



**FARKLI TAHILLAR İLE ÜRETİLMİŞ BOZALARDAN  
İZOLE EDİLEN POTANSİYEL PSİKOBİYOTİK  
MİKROORGANİZMALARIN KARAKTERİZASYONU**

**Gamze DÜVEN**



T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI TAHILLAR İLE ÜRETİLMİŞ BOZALARDAN İZOLE EDİLEN  
POTANSİYEL PSİKOBİYOTİK MİKROORGANİZMALARIN  
KARAKTERİZASYONU**

Gamze DÜVEN  
0000-0001-7418-5384

Prof. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY  
(Danışman)

Doç. Dr. Aycan YİĞİT ÇINAR  
(2.Danışman)

DOKTORA TEZİ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

BURSA – 2024  
Her Hakkı Saklıdır

## ÖZET

Doktora Tezi

### FARKLI TAHILLAR İLE ÜRETİLMİŞ BOZALARDAN İZOLE EDİLEN POTANSİYEL PSİKOBİYOTİK MİKROORGANİZMALARIN KARAKTERİZASYONU

**Gamze DÜVEN**

Bursa Uludağ Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

**Danışman:** Prof. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY

**İkinci Danışman:** Doç. Dr. Aycan YİĞİT ÇINAR (Bursa Teknik Üniversitesi)

Bu doktora tez çalışmasında; chia ve kinoanın boza üretiminde kullanılabilme potansiyeli araştırılmış, farklı ham maddelerin (kinoa, chia, darı, mısır) kullanılmasıyla üretilen bozalardan potansiyel psikobiyotik laktik asit bakterisi (LAB) ve mayaların izole ve karakterize edilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla üretilen boza örneklerinin duyusal, mikrobiyolojik (toplam aerobik mezofilik canlı bakteri, toplam maya, fekal koliform bakteri ve LAB sayısı), fiziksel ve kimyasal özellikleri (pH, titrasyon asitliği, kuru madde miktarı, su aktivitesi, gluten içeriği, ekzopolisakkarit [EPS] miktarı, Briks, renk özellikleri, viskozitesi, gamma amino bütirik asit [GABA] içeriği) belirlenmiştir. Tez kapsamında üretilen bozaların GABA miktarının geleneksel bozada  $26,34 \pm 0,99$  ppm, chialıda  $31,41 \pm 1,83$  ppm, kinoalıda  $32,20 \pm 1,95$  ppm ve chia ve kinoalıda ise  $31,04 \pm 0,56$  ppm olduğu bulunmuştur. Ayrıca, boza örneklerinden toplam 309 adet izolat elde edilmiş, bunların 234 tanesi Gram pozitif ve katalaz negatif bulunarak gliserol stoğa alınmıştır. Bunlardan 137 tanesinin GABA üreticisi olduğu belirlenmiştir. Bu isolatların probiyotik özellikleri (antimikrobiyal aktivite, antibiyotik direnci, *in vitro* sindirim modelindeki davranışı, düşük pH ve safra tuzuna karşı direnci) de değerlendirilmiştir. Bu amaçla, isolatların çeşitli test bakterilerine karşı antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiş ve 17 tanesinin aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu isolatlardan 4 tanesinin çeşitli antibiyotiklere karşı istenilen antibiyotik duyarlılıklarına sahip olduğu tespit edilmiş ve 2 tanesinin *in vitro* sindirim sistemi modelinde canlı kaldığı ve düşük pH ve %0,3 safra tuzuna karşı direnç gösterdiği belirlenmiştir. Chialı (24C-9MR kodlu izolat) ve kinoalı (24Ki-3MR kodlu izolat) boza örneklerinden izole edilen bu iki izolatin 16S rRNA dizi analizi tanımlanması sonucu ikisinin de *Pediococcus acidilactici* türüne ait olduğu ve pH indikatör methodu (PIM) yönteminden elde edilen süpernatantlarının GABA içeriklerinin sırasıyla  $119,01 \pm 12,86$  ppm ve  $206,69 \pm 10,03$  ppm miktarında olduğu bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Boza, GABA, psikobiyotik, kinoa, chia  
2024, xix + 143 sayfa.

