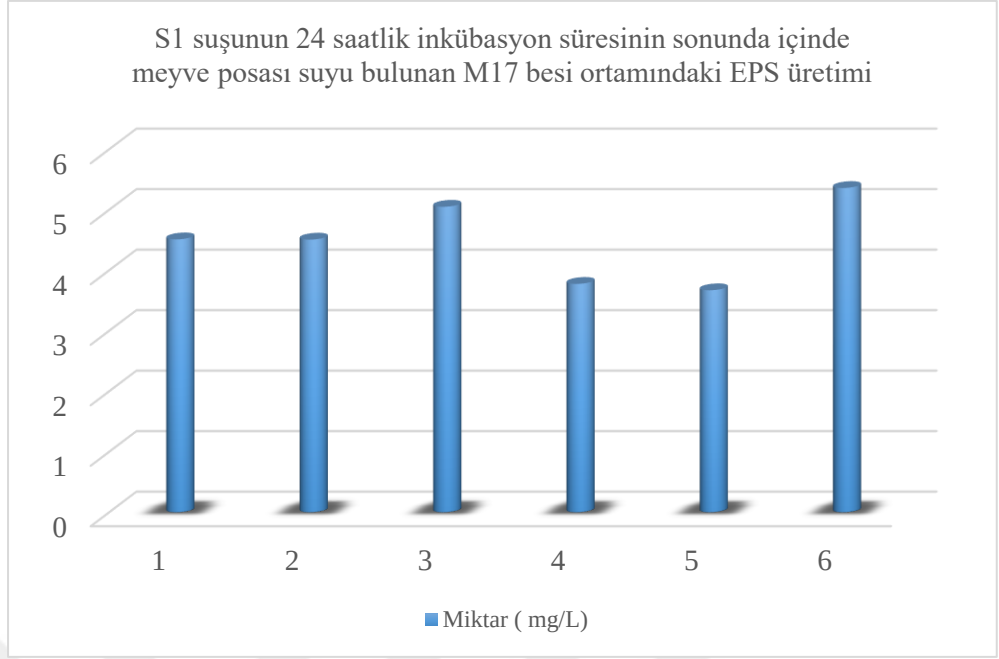
Toplam besi ortamı 10 mL olacak şekilde M17 besiyerinin içerisine her üç posa suyundan ayrı ayrı 2 mL ve 5 mL vişne, kayısı ve şeftali posası suyu eklenmiştir ve hazırlanan bu ortamın EPS üretimine etkisi bakılmıştır. Sonuçlar aşağıdaki çizelgelerde verilmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde S1 suşu en yüksek EPS 'yi içerisinde 5 mL kayısı posası suyu olan ortamda üretmiştir. En düşük miktarda EPS 'yi ise içerisinde 2 mL kayısı posası suyu olan ortamda üretmiştir. S2 suşu en yüksek miktarda EPS 'yi içerisinde 2 mL Kayısı posası suyu olan ortamda üretirken en düşük miktarda EPS'yi ise içerisinde 2 mL vişne posası suyu olan ortamda üretmiştir. S3 suşu ise en yüksek miktarda EPS 'yi içerisinde 5 mL kayısı posası suyu olan ortamda üretirken en düşük miktarda EPS'yi içerisinde 2 mL şeftali posası suyu olan ortamda üretmiştir.

Her üç suşda en yüksek miktarda EPS'yi kayısılu ortamda üretmiştir. Kayısı posası suyu daha fazla miktarda glikoz, fruktoz ve sakkaroz içerdiğinden dolayı EPS üretimini daha çok artırmıştır. En düşük miktarda EPS üretimi ise suşlar arasında değişiklik göstermiştir.

Çizelge 3.5 S1 suşunun 24 saatlik inkübasyon süresinin sonunda içinde meyve posası suyu bulunan M17 besi ortamındaki EPS üretimi

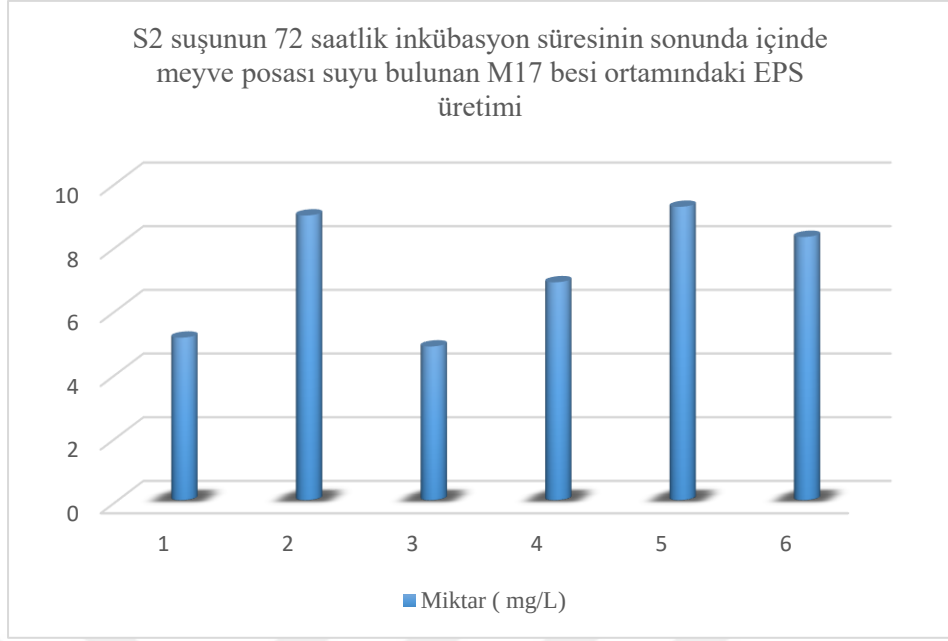
Ortam	Grafikdeki Gösterimi	Miktar (mg/L)	M17 Besiyerindeki Ortalama EPS Miktarı (mg/L)
Şeftali Posası Suyu 2 mL- M17 Broth 8 mL	(1)	4,511	4,490
Şeftali Posası Suyu 5 mL- M17 Broth 5 mL	(2)	4,507	
Vişne Posası Suyu 2 mL- M17 Broth 8 mL	(3)	5,050	
Vişne Posası suyu 5 mL -M17 Broth 5 mL	(4)	3,775	
Kayısı Posası Suyu 2 mL-M17 Broth 8 mL	(5)	3,670	
Kayısı Posası Suyu 5 mL-M17 Broth mL	(6)	5,360	



Şekil 3.10 S1 suşunun 24 saatlik inkübasyon süresinin sonunda içinde meyve posası suyu bulunan M17 besi ortamındaki EPS üretimi

Çizelge 3.6 S2 suşunun 72 saatlik inkübasyon süresinin sonunda içinde meyve posası suyu bulunan M17 besi ortamındaki EPS üretimi

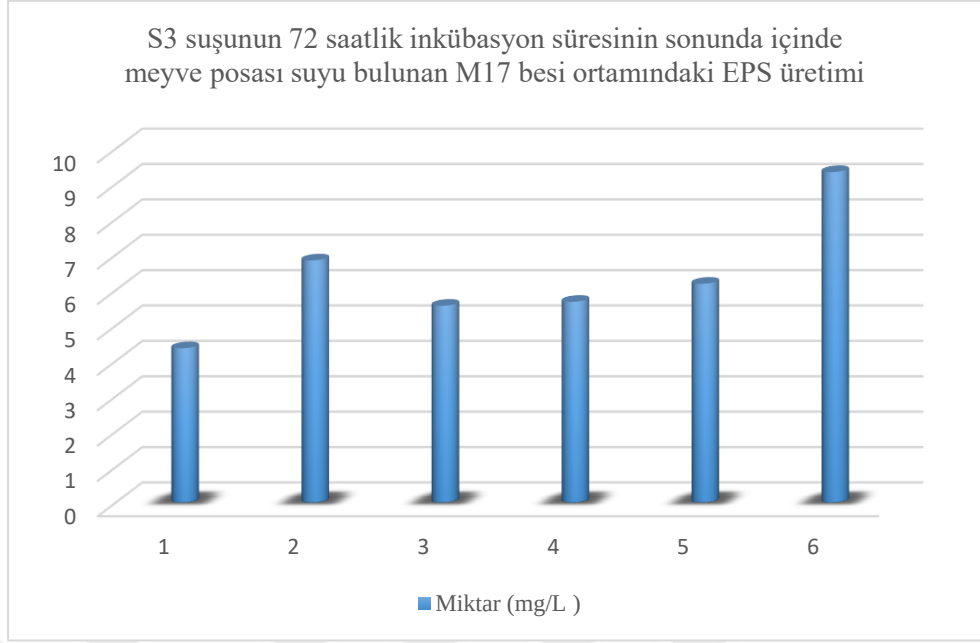
Ortam	Grafikdeki Gösterimi	Miktar (mg/L)	M17 Besiyerindeki Ortalama EPS Miktarı (mg/L)
Şeftali Posası Suyu 2 mL- M17 Broth 8 mL	(1)	5,106	3,309
Şeftali Posası Suyu 5 mL- M17 Broth 5 mL	(2)	8,943	
Vişne Posası Suyu 2 mL- M17 Broth 8 mL	(3)	4,828	
Vişne Posası suyu 5 mL- M17 Broth 5 mL	(4)	6,845	
Kayısı Posası Suyu 2 mL-M17 Broth 8 mL	(5)	9,215	
Kayısı Posası Suyu 5 mL-M17 Broth 5 mL	(6)	8,269	



Şekil 3.11 S2 suşunun 72 saatlik inkübasyon süresinin sonunda içinde meyve posası suyu bulunan M17 besi ortamındaki EPS üretimi

Çizelge 3.7 S3 suşunun 72 saatlik inkübasyon süresinin sonunda içinde meyve posası suyu bulunan M17 besi ortamındaki EPS üretimi

Ortam	Grafikdeki Gösterimi	Miktar (mg/L)	M17 Besiyerindeki Ortalama EPS Miktarı (mg/L)
Şeftali Posası Suyu 2 mL- M17 Broth 8 mL	(1)	4,362	4,114
Şeftali Posası Suyu 5 mL- M17 Broth 5 mL	(2)	6,845	
Vişne Posası Suyu 2 mL- M17 Broth 8 mL	(3)	5,564	
Vişne Posası suyu 5 mL-M17 Broth 5 mL	(4)	5,675	
Kayısı Posası Suyu 2 mL-M17 Broth 8 mL	(5)	6,186	
Kayısı Posası Suyu 5 mL-M17 Broth 5 mL	(6)	9,343	



Şekil 3.12 S3 suşunun 72 saatlik inkübasyon süresinin sonunda içinde meyve posası suyu bulunan M17 besi ortamındaki EPS üretimi

3.6. Hazırlanan Farklı Besi Ortamının EPS Üretimine Etkisinin Belirlenmesi

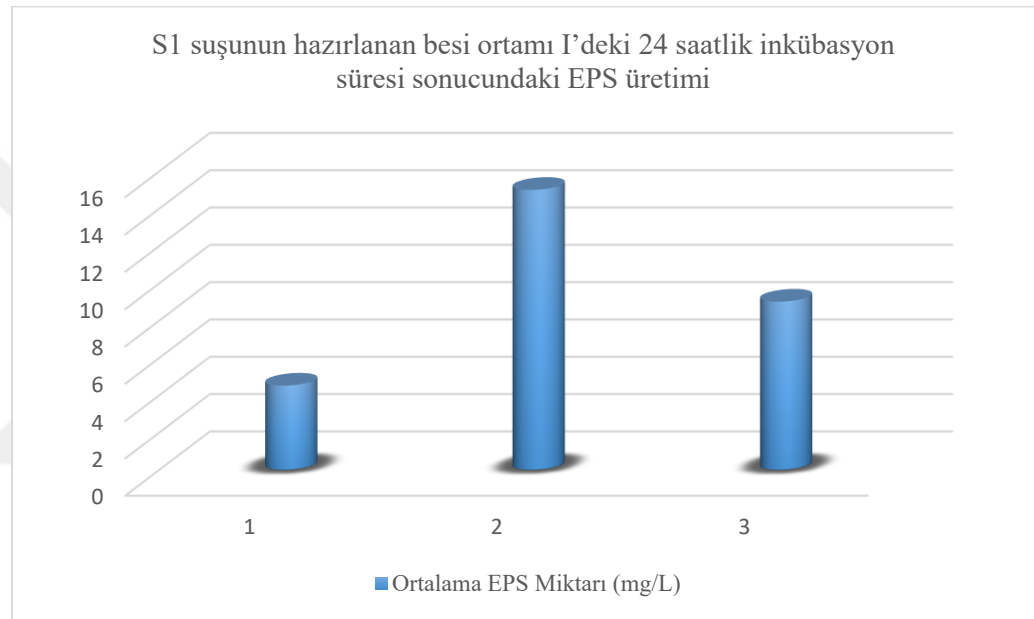
3.6.1. Besi Ortamı I ve Meyve Posalarının EPS Üretimine Etkisinin Belirlenmesi

Toplam besi ortamı 10 mL olacak şekilde besi ortamı I'den 5 mL alınıp içerisine her üç posa suyundan ayrı ayrı 5 mL vişne, kayısı ve şeftali posası suyu eklenmiştir. Hazırlanılan besi ortamı 1'den 5mL alınıp üzerine 5 mL meyve posası suyu eklenerek hazırlanan ortamların EPS üretimine etkisi bakılmıştır. Sonuçlar aşağıdaki çizelge 3.7, çizelge 3.8 ve çizelge 3.9 'da verilmiştir.

S1 ve S2 suşu kayısı suyu içeren besi ortamı I'de daha fazla miktarda EPS üretirken S3 suşu şeftali suyu posası içeren besi ortamı I'de daha çok EPS üretmektedir. Her üç suş da vişne posası suyu içeren besi ortamı I'de en az miktarda EPS üretmiştir.

Çizelge 3.8 S1 suşunun hazırlanan besi ortamı I'deki 24 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi

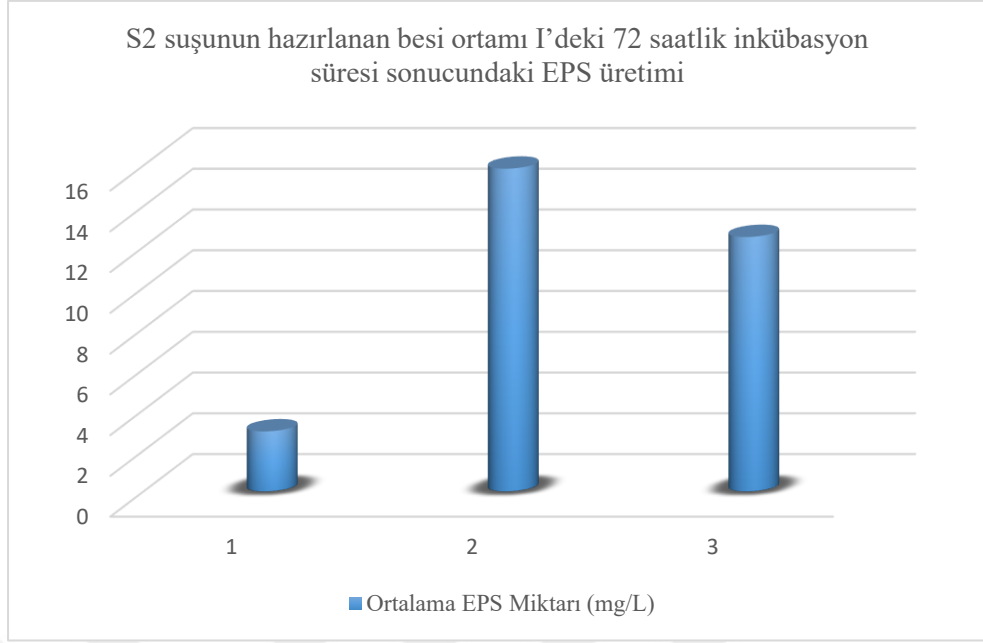
Ortam	Grafikdeki Gösterimi	Ortalama EPS Miktarı (mg/L)
5 mL Vişne Posası- 5 mL Hazırlanan Besi Ortamı-I	(1)	4,514
5 mL Kayısı Posası- 5 mL Hazırlanan Besi Ortamı-I	(2)	15,005
5 mL Şeftali Posası- 5 mL Hazırlanan Besi Ortamı-I	(3)	9,015



Şekil 3.13 S1 suşunun hazırlanan besi ortamı I'deki 24 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi

Çizelge 3.9 S2 suşunun hazırlanan besi ortamı I'deki 72 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi

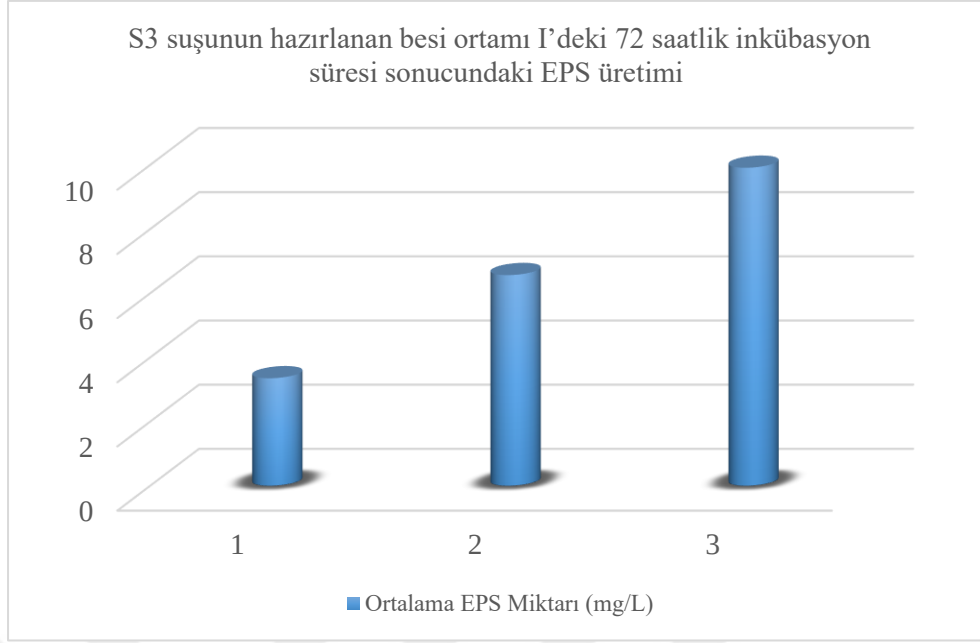
Ortam	Grafikdeki Gösterimi	Ortalama EPS Miktarı (mg/L)
5 mL Vişne Posası- 5 mL Hazırlanan Besi Ortamı 1	(1)	2,948
5 mL Kayısı Posası- 5 mL Hazırlanan Besi Ortamı 1	(2)	15,842
5 mL Şeftali Posası- 5 mL Hazırlanan Besi Ortamı 1	(3)	12,489



Şekil 3.14 S2 suşunun hazırlanan besi ortamı I'deki 72 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi

Çizelge 3.10 S3 suşunun hazırlanan besi ortamı I'deki 72 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi

Ortam	Grafikdeki Gösterimi	Ortalama EPS Miktarı (mg/L)
5 mL Vişne Posası- 5 mL Hazırlanan Besi Ortamı I	(1)	3,353
5 mL Kayısı Posası- 5 mL Hazırlanan Besi Ortamı I	(2)	6,568
5 mL Şeftali Posası- 5 mL Hazırlanan Besi Ortamı I	(3)	9,913



Şekil 3.15 S3 suşunun hazırlanan besi ortamı I'deki 72 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi

3.7 Meyve Posası Sularının Farklı Azot Kaynakları İçeren Besi Ortamlarında Birlikte Bulundukları zaman ki EPS Üretimi

Farklı azot kaynakları ile birlikte meyve posası sularını içeren besi ortamlarında EPS üretimini belirlemek amacıyla Çizelge 2.4, 2.5, 2.6 ve 2.7'de belirtilen içeriklere göre hazırlanan besi ortamı I, II, III ve IV'den steril tüplere 4 mL alınarak üzerine 2 mL vişne, 2 mL şeftali ve 2 mL kayısı posası suyu eklenerek 10 mL 'lık her üç posa suyunda birlikte olduğu ortamlar hazırlanmıştır. Bu hazırlanan besi ortamlarının içerisine %4 oranında S1, S2 ve S3 suşlarının ekimi yapılmıştır. İnkübasyon sürelerinin sonunda fenol-sülfürik asit yöntemi ile EPS miktar tayini yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar çizelge 3.11, 3.12 ve 3.13'de verilmiştir.

Elde edilen veriler incelendiği zaman S1 suşu yüksek miktarda EPS'yi 6 mL meyve posası karışımı ile 4 mL hazırlanan besi ortamı III'ün bulunduğu ortamda üretmiştir. Düşük miktarda EPS'yi ise 6 mL meyve posası suyu ile 4 ml hazırlanan besi ortamı IV'ün bulunduğu ortamda üretmiştir. Analiz sonucuna göre S1 suşu azot kaynağı olarak ortamında beef ekstrakt ve pepton yerine triptofan olduğu zaman daha

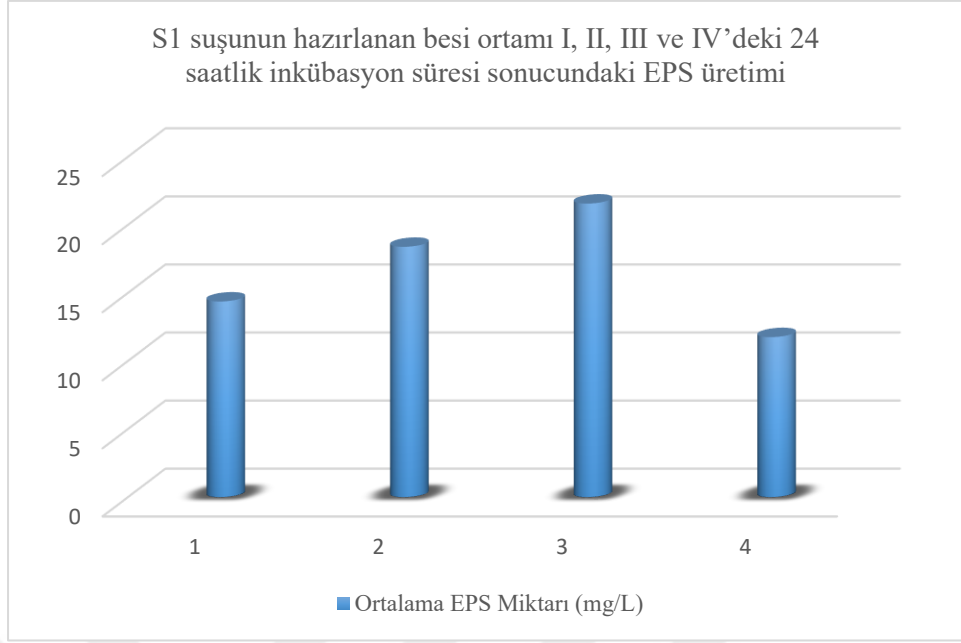
yüksek miktarda EPS üretmiştir. Ayrıca 3 azot kaynağı ortamda aynı anda olduğu zaman EPS üretimi azaldığı bulunmuştur.