## ABSTRACT

PhD Thesis

### CHARACTERIZATION OF POTENTIAL PSYCHOBOTIC MICROORGANISMS ISOLATED FROM BOZA PRODUCED BY DIFFERENT CEREALS

**Gamze DÜVEN**

Bursa Uludag University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

**Supervisor:** Prof Dr Sine ÖZMEN TOĞAY

**Second Supervisor:** Assoc. Prof Dr Aycan YİĞİT ÇINAR (Bursa Technical  
University)

In this doctoral thesis, the potential of using chia and quinoa in boza production was investigated and the aim of the study is isolation and characterization of potential psychobiotic LAB and yeasts from boza obtained with different raw materials (quinoa, chia, millet, corn). For this purpose, sensory, microbiological (total aerobic mesophilic bacteria, total yeast, fecal coliform bacteria and LAB count), physical and chemical properties (pH and titratable acidity, water activity dry matter, gluten, EPS and GABA content, Brix, colour, viscosity) of boza samples. The GABA amount of bozas were found  $26.34 \pm 0.99$  ppm in traditional boza,  $31.41 \pm 1.83$  ppm in chia boza,  $32.20 \pm 1.95$  ppm in quinoa boza and  $31.04 \pm 0.56$  ppm in chia and quinoa boza. In addition, 309 isolates were obtained, 234 of which were found to be Gram positive and catalase negative, 137 of the isolates obtained were GABA producers. The probiotic properties of these isolates (antimicrobial activity, antibiotic resistance, survival in *in vitro* digestion model, low pH and bile salt tolerance) were also evaluated. For this purpose, 17 isolates showed the antimicrobial activities against various test bacteria. It was determined that 4 of these isolates had the desired antibiotic resistance against various antibiotics and 2 of them survived in the *in vitro* digestive system model and showed resistance to low pH and 0.3% bile salt. These two isolates isolated from boza samples with chia (24C-9MR) and quinoa (24Ki-3MR) were found to be *Pediococcus acidilactici* via 16S rRNA identification and the GABA contents of their supernatants obtained from the PIM method were determined to be  $119.01 \pm 12.86$  ppm and  $206.69 \pm 10.03$  ppm, respectively.

**Key words:** Boza, GABA, psychobiotic, quinoa, chia  
**2024, xix + 143 pages.**

## TEŞEKKÜR

Doktora çalışmamın her aşamasında yakın ilgi ve değerli yardımlarını gördüğüm, bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen değerli danışman hocalarım Sayın Prof. Dr. Sine Özmen Toğay'a ve Doç. Dr. Aycan Yiğit Çınar'a en içten dileklerle teşekkürlerimi sunarım.

Doktora çalışmalarım ve analizlerim boyunca desteğini, bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen ve daima yol gösteren değerli hocalarım Prof. Dr. Yasemin ŞAHAN'a, Dr. Öğr. Üyesi Ufuk Bağcı'ya, Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Ay'a ve her zaman desteğini hissettiğim yüksek lisans danışmanı hocam Prof. Dr. Duygu Kışla'ya, fikirleri ve yol gösterici yorumlarıyla doktora tez çalışmamda büyük katkısı olan, çok erken kaybettiğimiz eski jüri üyesi hocam Prof. Dr. Nurcan Değirmencioğlu'na ve bugünlere gelmeme vesile olan tüm hocalarıma teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Bu doktora tez çalışması, 124O180 numaralı "Farklı Ham Maddeler Kullanılarak Üretilen Bozalarda GABA (Gamma Amino Bütirik Asit) Üreticisi Potansiyel Psikobiyotik Suşların Araştırılması" konulu proje kapsamında TÜBİTAK 2515 AB COST Projeleri Destek Programıyla desteklenmiştir. Bu tez çalışmasının gerçekleştirilmesinde gerekli maddi desteği sağladığı için TÜBİTAK'a, desteğin kazanılmasındaki manevi destekleri için Bursa Uludağ Üniversitesi Rektörlüğü'ne ve Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Tez çalışmam için verdikleri değerli maddi ve manevi desteklerden dolayı Ömür Boza Fabrika Müdürü Atakan Kuşku ve Samet Kuşku'ya, boza üretimi süresince gösterdiği özveri, bilgi ve tecrübeleri ve değerli dostluğu için Üretim Müdürü Burçin Bulurman'a ve değerli yardımları için Gıda Teknisyeni Ebru Çelik'e ve Ömür Boza (Bozacılar Gıda Tekstil Tic. Ltd. Şti., Bursa) ailesinin her bir üyesine çok teşekkür ederim.