S2 suşu yüksek miktarda EPS'yi 6 mL meyve posası karışımı ile 4 mL hazırlanan besi ortamı 2 'nin bulunduğu ortamda üretmiştir. Düşük miktarda EPS'yi ise 6 mL meyve posası suyu ile 4 mL hazırlanan besi ortamı IV'ün bulunduğu ortamda üretmiştir. S2 suşu azot kaynağı olarak pepton ve triptofan yerine beef ekstrakt tercih etmektedir. Ortamda azot kaynağı beef ekstrakt olduğu zaman daha çok EPS üretmiştir. Ayrıca 3 azot kaynağı ortamda aynı anda olduğu zaman EPS üretimi azaldığı bulunmuştur.

S3 suşu yüksek miktarda EPS'yi 6 mL meyve posası karışımı ile 4 mL hazırlanan besi ortamı III'ün bulunduğu ortamda üretmiştir. Düşük miktarda EPS'yi ise 6 mL meyve posası suyu ile 4 mL hazırlanan besi ortamı IV'ün bulunduğu ortamda üretmiştir. S3 suşu azot kaynağı olarak ortamında beef ekstrakt ve pepton yerine triptofan tercih etmektedir. Ayrıca 3 azot kaynağı ortamda aynı anda olduğu zaman EPS üretimi azaldığı bulunmuştur.

Çizelge 3.11 S1 suşunun hazırlanan besi ortamı I, II, III ve IV'deki 24 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi

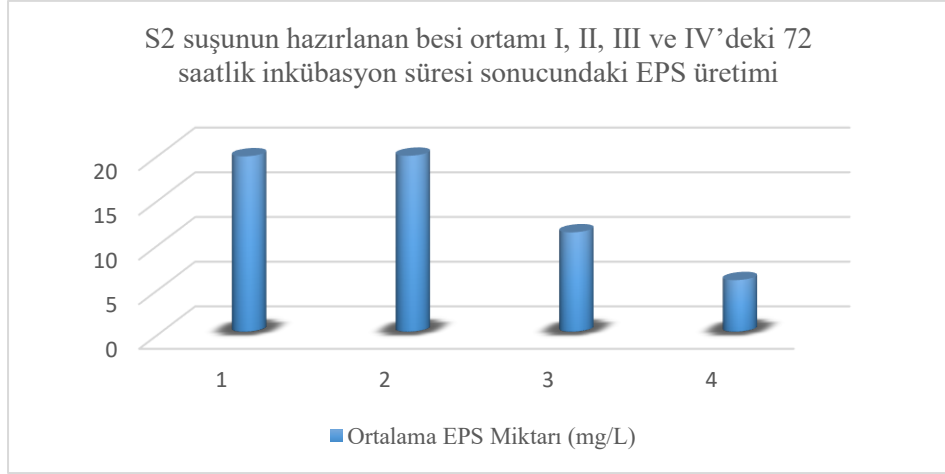
Ortam	Grafikteki Gösterimi	Ortalama EPS Miktarı (mg/L)
Besi ortamı I-karışık meyve posası suyu	(1)	14,377
Besi ortamı II-karışık meyve posası suyu	(2)	18,392
Besi ortamı III-karışık meyve posası suyu	(3)	21,570
Besi ortamı IV-karışık meyve posası suyu	(4)	11,760



Şekil 3.16 S1 suşunun hazırlanan besi ortamı I, II, III ve IV'deki 24 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi

Çizelge 3.12 S2 suşunun hazırlanan besi ortamı I, II, III ve IV'deki 72 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi

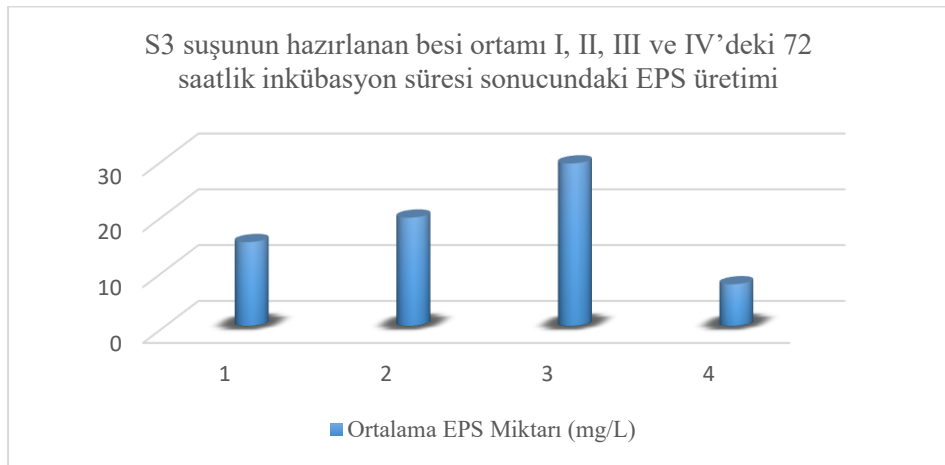
Ortam	Grafikdeki Gösterimi	Ortalama EPS Miktarı (mg/L)
Besi ortamı I-karışık meyve posası suyu	(1)	19,625
Besi ortamı II-karışık meyve posası suyu	(2)	19,689
Besi ortamı III-karışık meyve posası suyu	(3)	11,121
Besi ortamı IV-karışık meyve posası suyu	(4)	5,775



Şekil 3.17 S2 suşunun hazırlanan besi ortamı I, II, III ve IV'deki 72 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi

Çizelge 3.13 S3 suşunun hazırlanan besi ortamı I, II, III ve IV'deki 72 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi

Ortam	Grafikdeki Gösterimi	Ortalama EPS Miktarı (mg/L)
Besi ortamı I-karışık meyve posası suyu	(1)	15,031
Besi ortamı II-karışık meyve posası suyu	(2)	19,419
Besi ortamı III-karışık meyve posası suyu	(3)	29,131
Besi ortamı IV-karışık meyve posası suyu	(4)	7,472



Şekil 3.18 S3 suşunun hazırlanan besi ortamı I, II, III ve IV'deki 72 saatlik inkübasyon süresi sonucundaki EPS üretimi

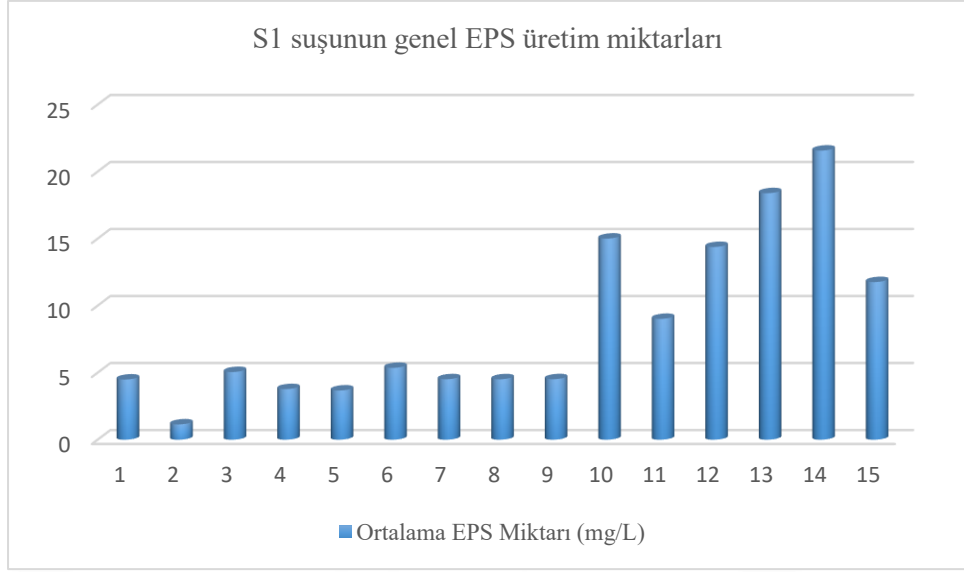
3.8 Genel EPS Üretim Miktarları

Bu bölümde S1, S2 ve S3 suşlarının genel EPS üretim miktarları verilmiştir.

S1 suşunun EPS üretimi M17 besiyeri ile kıyaslandığında oluşturulan 2 ortamda azalmış, 11 ortamda artış sağlanmış ve bu artış istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,016$).

Çizelge 3.14 S1 suşunun genel EPS üretim miktarları

Ortam	Grafikteki Gösterimi	Ortalama EPS Miktarı (mg/L)
M17	(1)	4,490
Nutrient	(2)	1,141
M17 – Vişne Posası 2 mL	(3)	5,050
M17- Vişne Posası 5 ml	(4)	3,775
M17- Kayısı Posası 2 mL	(5)	3,670
M17-Kayısı Posası 5 mL	(6)	5,360
M17-Şeftali Posası 2 mL	(7)	4,511
M17-Şeftali Posası 5 mL	(8)	4,507
Besi Ortamı I - Vişne Posası	(9)	4,514
Besi Ortamı I -Kayısı Posası	(10)	15,005
Besi Ortamı I – Şeftali Posası	(11)	9,015
Besi Ortamı I - Karışık Meyve posası	(12)	14,377
Besi Ortamı II - Karışık Meyve Posası	(13)	18,392
Besi Ortamı III -Karışık Meyve Posası	(14)	21,570
Besi Ortam IV - Karışık Meyve posası	(15)	11,760

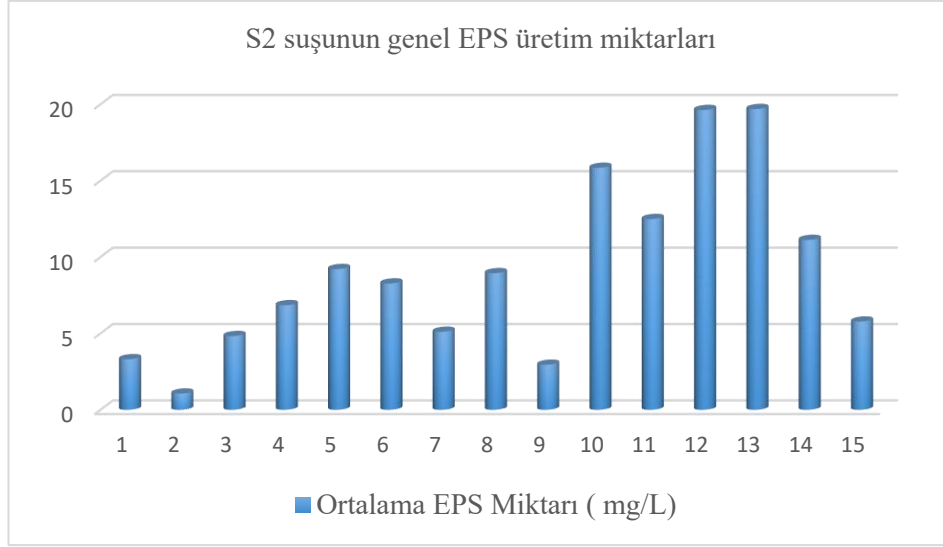


Şekil 3.19 S1 suşunun genel EPS üretim miktarları

S2 suşunun EPS üretimi M17 besiyeri ile kıyaslandığında oluşturulan 1 ortamda azalmış, 12 ortamda artış sağlanmış ve bu artış istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,002$).

Çizelge 3.15 S2 suşunun genel EPS üretim miktarları

Ortam	Grafikteki Gösterimi	Ortalama EPS Miktarı (mg/L)
M17	(1)	3,309
Nutrient	(2)	1,061
M17 -Vişne Posası 2 mL	(3)	4,828
M17- Vişne Posası 5 ml	(4)	6,845
M17- Kayısı Posası 2 mL	(5)	9,215
M17- Kayısı Posası 5 mL	(6)	8,269
M17- Şeftali Posası 2 mL	(7)	5,106
M17- Şeftali Posası 5 mL	(8)	8,943
Besi Ortamı I - Vişne Posası	(9)	2,948
Besi Ortamı I -Kayısı Posası	(10)	15,842
Besi Ortamı I – Şeftali Posası	(11)	12,489
Besi Ortamı I - Karışık Meyve posası	(12)	19,625
Besi Ortamı II - Karışık Meyve Posası	(13)	19,689
Besi Ortamı III - Karışık Meyve Posası	(14)	11,121
Besi Ortam IV - Karışık Meyve posası	(15)	5,775

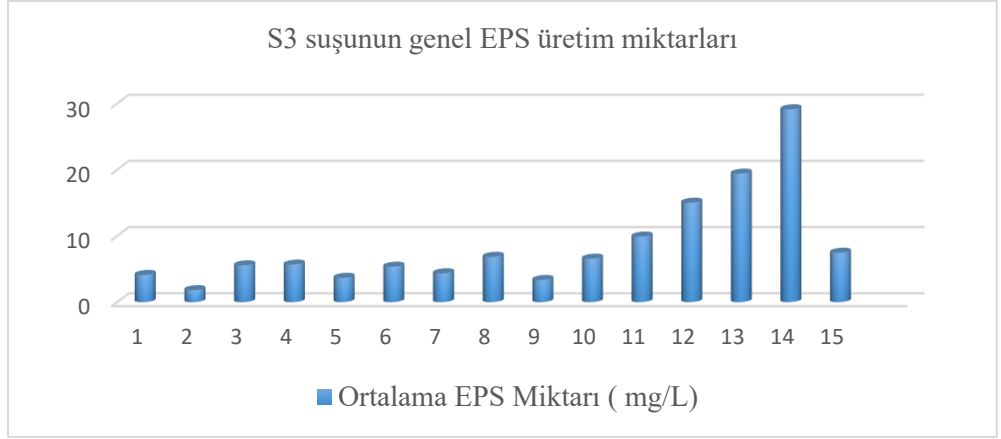


Şekil 3.20 S2 suşunun genel EPS üretim miktarları

S3 suşunun EPS üretimi M17 besiyeri ile kıyaslandığında oluşturulan 2 ortamda azalmış, 11 ortamda artış sağlanmış ve bu artış istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,005$).

Çizelge 3.16 S3 suşunun genel EPS üretim miktarları

Ortam	Grafikteki Gösterimi	Ortalama EPS Miktarı (mg/L)
M17	(1)	4,114
Nutrient	(2)	1,809
M17 -Vişne Posası 2 mL	(3)	5,564
M17- Vişne Posası 5 ml	(4)	5,675
M17- Kayısı Posası 2 mL	(5)	3,670
M17-Kayısı Posası 5 mL	(6)	5,360
M17-Şeftali Posası 2 mL	(7)	4,362
M17-Şeftali Posası 5 mL	(8)	6,845
Besi Ortamı I - Vişne Posası	(9)	3,353
Besi Ortamı I -Kayısı Posası	(10)	6,568
Besi Ortamı I – Şeftali Posası	(11)	9,913
Besi Ortamı I - Karışık Meyve posası	(12)	15,031
Besi Ortamı II - Karışık Meyve Posası	(13)	19,419
Besi Ortamı III -Karışık Meyve Posası	(14)	29,131
Besi Ortam IV - Karışık Meyve posası	(15)	7,472

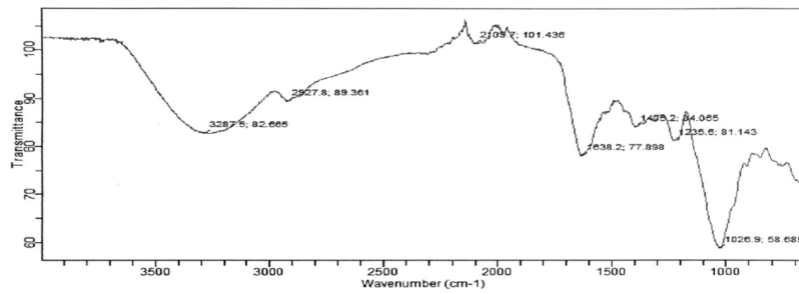


Şekil 3.21 S3 suşunun genel EPS üretim miktarları

3.9 FTIR Spektra Analiz

FTIR yöntemi ile moleküllerin titreşim modlarına karşılık olarak dönebilecekleri veya titreşebilecekleri belirli frekansları taşıdıklarını ortaya koymaktadır. Örnek EPS'nin FTIR spekturumu şekil 3.19'da gösterilmiştir.

Örneğimiz, hidroksil karbonhidrat gruplarının germe titreşimine dayandırılan yaklaşık $3287,5 \text{ cm}^{-1}$ 'de geniş bir bant ve yaklaşık 2925 cm^{-1} 'de bir C-H germe bandını sergilemektedir. $1638,2 \text{ cm}^{-1}$ 'deki bant, C=O'nun germe titreşimiyle bağdaştırılmıştır ve polisakaritlerin karakteristik absorpsiyonuna karşılık gelmektedir. Tüm spektrumlar, parmak izi bölgesi ($1200\text{--}950 \text{ cm}^{-1}$) içinde bulunan yaklaşık $1026,9 \text{ cm}^{-1}$ 'de tipik polisakarit bantlarını göstermektedir (Abid ve ark., 2018).



Şekil 3.22 EPS örneklerinin FTIR spektrumu

4.TARTIŞMA

Mikrobiyal EPS'ler bakteri, mantar ve algler tarafından salgılanabilen karbonhidrat yapısındaki önemli biyopolimerlerdir. EPS'lerin endüstriyel atıkların substrat olarak kullanılması ile biyoteknolojik olarak üretilmesi bitkisel kaynaklı üretime kıyasla daha hızlı bir alternatif sunmaktadır. Mikrobiyal ekzopolisakkarit pazarı, EPS'lerin gıda ve ilaç endüstrisindeki birçok ürünün reolojik özelliklerinin iyileştirmesi ve antitümör ve immünostimülatör özelliklerinden dolayı genişlemektedir (Barcelos ve ark., 2019). Ksantan yılda % 6-7'lik büyüme ile mikrobiyal ekzopolisakkarit pazarına egemen durumdadır. Dünya çapında ksantan pazarı yılda 600 ila 800 milyon dolar arasında değişmektedir (Subhash ve ark., 2015).

Günümüzde doğal yoğurda talebin artması ve fermente sütteki katkı maddesinin azaltılmasının istenmesinden dolayı fermantasyon başlatıcılardan elde edilen EPS'ler, yoğurdun tekstüre etme özelliğini korumak için potansiyel alternatifler olarak kullanılmaktadırlar. LAB ile EPS oluşumunun, fermente sütte istenilen yapının oluşmasını ve reolojik özelliklerini sağlamasından dolayı kısmen ticari stabilizatörün yerini alabileceği bulunmuştur (Zhang ve ark., 2018).

S. thermophilus, *L. delbrueckii ssp.* ve *L. bulgaricus* ile birlikte süt endüstrisinde yaygın olarak kullanılan en homofermentatif termofilik bakterilerden biridir. Son yıllarda, *S. thermophilus* suşları tarafından salgılanan EPS'ler, süt ürünleri üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle süt endüstrisinde ticari açıdan ilgi çekmektedir. Fermente ürünlerin viskozitesine, reolojisine ve ağız hissine etki ederek yoğurt ve az yağlı peynirlerin dokusunu oluşturabildikleri bulunmuştur. Bu sebeplerden dolayı, ticari stabilizatörlerin tamamen değiştirilmesi amacıyla ümit vaat eden EPS'nin üretimi, yapısı ve biyosentezi üzerine birçok çalışma yapılmaktadır (Zhang ve ark., 2018).

Meyve suyu elde edilmesi sırasında yan ürün olarak elde edilen meyve posalarının normal koşullar altında kısa sürede bozulması bunların hayvan beslemede

kullanılmasını mümkün kılmamaktadır (Yalçinkaya ve ark., 2012). Bu nedenle endüstriyel atık olan bu materyallerin EPS üretiminde kullanılmış olması çalışmamızı önemli kılmaktadır.

Çalışmamızda yoğurt ve kefirde izole edilen *S. thermophilus* izolatları ve *S. thermophilus* ATCC 19258 suşunun meyve posaları kullanılarak hazırlanan farklı ortamlarda EPS üretimi incelenmiştir. Hazırlanan ortamlarda şeftali, vişne, kayısı posası suyu kullanılmıştır. İlk olarak suşların standart bir ortamda farklı inkübasyon sürelerine EPS üretimine bakılmıştır. Suşların EPS üretimi M17 ve Nutrient besiyerlerinde 24, 48 ve 72 saat olmak üzere 3 farklı inkübasyon süresinde incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar çizelge 3.2, 3.3 ve 3.4’de verilmiştir. *S. thermophilus* ATCC 19258 ile M17 ortamında 24 saat inkübasyon süresinde en yüksek EPS miktarı gözlemlenmiştir. En düşük EPS miktarı ise 72 saat inkübasyon süresinde nutrient besiyerinde bulunmuştur. Suşun inkübasyon süresi arttıkça Nutrient besiyerinde EPS üretim miktarı azalmıştır. S2 suşu M17 besiyerinde inkübasyon süresi arttıkça EPS üretimini artırdığı gözlemlenmiştir. Fakat Nutrient besiyerinde 72 saatlik inkübasyon süresinin sonunda düşük miktarda EPS üretimi göstermiştir. S3 suşu M17 ortamında 72 saatlik inkübasyon süresinin sonunda yüksek miktarda EPS üretimi sağlamıştır. Nutrient besiyerinde 48 saatlik inkübasyon süresinin sonunda düşük miktarda EPS üretirken 72 saatlik inkübasyon süresi sonrasında Nutrient besiyerinde yüksek miktarda EPS üretmiştir. Her üç suşda M17 besiyerinde nutrient besiyerine göre daha yüksek miktarda EPS üretimi sağlamıştır. Bu nedenle çalışmanın ileri aşamalarında M17 besiyeri kullanılmış ve *S. thermophilus* ATCC 19258 için inkübasyon süresi 24 saat, yoğurt ve kefirde izole edilen *S. thermophilus*’lar için 72 saat olarak belirlenmiştir.