Doktora eğitimim süresince bilgi, tecrübe ve dostluklarıyla yanımda olan dostlarım Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü'nden "Friend's" üyelerine, Dr. Ilgın Kımız Geboloğlu'na, Dr. Pelin Metiner'e ve Dr. Remzi Cholakov'a, Meral Tekin Atay, Fethi Atay ve Çardak-Yenifoça ekibine ve hayatımdaki yeri her zaman bambaşka olacak olan, eğitimim boyunca bana gösterdiği sevgisi, özverisi ve fedakarlıkları ile sevgili Kenan Solak'a ve değerli ailesine çok teşekkür ederim.

Hayatımın ve tezimin her aşamasında maddi ve manevi olarak verdiği destek ve hoşgörüyü hissettiğim, tez çalışmalarım boyunca benimle laboratuvara gelen, büyük fedakarlıklar gösteren ve bu günlerimi borçlu olduğum değerli annem Neveda Neslihan Düven'e, bugünlere gelmemde uzaklardaki manevi gücüm 9 yaşında kaybettiğim babam Mehmet Yıldırım Düven'e ve ailemin her bir üyesine, bir kadın olarak bu günlere gelmeme vesile olan Ulu Önderimiz Gazi Mustafa Kemal Atatürk'e minnet ve vefalarını sunarım.

Gamze DÜVEN  
06/09/2024

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                                                       | Sayfa |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| ÖZET.....                                                                                                             | viii  |
| ABSTRACT.....                                                                                                         | ix    |
| TEŞEKKÜR.....                                                                                                         | x     |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....                                                                                  | xiii  |
| 1. GİRİŞ .....                                                                                                        | 1     |
| 2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI.....                                                                       | 4     |
| 2.1. Akdarı ( <i>Panicum miliaceum</i> L.).....                                                                       | 4     |
| 2.2. Mısır ( <i>Zea mays</i> L.).....                                                                                 | 5     |
| 2.3. Chia ( <i>Salvia hispanica</i> L.).....                                                                          | 6     |
| 2.4. Kinoa ( <i>Chenopodium quinoa</i> Wild).....                                                                     | 8     |
| 2.5. Boza.....                                                                                                        | 10    |
| 2.6. Psikobiyotik Mikroorganizmalar .....                                                                             | 15    |
| 2.7. Gamma Amino Bütirik Asit (GABA).....                                                                             | 19    |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM .....                                                                                           | 28    |
| 3.1. Farklı Ham Maddeler ile Boza Üretimi .....                                                                       | 28    |
| 3.2. Duyusal Analizler.....                                                                                           | 31    |
| 3.3. Mikrobiyolojik Analizler .....                                                                                   | 32    |
| 3.3.1. Toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayımı .....                                                            | 33    |
| 3.3.2. Toplam maya sayımı.....                                                                                        | 33    |
| 3.3.3. Toplam fekal koliform bakteri sayımı.....                                                                      | 33    |
| 3.3.4. Laktik asit bakterisi sayımı .....                                                                             | 33    |
| 3.4. Fiziksel ve Kimyasal Analizler .....                                                                             | 34    |
| 3.4.1. pH ölçümü ve titrasyon asitliği tayini .....                                                                   | 34    |
| 3.4.2. Kuru madde, su aktivitesi, gluten, EPS tayinleri ve Briks ölçümü.....                                          | 35    |
| 3.4.3. Renk tayini ve viskozite ölçümü.....                                                                           | 36    |
| 3.4.4. Farklı ham maddeler ile üretilen boza örneklerinin HPLC ile GABA miktarının belirlenmesi .....                 | 36    |
| 3.5. Boza Örneklerinden LAB ve Maya İzolasyonu .....                                                                  | 37    |
| 3.6. Boza Örneklerinden İzole Edilen LAB ve Mayaların PIM Yöntemi ile GABA Üretim Potansiyellerinin Belirlenmesi..... | 39    |
| 3.7. Boza Örneklerinden İzole Edilen GABA Üreticisi İzolatların Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi .....          | 40    |
| 3.7.1. İzolatların antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi .....                                                    | 40    |
| 3.7.2. İzolatların antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi.....                                                        | 42    |
| 3.7.3. İzolatların <i>in vitro</i> sindirim modelindeki davranışının belirlenmesi.....                                | 42    |
| 3.7.4. İzolatların safra tuzu ve düşük pH direncinin belirlenmesi .....                                               | 43    |
| 3.8. Boza Örneklerinden İzole Edilen GABA Üreticisi ve Probiyotik Potansiyeli Olan İzolatların Tanımlanması.....      | 44    |
| 3.9. İstatistiksel Analizler.....                                                                                     | 45    |
| 4. BULGULAR ve TARTIŞMA .....                                                                                         | 46    |
| 4.1. Duyusal Analiz Sonuçları .....                                                                                   | 46    |

|        |                                                                                                                   |     |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.2.   | Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları .....                                                                             | 51  |
| 4.2.1. | Toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayımı .....                                                               | 51  |
| 4.2.2. | Toplam maya sayımı .....                                                                                          | 53  |
| 4.2.3. | Toplam fekal koliform bakteri sayısı .....                                                                        | 56  |
| 4.2.4. | Laktik asit bakterisi sayımı .....                                                                                | 58  |
| 4.3.   | Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları .....                                                                       | 65  |
| 4.3.1. | pH ve Titrasyon asitliği sonuçları .....                                                                          | 65  |
| 4.3.2. | Kuru madde, su aktivitesi, gluten, EPS tayini ve Briks ölçümü sonuçları .....                                     | 69  |
| 4.3.3. | Renk tayini ve viskozite ölçümü sonuçları .....                                                                   | 74  |
| 4.3.4. | Farklı ham maddeler ile üretilen boza örneklerinin GABA miktarları ...                                            | 78  |
| 4.4.   | Boza Örneklerinden LAB ve Maya İzolasyonu .....                                                                   | 80  |
| 4.5.   | Boza Örneklerinden İzole Edilen LAB ve Mayaların PIM Yöntemi ile GABA Üretim Potansiyellerinin Belirlenmesi ..... | 87  |
| 4.6.   | Boza örneklerinden İzole Edilen GABA Üreticisi İzolatların Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi .....           | 89  |
| 4.6.1. | İzolatların antimikrobiyal aktiviteleri .....                                                                     | 89  |
| 4.6.2. | İzolatların antibiyotik dirençleri .....                                                                          | 99  |
| 4.6.3. | İzolatların <i>in vitro</i> sindirim modelindeki davranışları .....                                               | 104 |
| 4.6.4. | İzolatların safra tuzu ve düşük pH direncinin belirlenmesi .....                                                  | 106 |
| 4.7.   | Boza Örneklerinden İzole Edilen GABA Üreticisi ve Probiyotik Potansiyeli Olan İzolatların Tanımlanması .....      | 109 |
| 5.     | SONUÇ .....                                                                                                       | 113 |
|        | KAYNAKLAR .....                                                                                                   | 115 |
|        | ÖZGEÇMİŞ .....                                                                                                    | 142 |