Aslım ve arkadaşları (2005) tarafından yapılan bir çalışmada *L. delbrückii* subsp. *bulgaricus* B3, G12 ve *S. thermophilus* W22 suşları MRS ve M17 ortamlarında sırasıyla 5 ila 48 saat arasında inkübasyona bırakıldığı çalışmada en fazla EPS üretimi 18 saatlik inkübasyon süresi sonunda sırası ile 220, 152, 120 mg / L olarak tespit edilmiştir. 24 saatlik inkübasyonun ardından EPS üretiminin düşmeye başladığı tespit edilmiştir. Tüm suşlarda, büyümenin üssel fazında maksimum EPS üretimine

ulaşılmıştır. Yapılan bir başka çalışmada ise *S. salivarius ssp. thermophilus* üstel büyüme safhası olan 0 ile 6 saat arasında veya erken durağan faz olan 6 ile 10 saat arasından hiç EPS üretilmediği bulunurken EPS üretiminin 14 ila 18 saat arasında maksimum değere ulaştığı bulunmuştur (Gancel ve Novel, 1994). Başka bir çalışmada ise *W. Cibaria GA44*'ün EPS üretimi için pH (6,0-8,0), sıcaklık (20-40°C) ve inkübasyon süresinin (12-96) etkisi incelenmiştir. En yüksek miktarda EPS pH 7,0, inkübasyon sıcaklığı 30°C ve inkübasyon süresi 48 saat iken elde edilmiştir (Adesulu ve ark., 2018). *L. plantarum MTCC 9510* ile yapılan bir çalışmada ise EPS üretimine laktoz, maya özütü, amonyum sülfat ve inkübasyon sürelerinin etkisi incelenmiş ve EPS üretimi ile birlikte, büyüme de 72 saatte maksimuma ulaşmıştır ve üretimin log-fazın sonuna doğru maksimuma ulaştığı, durağan ve azalan fazda düştüğü bulunmuştur (Ismail ve Madhavan, 2010). *L. delbrueckii subsp. bulgaricus NCFB 2772* ile yapılan bir çalışmada yüksek sıcaklıklarda ve yavaş büyüme koşulları altında EPS üretimi oldukça iyi bulunmuştur. Bir başka çalışmada ise *L. bulgaricus RR* suşu tarafından EPS üretimi için optimum kültür koşullarının sıcaklık için 36°C-39°C ve pH koşullarının ise 4,5 – 5,5 olduğu belirlenmiştir (Harutoshi, 2013). Bir araştırmada ise *S. thermophilus* için uygun pH 6,5, optimum sıcaklık 40°C ve kültür süresi 24 saat olarak bulunmuştur. Yine aynı çalışmada sükroz karbon kaynağı olarak kullanıldığı zaman EPS üretiminin 108 mg / L'ye çıktığı bulunmuştur. Bunun üzerine sükroz konsantrasyonunun EPS üretimi üzerindeki etkisini değerlendirmek için çeşitli miktarlarda sükroz ile birkaç fermentasyon deneyi yapılmıştır. Sükroz konsantrasyonu 80 g / L olduğunda EPS 120 mg / L'ye ulaşmıştır fakat sükroz konsantrasyonu 80 g / L'den daha fazla olduğunda ise EPS üretimi azalmıştır. Azot kaynağı olarak ise tripton, soya peptonu, pepton, sığır özü ve peynir altı suyu kullanılmıştır. Bu azot kaynaklarından ise en yüksek EPS seviyesi soya peptonu ile sağlanmıştır (Li ve ark., 2016).

Çalışmada her üç suşda M17 besiyerinde daha yüksek miktarda EPS ürettiğinden dolayı ikinci aşamada M17 besiyeri ile devam edilmiştir. M17 besiyerinden belirli oranlarda alınarak üzerine meyve posası suyu eklenmiştir ve hazırlanan bu besi ortamlarının EPS üretimine etkisine bakılmıştır. Çizelge 3.5, 3.6 ve 3.7 içerisinde meyve posası bulunan M17 besiyerindeki EPS miktarlarını

göstermektedir. Eklenen meyve posası suyunun miktarı 2 mL ve 5 mL alınmıştır. *S. thermophilus ATCC 19285* ortamda 5 mL kayısı posası suyu bulunduğu zaman EPS üretimi artmıştır. Ortamda kayısı posası suyu 2mL olduğu zaman ise en düşük miktarda EPS üretimi gerçekleştirmiştir. Elde edilen EPS miktarlarına bakıldığında zaman 2 mL ve 5 mL posa suyu arasında ciddi bir fark görülmemiştir. Ancak ortama meyve posası suyu eklenmiş olması EPS üretimini artırmıştır.

S2 suşunun ortamda 2 mL ve 5 mL posa suyu bulunan ortamlarda elde edilen EPS miktarları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ortama meyve posası suyu eklemiş olmamız EPS miktarını artırmıştır.

S3 suşu ortamda 5 mL kayısı posası suyu bulunduğu zaman M17 besiyerine göre EPS üretimini artırmıştır. Yine 2 mL ve 5 mL posa suyu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ortama meyve posası suyu eklenmiş olması elde edilen EPS miktarının artmasına sebep olmuştur. Her üç suşda kayısı posası suyu bulunan ortamda EPS üretimini en çok artırmıştır. Üç posayı karşılaştırdığımız zaman kayısı posasının EPS üretimini daha çok artırdığından dolayı EPS üretimini artırmaya yönelik çalışmalarda şeftali ve vişne posası suyuna göre daha çok tercih edilmesi gerektiğini ortaya çıkarmaktadır. Kayısı posası suyunun glikoz, fruktoz ve sakkaroz miktarlarının diğer iki posa suyuna göre daha fazla olması EPS miktarını artırmıştır.

Çalışmamıza paralel olarak yapılan çalışmalarda ortamda bulunan şekerin EPS üretimini etkilediği bulunmuştur. Sadece karbon kaynağının doğası değil, şekerlerin ve konsantrasyon birimlerinin kombinasyonu da EPS'nin sentezlenmesi üzerinde önemli bir uyarıcı etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Jaiswal ve ark., 2014). Ismail ve Madhavan (2010) tarafından yapılan bir çalışmada karbon kaynağı olarak glikoz, laktoz, sakkaroz, galaktoz kullanılmıştır. Elde edilen EPS miktarları sırası ile 0,3, 0,44, 0,21, 0,24 g/L bulunmuştur. Mikrobiyal büyüme ve EPS üretimi üzerine farklı karbonhidratlar veya karbonhidrat karışımlarının belirgin etkilere sahip olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Cui ve ark., 2017). Başka bir çalışmada yoğurt suşu olan *S. thermophilus LY03*, 4:1 oranında galaktoz ve glikozdan oluşan bir heteropolisakkarit ürettiği bulunmuştur. *LY03*, laktoz, glikoz ve fruktoz dahil olmak

üzere farklı konsantrasyonlarda farklı karbonhidratlar veya karbonhidrat karışımları içeren ortamda kültürlenmiştir. Bu çalışmada farklı karbonhidratların EPS üretimi ve mono moleküler kompozisyon üzerindeki etkileri analiz edilmiştir. Sonuçlar, EPS veriminin, kullanılan enerji türünden ve karbonhidrat kaynağından açıkça etkilendiğini göstermiştir. *LY03*, laktoz ve glikozun birlikte bulunduğu ortamda en yüksek miktarda EPS ürettiği belirlenmiştir (Degeest ve ark., 1999). *S. thermophilus ST1* ile yapılan çalışmada sulandırılmış süt ortamına 42°C'de % 2 (w / v) glikoz, laktoz, sükroz, galaktoz, fruktoz eklendiği zaman ki EPS üretimi incelenmiştir. Karbon kaynaklarından herhangi birinin kültüre eklenmesi, EPS üretiminde belirgin bir artışa yol açmıştır. Elde edilen EPS miktarları fruktoz eklendiği zaman 64,52 mg/L, laktoz eklendiği zaman 66,39 mg /L, glikoz eklendiği zaman 69,35 mg /L, galaktoz eklendiği zaman 60,93 mg/ L ve sükroz eklendiği zaman 73,28 mg /L bulunmuştur. Kontrol için elde edilen EPS üretimi ise 32 saatte 45,63 mg/L olduğu belirtilmiştir (Zhang ve ark., 2011). Başka bir araştırmada ise M17 ortamında normalde bulunan 5 g/L laktoz yerine 20 g laktoz (M17-lac), sükroz (M17-suc), fruktoz (M17-fru) veya glikoz (M17-glu) / L içeren modifiye M17 ortamı hazırlanmış ve bu hazırlanan modifiye ortamlarda *S. thermophilus W22* suşunun EPS üretimi incelenmiştir. W22 suşu ortama sükroz eklendiği zaman 34 mg/L, fruktoz eklendiği zaman 40 mg/L, laktoz eklendiği zaman 114 mg/L 'de ve glikoz eklendiği zaman 120 mg/L'de bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada ortama eklenen glikoz, sükroz, fruktoz ve laktoz konsantrasyonu arttıkça EPS üretiminin arttığı bulunmuştur (Yüksekdağ ve Aslım, 2008). Yapılan araştırmaların sonucunda karbon kaynağının büyüme ve EPS üretimi üzerindeki etkisinin, spesifik suşa, şeker tipine ve hücre karbonhidrat metabolizmasının özelliklerine bağlı olduğu bulunmuştur (Zhang ve ark., 2018).

Çalışmanın devamında içerisinde mikroorganizmaların gelişimini sağlayacak kimyasalların bulunduğu besi ortamı hazırlanmıştır. Bu besi ortamının içeriği çizelge 2.4'de verilmiştir. Hazırlanan besi ortamı I'ın içerisine ayrı ayrı vişne, şeftali ve kayısı posası eklenmiştir. Bu hazırlanan ortama suşların ekimi yapıldıktan sonra EPS üretimleri incelenmiştir. S1 ve S2 suşları için en yüksek miktarda EPS üretimini kayısı posası suyu ve besi ortamı I'ın bulunduğu ortamda elde edilirken S3 suşu için şeftali posası ile hazırlanan ortamda daha yüksek EPS elde edilmiştir. Üç suşda en düşük

verimi besi ortamı I ve vişne posası suyu ile hazırlanan ortamda göstermiştir. Çünkü vişne posası, şeftali ve kayısı posalarına göre daha az miktarda şeker içermektedir. Hazırlanan besi ortamı I meyve posası ile birlikte EPS miktarının artmasına sebep olmuştur.

Çalışmanın en son aşamasında meyve posaları karıştırılarak kullanılmıştır. Her meyve posasından 2 mL alınarak toplam 6 mL meyve posası karışımı elde edilmiş ve bu karışımın üzerine hazırlanan besi ortamı I den 4 mL alınarak toplam 10 mL'lik ortam hazırlanmıştır. Bu ortamda azot kaynağı pepton olduğu için peptonun EPS üretimine etkisi incelenmiştir. Daha sonra azot kaynakları değiştirilerek besi ortamı II, III ve IV elde edilmiştir. Hazırlanan besi ortamı II 'de azot kaynağı beef ekstrakt'dır. Besi ortamı III 'de azot kaynağı triptofan ve besi ortamı IV'de azot kaynağı olarak pepton, beef ekstrakt ve triptofan aynı anda kullanılmıştır.

S. thermophilus ATCC 19258'in bu ortamlarda EPS üretimi incelendiği zaman triptofan bulunan ortamda daha çok EPS ürettiği gözlemlenmiştir. Bu suşun azot kaynağı tercihi triptofan'dır. Her 3 azot kaynağının bulunduğu ortamda ise üretilen EPS miktarının azaldığı bulunmuştur.

S2 suşunun azot kaynağı tercihi beef ekstrakttır çünkü bu suş triptofan ve pepton bulunan ortamlara göre beef ekstrakt bulunan ortamda daha yüksek miktarda EPS üretimi göstermiştir. Yine her 3 azot kaynağının bulunduğu ortamda üretilen EPS miktarının azaldığı bulunmuştur.