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

| Simgeler                      | Açıklama                                    |
|-------------------------------|---------------------------------------------|
| a/h                           | Ağırlık/hacim                               |
| a*                            | Kırmızı-yeşil eksen                         |
| a <sub>w</sub>                | Su aktivitesi                               |
| bp                            | Baz çifti                                   |
| b*                            | Sarı-mavi eksen                             |
| C                             | Chia katkılı boza                           |
| CKi                           | Chia ve kinoa katkılı boza                  |
| cm                            | Santimetre                                  |
| CO <sub>2</sub>               | Karbondiyoksit                              |
| cP                            | Centipoise (1kg/ms)                         |
| C-3                           | Karbon-3                                    |
| d                             | g/mL cinsinden örneğin yoğunluğu            |
| dH <sub>2</sub> O             | Distile su                                  |
| dk                            | Dakika                                      |
| dNTP                          | Deoksiribonükleotid                         |
| F                             | 0,1N NaOH çözeltisinin faktörü (1,048)      |
| g                             | Gram                                        |
| g                             | G kuvveti                                   |
| HCl                           | Hidroklorik asit                            |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | Hidrojen peroksit                           |
| h/h                           | Hacim/hacim                                 |
| H <sub>2</sub> N              | Amin                                        |
| I                             | Nötr                                        |
| K                             | Geleneksel boza/kontrol örneği              |
| kg                            | Kilogram                                    |
| Ki                            | Kinoa katkılı boza                          |
| %KM                           | Yüzde kuru madde                            |
| kob                           | Koloni oluşturan birim                      |
| L                             | Litre                                       |
| Log                           | Logaritma 10 tabanında                      |
| L*                            | Aydınlık eksen                              |
| M                             | Molar                                       |
| m                             | Mililitre cinsinden tüketilen örnek miktarı |
| mA                            | Miliamper                                   |
| mg                            | Miligram                                    |
| MgCl <sub>2</sub>             | Magnezyum klorür                            |
| mL                            | Mililitre                                   |
| mm                            | Milimetre                                   |
| mM                            | Milimolar                                   |
| mmol                          | Milimol                                     |
| N                             | Normalite                                   |
| NaCl                          | Sodyum klorür                               |
| NaOH                          | Sodyum hidroksit                            |

| Simgeler   | Açıklama                                             |
|------------|------------------------------------------------------|
| nm         | Nanometre                                            |
| nmol       | Nanomol                                              |
| O          | Oksijen                                              |
| OH         | Hidroksil                                            |
| O/R        | Oksidasyon redüksiyon potansiyeli                    |
| P          | Olasılık, probability                                |
| ppm        | Parts per million (milyonda bir)                     |
| pH         | Hidrojen iyonu konsantrasyonunun negatif logaritması |
| R          | Dirençli                                             |
| rpm        | Revolutions per minute                               |
| S          | Duyarlı                                              |
| sa         | Saat                                                 |
| V          | Volt                                                 |
| °C         | Santigrat                                            |
| $\alpha$   | Alfa                                                 |
| $\Delta E$ | Delta E, renk farkı                                  |
| $\omega$   | Omega                                                |
| v          | Mililitre cinsinden tüketilen 0,1 N NaOH miktarı     |
| $\mu g$    | Mikrogram                                            |
| $\mu L$    | Mikrolitre                                           |
| $\mu m$    | Mikrometre                                           |
| %          | Yüzde                                                |