S3 suşunun triptofan bulunan ortamda yüksek miktarda EPS ürettiği gözlemlenmiştir ve en az miktarda EPS ise 3 azot kaynağının aynı anda olduğu ortamda elde edilmiştir. Ortama hem azot kaynağının eklenmiş olması ve hem de üç posanın karışım halinde olması EPS üretimini önemli derecede artırmıştır. Suşlar arasında tercih edilen azot kaynakları triptofan ve beef ekstrakt bulunmuştur. Üç suş da azot kaynaklarının bir arada bulunduğu ortamda EPS üretimini azaltmıştır. Bunun nedeni C/N oranının bozulmuş olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

L. plantarum MTCC 9510 ile yapılan bir çalışmada azot kaynağı olarak ortama maya ekstrakt, beef ekstrakt, triptofan ve pepton eklenmiştir. Elde edilen EPS miktarları sırası ile 0,64 g/ L, 0,24 g/ L, 0,03 g/L ve 0,01 g/L ‘de bulunmuştur. En yüksek miktarda EPS üretimi ortama maya ekstrakt eklendiği zaman elde edilmiştir (Ismail ve Madhavan, 2010). *S. thermophilus* ST1 ile yapılan başka bir çalışmada yağsız süt ortamına % 0.5 oranında peynir altı suyu eklendiği zaman hem bakteriyel büyüme hem de EPS üretimini arttırmıştır. Peynir altı suyu takviyesi ile 82,70 mg /L ‘de EPS üretildiği bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2011). Çin'in güneyindeki Xinjiang eyaletinden toplanan geleneksel fermente süttten izole edilen *L. helveticus* MB2-1 ile yapılan bir çalışmada bazal besiyerine kazein, soya peptonu, kazein tripton ve pepton gibi çeşitli nitrojen kaynakları ve $MnCl_2$, $MgSO_4$, $CaCl_2$ ve KCl gibi mineral tuzları ilave edildi. Soya fasulyesi peptonunun, *L. helveticus* MB2-1'in EPS üretimi için diğer azot kaynaklarından daha etkili azot kaynağı olduğu bildirilmiştir. Çeşitli konsantrasyonlar arasında, 20 g / L'de soya peptonunun bazal ortama eklenmesi maksimum EPS (685 mg / L) üretimini sağlamıştır. Soya peptonunun EPS üretimini daha çok uyarmış olmasının nedeninin zengin protein içeriği, kısa peptitler, amino asit ve vitamin yapısından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. EPS üretimi üzerindeki etkilerine bakmak için bazal ortama ayrı olarak birkaç mineral tuz kaynağı eklenmiştir. Çalışmanın sonucunda $MgSO_4$, mikrobiyal biyokütlenin büyümesi ve EPS üretimi için iyi bir hızlandırıcı olduğu bulunmuştur. Bazal ortama 3 g / L $MgSO_4$ eklendikten sonra maksimum hücre biyokütlesi ve EPS üretimi sırasıyla 2,89 g / L ve 479 mg / L olarak bulunmuştur. Çalışmanın sonucunda bakterilerin büyümesi ve LAB tarafından EPS üretimi azot kaynakları ile arttırılabilmektedir (Li ve ark., 2014). Çalışmamızda da ortama eklenen azot kaynakları ile EPS üretimi artırılmıştır. 2 suş azot kaynağı triptofan olduğu zaman yüksek miktarda EPS üretirken bir suş azot kaynağı beef ekstrakt olduğu zaman en yüksek miktarda EPS'yi üretmiştir. Azot kaynakları bir arada olduğu zaman EPS üretimi azalmıştır. Yapılan bir başka çalışmada C/N oranının ne kadar önemli olduğu gösterilmiştir. Araştırmanın sonucunda C/N oranı 13,6 olduğu zaman yüksek miktarda EPS üretilirken C/N oranı 3,4 olduğu zaman düşük miktarda EPS üretimi sağlanmıştır. Karbon ve genellikle azot olan sınırlayıcı besin arasında yüksek oran içeren bir ortam polisakarit üretimini desteklemektedir. C / N oranı azaldıkça üretilen EPS değerlerinin azaldığı gösterilmiştir. EPS üretimi yüksek bir C / N oranı ile artmaktadır

(Miqueleto ve ark., 2010).

Çalışmanın genelinde üç suş arasında EPS üretimi açısından yüksek bir fark bulunmamaktadır. Elde edilen sonuçlara bakıldığında her aşamada EPS üretimi üç suşda da artırılmıştır. İlk olarak çalışmaya başlanıldığı zaman EPS üretimi S1 suşu için en yüksek 4.490 mg/L iken çalışmanın son aşamasında karışık meyve posası suyu bulunan azot kaynağı olarak triptofan eklenmiş ortamda en yüksek EPS miktarını (21,570 mg/L) üretmiştir. S2 suşu başlangıçta en yüksek 3,309 mg/L EPS üretirken çalışmanın son aşamasında ise en yüksek EPS üretim miktarı olan 19,689 mg/L karışık meyve posası suyu bulunan azot kaynağı beef ekstrakt eklenmiş ortamda üretmiştir. S3 suşu çalışmanın ilk ortamında 4,114 mg/L EPS üretirken çalışmanın son aşamasında karışık meyve posası suyu ile azot kaynağı olarak triptofan bulunan ortamda 29,131 mg/L EPS üretmiştir. Elde edilen veriler meyve posası eklenerek oluşturulan ortamların EPS üretimini artırdığını göstermiştir. Atık bir materyal olan meyve posasının EPS üretimini artırmaya yönelik kullanılabileceğini göstermektedir. Yapılan literatür taramasında çalışmalarda genellikle fermentasyon koşulları olan inkübasyon süresi, sıcaklık, pH gibi veya karbon ve azot kaynakları değiştirilerek EPS üretimi incelenmiştir. Atık bir materyal olarak meyve posasının kullanılıp EPS üretimine etkisinin araştırılması önem teşkil etmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın temel amacı meyve posalarının EPS üretimine etkisinin araştırılmasıdır. Çalışmamızda yoğurt ve kefir'den *S. thermophilus* suşları izole edilerek meyve posaları kullanılarak oluşturulan besi ortamlarında EPS üretimleri incelenmiştir.

Bu amaçla öncelikle suşların M17 ve Nutrient sıvı besiyerlerindeki en yüksek miktarda EPS'yi ürettiği inkübasyon süresi belirlenmiştir. *S. thermophilus* ATCC 19258, 24 saatlik inkübasyon süresinin sonunda yüksek miktarda EPS üretirken S2 ve S3 izolatları 72 saatlik inkübasyon süresinin sonunda yüksek miktarda EPS üretmiştir. Çalışmada kullanılan üç suş da M17 besiyerinde daha yüksek miktarda EPS üretimi sağlamıştır.

M17 besiyeri içerisine ayrı ayrı şeftali, kayısı ve vişne posası eklendiği zaman EPS üretimleri artmış ve en yüksek EPS üretimi kayısı ortamda elde edilmiştir.

Çalışmada bakterilerin temel ihtiyaçları göz önünde bulundurularak hazırlanan baz besi ortamı içerisine meyve posası eklenmiş ve EPS üretimi incelenmiştir. Hazırlanan besi ortamı içerisine meyve posası eklendiği zaman ki EPS üretimi, M17 ve Nutrient besiyerlerinde elde edilen EPS miktarına ve meyve posası eklenmiş M17 ortamına göre daha fazla EPS üretimine sebep olmuştur.

Meyve posaları karışım halinde kullanılarak azot kaynağının EPS üretimine etkisi araştırıldığında ise suşlar arasında azot kaynağı tercihi farklılık göstermekle birlikte ortama azot kaynağının eklenmiş olması EPS üretimini artırmıştır.

Meyve posası tercihi yapılırken daha şekerli meyvelerin posası tercih edilir ise EPS üretim miktarının daha çok artacağı düşünülmektedir. Çünkü kayısı posası diğer posalara göre daha çok şeker içerdiğinden dolayı EPS üretimini daha çok uyarmıştır.

Bu alışma ile birlikte kullanılan meyve posalarının EPS üretimini artırdığı gösterilmiştir. Atıkların değerlendirilmesi açısından düşünüldüğünde özellikle kayısı posasının EPS retiminde iyi bir alternatif olabileceği dşnlmektedir. Hedeflediğimiz bir sonraki çalışmada elde edilen EPS'lerin hem NMR strestokopisi ile yapılarının aydınlatılması hem de farklı alanlarda kullanım potansiyellerinin araştırılmasıdır.



ÖZET

Meyve Posalarının Ekzopolisakkarit (EPS) Üretimine Etkisinin Araştırılması

Starter LAB'lar tarafından üretilen doğal EPS'ler, teknolojik ve fizyolojik rollerinden dolayı son yıllarda önem kazanmıştır. Endüstriyel uygulamalarda özellikle gıda endüstrisinde geniş kullanım alanına sahip olan EPS'ler, bazı mikroorganizmalar tarafından üretilerek dış ortama salgılanan karbonhidrat yapısındaki biyopolimerlerdir. EPS'ler, gıdalara fonksiyonel etkiler kazandırmasından ve sağlık üzerine potansiyel etkilerinden dolayı ekonomik açıdan önemlidir.

Bu çalışmada farklı meyve posaları kullanılarak hazırlanan besi ortamlarında EPS üretimi, kefir ve yoğurttan izole edilen *S. thermophilus* suşları ile kontrol suş olarak kullanılan *S. thermophilus* ATCC 19258 suşlarında araştırılmıştır. Üç suşunda farklı besi ortamlarında EPS üretmesi sağlanmış ve elde edilen EPS miktarları fenol sülfirik asit metodu ile glikoz standart olarak kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Üretilen ekzopolisakkaritin karakterizasyonu ise FTIR yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre standard suş *S. thermophilus* ATCC 19258 en yüksek EPS üretimini 24 saat inkübasyon süresinin sonunda sağlarken kefir ve yoğurttan elde edilen suşlar ise en yüksek EPS üretimini 72 saat inkübasyon süresinin sonunda sağlamıştır. Her üç suşta M17 besiyerinde Nutrient besiyerine göre daha yüksek miktarda EPS üretmiştir. Ortama meyve posası eklendiği zaman EPS üretimini her üç suşta artırmıştır. En fazla EPS üretimi kayısı posası suyu bulunan ortamlarda sağlanmıştır. Ortama meyve posası suyu ile birlikte farklı azot kaynakları eklendiği zaman EPS üretimi artmıştır.

Çalışmada fermente süt ürünlerinden elde edilen *S. thermophilus* suşlarının ürettiği EPS miktarının, meyve posaları kullanılarak hazırlanan besi ortamlarında arttığı gözlenmiştir.

Anahtar Kelime: Ekzopolisakkarit, Fenol-sülfirik asit, Meyve Posası, *S. thermophilus*

SUMMARY

Investigation of the Effect of Fruit Pulps on the Production of Exopolysaccharide

The natural EPS produced by Starter LABs has gained importance in recent years due to their technological and physiological roles. In industrial applications, especially in food industry, EPSs are widely used. EPSs are biopolymers in carbohydrate structure that produced by some microorganisms and secreted into the external environment. EPSs are economically important due to their functional effects on foods and their potential impact on health.

In our study, *S. thermophilus* which isolated from 2 different sources (kefir and yoghurt) and standard strain *S. thermophilus* ATCC 19258 were used. EPSs of three strains which produced in different medias were isolated. The amount of EPS obtained was measured spectrophotometrically using phenol sulfuric acid method as glucose standard. The exopolopolysaccharide characterization was performed by FTIR method.