| <b>Kısaltmalar</b> | <b>Açıklama</b>                                             |
|--------------------|-------------------------------------------------------------|
| AD                 | Antibiyotik direnci                                         |
| ANOVA              | Varyans analizi                                             |
| ATCC               | American Type Culture Collection                            |
| B                  | Bağırsak sindirimi sonrası                                  |
| BHI                | Brain Heart Infusion Broth                                  |
| BLAST              | Basic Local Alignment Search Tool                           |
| BUÜ                | Bursa Uludağ Üniversitesi                                   |
| BTÜ                | Bursa Teknik Üniversitesi                                   |
| C-30               | Kloramfenikol                                               |
| CLSI               | Clinical and Laboratory Standards Institute                 |
| CN-10              | Gentamisin                                                  |
| CRISPR-Cas         | Clustered Regularly Interspaced Palindromic Repeats sistemi |
| DAD                | Diode array dedektör                                        |
| DNA                | Deoksiribonükleik asit                                      |
| DRBCA              | Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar                  |
| E-10               | Eritromisin                                                 |
| EFSA               | Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu                                |
| ELISA              | enzyme linked immunosorbent assay                           |
| EPS                | Ekzopolisakkarit                                            |
| FDA                | Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi                               |
| FLD                | Floresans dedektör                                          |
| GABA               | Gamma amino bütirik asit                                    |
| GAD                | Glutamat dekarboksilaz                                      |
| GRAS               | Generally recognized as safe                                |
| HPA                | Hipotalamik hipofiz adrenal                                 |
| HPLC               | Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi                         |
| I                  | Intermediate, orta derecede duyarlı/dirençli                |
| IS                 | Internal standart                                           |
| KAA                | Kanamisin Esculin Azide Agar                                |
| KM                 | Kimchi                                                      |
| LAB                | Laktik asit bakterisi                                       |
| LDL                | Düşük yoğunluklu lipoprotein                                |
| L-Glu              | L-glutamik asit                                             |
| LT                 | Lahana turşusu                                              |
| M17A               | M17 agar                                                    |
| M17B               | M17 broth                                                   |
| MEB                | Malt Extract Broth                                          |
| MHI                | Muller Hilton Agar                                          |
| MO                 | Mide sindirimi öncesi                                       |
| MRSA               | De Man Rogosa Sharpe Agar                                   |
| MRSB               | De Man Rogosa Sharpe Broth                                  |
| MS                 | Mide sindirimi sonrası                                      |
| MSG                | Monosodyum glutamat                                         |
| MSS                | Merkezi sinir sistemi                                       |
| NA                 | Nutrient Agar                                               |
| NB                 | Nutrient Broth                                              |