According to the results, the standard strain *S. thermophilus* ATCC 19258 provided the highest amount of EPS production at the end of the 24-hour incubation period, while the strains obtained from the kefir and yoghurt provided the highest amount of EPS production at the end of the 72-hour incubation period. In all three strains, M17 produced a higher amount of EPS than Nutrient medium. When the fruit pulp was added to the environment, EPS production increased in all three strains. Most EPS production is provided in the environment where apricot pulp is present.

In this study produced by fermented milk products *S. thermophilus*, it was observed that the amount of EPS strains increased in the medium prepared by using fruit pulp.

Keywords: Exopolysaccharide, fenol-sulfuric acid, fruit pulp, *S. thermophilus*

KAYNAKLAR

- AKSOZ E (1990). Bazı Atık ve Artıklar Kullanarak *Bacillus Subtilis*'den Poligalakturonaz Eldesi. Production Polygalactrunosa By Bacillus Subtilis Using Some Waste Or Residues As Carbon Sources. *Mikrobiyoloji Bülteni* **24** : 262-271
- ABID Y, CASILLO A, GHARSALLAH H, JOULAK I, LANZETTA R, CORSARO MM, ATTIA H, AZABOU S (2018). Production and structural characterization of exopolysaccharides from newly isolated probiotic lactic acid bacteria. *International journal of biological macromolecules*, **108**, pp.719-728.
- ADESULU-DAHUNSI AT, SANNAI AI, JEYARAM K (2018). Production, characterization and In vitro antioxidant activities of exopolysaccharide from *Weissella cibaria* GA44. *LWT*, **87**, pp.432-442.
- ARENDT EK, RYAN LA, DAL BELLO F (2007). Impact of sourdough on the texture of bread. *Food microbiology*, **24**(2), pp.165-174.
- ASLIM B, YUKSEKDAG ZN, BEYATLI Y, MERCAN N (2005). Exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strains under different growth conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **21**(5), pp.673-677.
- ASLIM B, ONBASILI D, YUKSEKDAG ZN (2011). Determination of Lactic Acid Production and Antagonistic Activity against *Helicobacter pylori* of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *S. thermophilus* Strains. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, **17**(4), pp.609-614.
- ATES O (2015). Systems biology of microbial exopolysaccharides production. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, **3**, p.200.
- BARCELOS MCS, VESPERMANN KAC, PELISSARI FM (2019). 'Current status of biotechnological production and applications of microbial exopolysaccharides', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Taylor & Francis, **0**(0), pp. 1–21. doi: 10.1080/10408398.2019.1575791.
- BATISH VK, ROY U, LAL R, GROWER S (1997). Antifungal attributes of lactic acid bacteria—a review. *Critical Reviews in Biotechnology*, **17**(3), pp.209-225.
- BENGOA AA, LLAMAS MG, IRAPORDA C, DUEÑAS MT, ABRAHAM AG, GARROTE GL (2018). Impact of growth temperature on exopolysaccharide production and probiotic properties of *Lactobacillus paracasei* strains isolated from kefir grains. *Food microbiology*, **69**, pp.212-218.
- BILGEHAN H, (2009). Klinik mikrobiyolojik tanı. Fakülteler Kitapevi, Barış yayınları.

- BOELS IC, VAN KRANENBURG R, KANNING MW, CHONG BF, DE VOS WM, KLEEREBEZEM M (2003). Increased exopolysaccharide production in *Lactococcus lactis* due to increased levels of expression of the NIZO B40 eps gene cluster. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**(8), pp.5029-5031.
- BRAMHACHARI PV, DUBEY SK (2006). Isolation and characterization of exopolysaccharide produced by *Vibrio harveyi* strain VB23, *Letters in Applied Microbiology*, **43**(5), pp. 571–577. doi: 10.1111/j.1472-765X.2006.01967.x.
- CAGGIANIELLO G, KLEEREBEZEM M, SPANO G (2016). Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **100**(9), pp. 3877–3886. doi: 10.1007/s00253-016-7471-2.
- CELIK H, DURAK Y, UYSAL A (2016). Bazı Ticari ve Ev Yapımı Yoğurtlardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Duyarlılıkları. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, **42**(2), pp.149-160.
- CUI Y, JIANG X, HAO M, QU X, HU T (2017). New advances in exopolysaccharides production of *Streptococcus thermophilus*. *Archives of microbiology*, **199**(6), pp.799-809.
- DEGEEST B, VEN S VAN DE, VUYST L DE (1999). Process Characteristics of Exopolysaccharide Production by *Streptococcus thermophilus*, **52**, pp. 43–52.
- DELBARRE-LADRAT C, SINQUIN C, LEBELLENGER L, ZYKWINSKA A, COLLIEC-JOUAULT S (2014). Exopolysaccharides produced by marine bacteria and their applications as glycosaminoglycan-like molecules. *Frontiers in chemistry*, **2**, p.85.
- DERTLI E, YILMAZ MT, TATLISU NB, TOKER OS, CANKURT H, SAGDIC O (2016). Effects of in situ exopolysaccharide production and fermentation conditions on physicochemical, microbiological, textural and microstructural properties of Turkish-type fermented sausage (sucuk). *Meat science*, **121**, pp.156-165.
- DONOT F, FONTANA A, BACCOU JC, SCHORR-GALINDO S (2012). Microbial exopolysaccharides: main examples of synthesis, excretion, genetics and extraction. *Carbohydrate Polymers*, **87**(2), pp.951-962.
- DUBOIS M, GILLES KA, HAMILTON JK, REBERS PT, SMITH F (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, **28**(3), pp.350-356.
- ERGENE E, AVCI A (2016). Mikrobiyel ekzopolisakkaritler, *SAÜ Fen Bil Der*, **20**. Cilt(2.Sayı), pp. 193–202.
- FLOROU-PANERI P, CHRISTAKI E, BONOS E (2013). Lactic Acid Bacteria as Source of Functional Ingredients, *Lactic Acid Bacteria-R& D for Food, Health and Livestock Purposes*, pp. 589–614. doi: <http://dx.doi.org/10.5772/47766>.

- FREITAS F, ALVES VD, REIS MAM (2011). Advances in bacterial exopolysaccharides: From production to biotechnological applications, *Trends in Biotechnology*. Elsevier Ltd, **29**(8), pp. 388–398. doi: 10.1016/j.tibtech.2011.03.008.
- FUKUDA K, SHI T, NAGAMI K, LEO F, NAKAMURA T, YASUDA K, SENDA A, MOTOSHIMA H, URASHIMA T (2010). Effects of carbohydrate source on physicochemical properties of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus fermentum* TDS030603 in a chemically defined medium. *Carbohydrate Polymers*, **79**(4), pp.1040-1045.
- GANCEL F, NOVEL G (1994). Exopolysaccharide Production by *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* Cultures. 1. Conditions of Production, *Journal of Dairy Science*. Elsevier, **77**(3), pp. 685–688. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(94)77000-4.
- GERWIG GJ (2019). Structural Analysis of Exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria. *Methods in molecular biology* (Clifton, NJ), **1887**, p.67.
- GROBBEN G (1998). The production of exopolysaccharides by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Grobбен.
- HARUTOSHI T (2013). Exopolysaccharides of Lactic Acid Bacteria for Food and Colon Health Applications, *Lactic Acid Bacteria - R & D for Food, Health and Livestock Purposes*, pp. 515–538. doi: 10.5772/50839.
- HOLS P, HANCY F, FONTAINE L, GROSSIORD B, PROZZI D, LEBLOND-BOURGET N, DECARIS B, BOLOTIN A, DELORME C, DUSKO EHRlich S, GUÉDON E (2005). New insights in the molecular biology and physiology of *Streptococcus thermophilus* revealed by comparative genomics. *FEMS microbiology reviews*, **29**(3), pp.435-463.
- HUSSAIN A, ZIA KM, TABASUM S, NOREEN A, ALI M, IQBAL R , ZUBER M (2017). Blends and composites of exopolysaccharides; properties and applications: A review. *International journal of biological macromolecules*, **94**, pp.10-27.
- ISMAIL B, NAMPOOTHIRI KM (2010). Production, purification and structural characterization of an exopolysaccharide produced by a probiotic *Lactobacillus plantarum* MTCC 9510. *Archives of microbiology*, **192**(12), pp.1049-1057.
- IYER R, TOMAR SK, MAHESWARI TU, SINGH R (2010). *Streptococcus thermophilus* strains: Multifunctional lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, **20**(3), pp.133-141.
- JAISWAL P, SHARMA R, SANODIYA BS, BISEN PS (2014). Microbial exopolysaccharides: natural modulators of dairy products. *J Appl Pharm Sci*, **4**, pp.105-109.
- JB PRAJAPAT AP (2013). Food and Health Applications of Exopolysaccharides produced by Lactic acid Bacteria, *Advances in Dairy Research*, **01**(02). doi: 10.4172/2329-

888X.1000107.

- JIANG H, FANG D, HSIAO BS, CHU B, CHEN W (2004). Optimization and characterization of dextran membranes prepared by electrospinning. *Biomacromolecules*, **5**(2), pp.326-333.
- JIN H, YANG JK, JO KI, CHUNG CH, KIM SK, NAM SW, LEE JW (2006). Mass production of heteropolysaccharide-7 (PS-7) by *Beijerinckia indica* HS-2001 with soybean pomace as a nitrogen source. *Process biochemistry*, **41**(2), pp.270-275.
- KANAMARLAPUDI SLRK, MUDDADA S (2017). Characterization of Exopolysaccharide Produced by *Streptococcus thermophilus* CC30, *BioMed Research International*, 2017, pp. 1–11. doi: 10.1155/2017/4201809.
- KUMAR AS, MODY K, JHA B (2007). Bacterial exopolysaccharides - A perception, *Journal of Basic Microbiology*, **47**(2), pp. 103–117. doi: 10.1002/jobm.200610203.
- KUMAR SINGHA T (2012). Microbial Extracellular Polymeric Substances: Production, Isolation and Applications, *IOSR Journal of Pharmacy (IOSRPHR)*, **2**(2), pp. 276–281. doi: 10.9790/3013-0220276281.
- LAWS A, GU Y, MARSHALL V (2001). Biosynthesis, characterisation, and design of bacterial exopolysaccharides from lactic acid bacteria, *Biotechnology Advances*, **19**(8), pp. 597–625. doi: 10.1016/S0734-9750(01)00084-2.
- LI D, LI J, ZHAO F, WANG G, QIN Q, HAO Y (2016). The influence of fermentation condition on production and molecular mass of EPS produced by *Streptococcus thermophilus* 05-34 in milk-based medium. *Food chemistry*, **197**, pp.367-372.
- LI W, JI J, RUI X, YU J, TANG W, CHEN X, JIANG M, DONG M (2014). Production of exopolysaccharides by *Lactobacillus helveticus* MB2-1 and its functional characteristics in vitro. *LWT-Food Science and Technology*, **59**(2), pp.732-739.
- LONDON LE, CHAURIN V, AUTY MA, FENELON MA, FITZGERALD GF, ROSS RP, STANTON C (2015). Use of *Lactobacillus mucosae* DPC 6426, an exopolysaccharide-producing strain, positively influences the techno-functional properties of yoghurt. *International Dairy Journal*, **40**, pp.33-38.
- LYNCH KM, MCSWEENEY PL, ARENDT EK, UNIACKE-LOWE T, GALLE S, COFFEY A (2014). Isolation and characterisation of exopolysaccharide-producing *Weissella* and *Lactobacillus* and their application as adjunct cultures in Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, **34**(1), pp.125-134.
- MILCI S, YAYGIN H (2005). Laktik asit bakterileri tarafından üretilen ekzopolisakkaritler ve süt ürünlerindeki fonksiyonları. *Gıda/The journal of food*, **30**(2).
- MIQUELETO, AP, DOLOSIC CC, POZZI E, FORESTI E, ZAIAT M (2010). Influence of carbon sources and C/N ratio on EPS production in anaerobic sequencing batch biofilm

- reactors for wastewater treatment. *Bioresource technology*, **101**(4), pp.1324-1330.
- MOSCOVICI M (2015). Present and future medical applications of microbial exopolysaccharides. *Frontiers in microbiology*, **6**, p.1012.
- MOTA R, PEREIRA SB, MEAZZINI M, FERNANDES R, SANTOS A, EVANS CA, DE PHILIPPIS R, WRIGHT PC, TAMAGNINI P (2015). Effects of heavy metals on *Cyanothece* sp. CCY 0110 growth, extracellular polymeric substances (EPS) production, ultrastructure and protein profiles. *Journal of proteomics*, **120**, pp.75-94.
- NWODO UU, GREEN E, OKOH AI (2012). Bacterial exopolysaccharides: Functionality and prospects, *International Journal of Molecular Sciences*, **13**(11), pp. 14002–14015. doi: 10.3390/ijms131114002.
- ONER ET, HERNÁNDEZ L, COMBIE J (2016). Review of levan polysaccharide: from a century of past experiences to future prospects. *Biotechnology advances*, **34**(5), pp.827-844.
- PATEL S, MAJUMDER A, GOYAL A (2012). Potentials of Exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria, *Indian Journal of Microbiology*, **52**(1), pp. 3–12. doi: 10.1007/s12088-011-0148-8.
- PÉANT B, LAPOINTE G, GILBERT C, ATLAN D, WARD P, ROY D (2005). Comparative analysis of the exopolysaccharide biosynthesis gene clusters from four strains of *Lactobacillus rhamnosus*. *Microbiology*, **151**(6), pp.1839-1851.
- RATTANACHAIKUNSOPON P, PHUMKHACHORN P (2010). Lactic Acid Bacteria: Their Antimicrobial Compounds and Their Uses in Food Production., *Annals of Biological Research*, **1**(4), pp. 218–228.
- RAVELLA SR, QUIÑONES TS, RETTER A, HEIERMANN M, AMON T, HOBBS PJ (2010). Extracellular polysaccharide (EPS) production by a novel strain of yeast-like fungus *Aureobasidium pullulans*. *Carbohydrate Polymers*, **82**(3), pp.728-732.
- RAZACK SA, VELAYUTHAM V, THANGAVELU V (2013). Medium optimization for the production of exopolysaccharide by *Bacillus subtilis* using synthetic sources and agro wastes, pp. 280–288. doi: 10.3906/biy-1206-50.
- REINER K, (2010). Catalase test protocol. *American Society For Microbiology, ASMMicrobeLibrary*.
- ROSALAM S, ENGLAND R (2006). Review of xanthan gum production from unmodified starches by *Xanthomonas comprestis* sp., *Enzyme and Microbial Technology*, **39**(2), pp. 197–207. doi: 10.1016/j.enzmictec.2005.10.019.
- ROSCA I, PETROVICI AR, PEPTANARIU D, NICOLESCU A, DODI G, AVADANEI M, IVANOV IC, BOSTANARU AC, MARES M, CIOLACU D (2018). Biosynthesis of dextran by *Weissella confusa* and its In vitro functional characteristics. *International*

journal of biological macromolecules, **107**, pp.1765-1772.

RUAS-MADIEDO P, HUGENHOLTZ J, ZOON P (2002). An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, **12**(2-3), pp.163-171.

RUAS-MADIEDO P, DE LOS REYES-GAVILÁN CG (2005). Invited Review: Methods for the Screening, Isolation, and Characterization of Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria, *Journal of Dairy Science*, **88**(3), pp. 843–856. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72750-8.

SANALIBABA P, ÇAKMAK GA (2016). Exopolysaccharides Production by Lactic Acid Bacteria, *Applied Microbiology: open access*, **2**(2). doi: 10.4172/2471-9315.1000115.

SCHMID J, SIEBER V, REHM B (2015). Bacterial exopolysaccharides: biosynthesis pathways and engineering strategies. *Frontiers in microbiology*, **6**, p.496.

SETTANNI L, MOSCHETTI G (2010). Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. *Food Microbiology*, **27**(6), pp. 691–697. doi: 10.1016/j.fm.2010.05.023.

SHENE C, CANQUIL N, BRAVO S , RUBILAR M (2008). Production of the exopolysaccharides by *Streptococcus thermophilus*: Effect of growth conditions on fermentation kinetics and intrinsic viscosity. *International journal of food microbiology*, **124**(3), pp.279-284.

SHIH L, YU JY, HSIEH C, WU JY (2009). Production and characterization of curdlan by *Agrobacterium sp.*, *Biochemical Engineering Journal*, **43**(1), pp.33-40.

SINGH RS, SAINI GK, KENNEDY JF (2008). Pullulan: microbial sources, production and applications. *Carbohydrate polymers*, **73**(4), pp.515-531.

SOYUCOK A, EKİZ T, BASYİĞİT KİLİC G (2016). Ekzopolisakkaritlerin Özellikleri ve Gıda Sanayindeki Önemi, *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, **5**, pp. 332–332. doi: 10.17100/nevbiltek.211029.

SRIKANTH R, REDDY CHS, SIDDARTHA G, RAMAIAH MJ, UPPULURI KB (2015). Review on production, characterization and applications of microbial levan. *Carbohydrate polymers*, **120**, pp.102-114.

STILES ME, HOLZAPFEL WH (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy, *International Journal of Food Microbiology*, **36**(1), pp. 1–29. doi: 10.1016/S0168-1605(96)01233-0.

STREDANSKY M, CONTI E (1999). Xanthan production by solid state fermentation, *Process Biochemistry*, **34**(6–7), pp. 581–587. doi: 10.1016/S0032-9592(98)00131-9.

- SUBHASH M, JADHAV A JANA S (2015). Sustainable production of microbial polysaccharide xanthan gum from supplemental substrate. *International Journal of Scientific Research*, **4**(8), pp.9-11.
- SUTHERLAND IW (1998). Novel and established applications of microbial polysaccharides, *Trends in Biotechnology*, **16**(1), pp. 41–46. doi: 10.1016/S0167-7799(97)01139-6.
- SUTHERLAND IW (2001). Microbial polysaccharides from Gram-negative bacteria, *International Dairy Journal*, **11**(9), pp. 663–674. doi: 10.1016/S0958-6946(01)00112-1.
- TIDONA F, ZAGO M, CORREDIG M, LOCCI F, CONTARINI G, GIRAFFA G, CARMINATI D (2016). Selection of *Streptococcus thermophilus* strains able to produce exopolysaccharides in milk. *International journal of dairy technology*, **69**(4), pp.569-575.
- URIOT O, DENIS S, JUNJUA M, ROUSSEL Y, DARY-MOUROT A, BLANQUET-DIOT S (2017). *Streptococcus thermophilus*: From yogurt starter to a new promising probiotic candidate? , *Journal of functional foods*, **37**, pp.74-89.
- VAN DER MEULEN R, GROSU-TUDOR S, MOZZI F, VANINGELGEM F, ZAMFIR M, DE VALDEZ GF, DE VUYST L (2007). Screening of lactic acid bacteria isolates from dairy and cereal products for exopolysaccharide production and genes involved. *International journal of food microbiology*, **118**(3), pp.250-258.
- VENDRUSCOLO F, ALBUQUERQUE PM, STREIT F, ESPOSITO E, NINOW JL (2008). Apple pomace: a versatile substrate for biotechnological applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, **28**(1), pp.1-12.
- VU B, CHEN M, CRAWFORD R, IVANOVA E, (2009). Bacterial extracellular polysaccharides involved in biofilm formation, *Molecules*, **14**(7), pp.2535-2554.
- WANG K, LI W, RUI X, CHEN X, JIANG M, DONG M (2014). Structural characterization and bioactivity of released exopolysaccharides from *Lactobacillus plantarum* 70810. *International journal of biological macromolecules*, **67**, pp.71-78.
- WELMAN AD, MADDOX IS (2003). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Perspectives and challenges, *Trends in Biotechnology*, **21**(6), pp. 269–274. doi: 10.1016/S0167-7799(03)00107-0.
- YALCINKAYA MY, BAYTOK E, YORUK MA (2012). Değişik Meyve Posası Silajlarının Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, **9**(2), pp.95-106.
- YANG Z (2000). Antimicrobial compounds and extracellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria: their structures and properties.

- YILDIZ H, KARATAS N (2018). Microbial exopolysaccharides: Resources and bioactive properties. *Process Biochemistry*.
- YILMAZ MT, DERTLI E, TOKER OS, TATLISU NB, SAGDIC O, ARICI M (2015). Effect of in situ exopolysaccharide production on physicochemical, rheological, sensory, and microstructural properties of the yogurt drink ayran: an optimization study based on fermentation kinetics. *Journal of dairy science*, **98**(3), pp.1604-1624.
- YUKSEKDAG ZN, ASLIM B (2008). Influence of different carbon sources on exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (B3, G12) and *Streptococcus thermophilus* (W22). *Brazilian archives of Biology and Technology*, **51**(3), pp.581-585.
- ZANNINI E, WATERS DM, COFFEY A, ARENDT EK (2016). Production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides. *Applied microbiology and biotechnology*, **100**(3), pp.1121-1135.
- ZEIDAN AA, POULSEN VK, JANZEN T, BULDO P, DERKX PM, ØREGAARD G, NEVES AR (2017). Polysaccharide production by lactic acid bacteria: from genes to industrial applications. *FEMS microbiology reviews*, **41**(Supp_1), pp.S168-S200.
- ZHANG H, REN W, GUO Q, XIONG Z, WANG G, XIA Y, LAI P, YIN B, AI L (2018). Characterization of a yogurt-quality improving exopolysaccharide from *Streptococcus thermophilus* AR333. *Food hydrocolloids*, **81**, pp.220-228.
- ZHANG T, ZHANG C, LI S, ZHANG Y, YANG Z (2011). Growth and exopolysaccharide production by *Streptococcus thermophilus* ST1 in skim milk. *Brazilian Journal of Microbiology*, **42**(4), pp.1470-1478.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı : Demet
Soyadı : Genç Karadeniz
Doğum yeri ve Tarihi : Kıbrıs -1991
Uyruğu : K.K.T.C
Medeni Durumu : Evli
İletişim Adresi ve Telefonu : Emniyet Mahallesi, Güneş apt 14 /8
Aydınlıkevler / Altındağ/ ANKARA
Tel: 0553 683 17 48
E-mail : demetgenc08@windowslive.com

II- Eğitimi

Yüksek Lisans :Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 2016-
Lisans :Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji
Bölümü 2009-2013
Lise : Yakın Doğu Koleji 2005-2009
Yabancı Dil : İngilizce

III- Mesleki Deneyimi

2013-2016 Yakın Doğu Koleji - Biyoloji Öğretmeni

IV- Bilimsel Etkinlikler

15.12.2017 Ekzopolisakkaritler