| Kısaltmalar | Açıklama                                                        |
|-------------|-----------------------------------------------------------------|
| NCBI        | National Center of Biotechnology Information                    |
| OPA         | O-fitalaldehid                                                  |
| P           | Pelet                                                           |
| PCA         | Plate Count Agar                                                |
| PIM         | pH indikatör methodu                                            |
| PLP         | Piridoksal-5'-fosfataz                                          |
| PW          | Peptonlu su                                                     |
| PZR         | Polimeraz zincir reaksiyonu                                     |
| R           | Resistance, dirençli                                            |
| RAPD-PZR    | Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA polimeraz zincir reaksiyonu |
| rRNA        | Ribozomal ribonükleik asit                                      |
| S           | Sensitive, duyarlı                                              |
| SK          | Sauerkraut                                                      |
| S-10        | Streptomisin                                                    |
| TAE         | Tris, asetik asit, etilendiamintetraasetik asit                 |
| TAMB        | Toplam aerobik mezofilik canlı bakteri                          |
| TCA         | Trikloroasetik asit                                             |
| TE          | Tespit edilemedi                                                |
| TE-30       | Tetrasiklin                                                     |
| TFKB        | Toplam fekal koliform bakteri                                   |
| TM          | Toplam maya                                                     |
| TS          | Türk Standartları                                               |
| UV          | Ultraviyole                                                     |
| VA-30       | Vankomisin                                                      |
| VRBA        | Violet Red Bile Agar                                            |
| YGCA        | Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar                      |
| 2-MCE       | 2-merkaptetanol                                                 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                        | Sayfa |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 2.1. Maya kullanarak (back sloping) fermantasyon ile boza üretimi akış şeması                                                    | 11    |
| Şekil 2.2. GABA'nın moleküler yapısı                                                                                                   | 20    |
| Şekil 2.3. GABA üretim mekanizması                                                                                                     | 21    |
| Şekil 3.1. Boza üretiminde kullanılan ham maddeler                                                                                     | 28    |
| Şekil 3.2. Boza üretim aşamaları                                                                                                       | 30    |
| Şekil 3.3. Boza üretim akış şeması                                                                                                     | 30    |
| Şekil 3.4. Duyusal analiz formu örneği                                                                                                 | 32    |
| Şekil 4.1. Boza örneklerinin 36. saat duyusal analiz sonucunun örümcek ağı grafiğinde gösterimi                                        | 47    |
| Şekil 4.2. Farklı ham maddeler kullanılarak üretilen boza örnekleri                                                                    | 48    |
| Şekil 4.3. Boza örneklerinin soğuk depolama (+4°C) 6.gün duyusal analiz sonuçlarının örümcek ağı grafiğinde gösterimi                  | 50    |
| Şekil 4.4. Boza örneklerinin fermantasyon ve soğuk depolama (+4°C) boyunca TAMB sayısı değişimi                                        | 52    |
| Şekil 4.5. Boza örnekleri fermantasyon ve soğuk depolama (+4°C) boyunca TM sayısındaki değişim                                         | 55    |
| Şekil 4.6. Boza örneklerinin fermantasyon ve soğuk depolama (+4°C) boyunca <i>Lactobacillus</i> spp. sayısındaki (MRSA) değişim        | 59    |
| Şekil 4.7. Boza örneklerinin fermantasyon ve soğuk depolama (+4°C) boyunca <i>Lactococcus</i> spp. sayısındaki (M17A) değişim          | 61    |
| Şekil 4.8. Boza örneklerinin fermantasyon ve soğuk depolama (+4°C) boyunca <i>Enterococcus</i> spp. sayısındaki (KAA) değişim          | 64    |
| Şekil 4.9. Boza örneklerinin fermantasyon ve soğuk depolama (+4°C) boyunca pH değişimi                                                 | 66    |
| Şekil 4.10. Boza örneklerinin fermantasyon ve soğuk depolama (+4°C) boyunca titrasyon asitliğindeki değişim                            | 67    |
| Şekil 4.11. Boza örneklerinin fermantasyon ve soğuk depolama (+4°C) boyunca viskozite değerlerindeki değişim                           | 76    |
| Şekil 4.12. GABA standardı (5ppm) HPLC sonucu ve kinoa katkılı boza örneği GABA analizi HPLC kromatogramı                              | 79    |
| Şekil 4.13. Boza örneklerinden izole edilen LAB ve mayaların ışık mikroskobu görüntüleri                                               | 85    |
| Şekil 4.14. Boza örneklerinden izole edilen LAB ve mayaların PIM ile GABA üretim potansiyellerinin belirlenmesi                        | 87    |
| Şekil 4.15. LAB ve maya izolatlarından bazılarının agar damlatma yöntemine göre antimikrobiyal aktivite tayini görüntüleri             | 96    |
| Şekil 4.16. Boza örneklerinden izole edilen bazı LAB izolatlarının agar difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivite tayini görüntüsü  | 98    |
| Şekil 4.17. Boza örneklerinden izole edilen bazı LAB izolatlarının antibiyotik direnç analizi görüntüsü                                | 101   |
| Şekil 4.18. Boza örneklerinden izole edilen probiyotik özelliğe sahip ve GABA üreticisi izolatlara ait PZR jel elektroforezi görüntüsü | 109   |
| Şekil 4.19. İzolatlara ait filogenetik ağaç dendogramı                                                                                 | 111   |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|                                                                                                                                         | Sayfa |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Çizelge 2.1. Boza fermentasyonunda rol alan bazı bakteri türleri                                                                        | 12    |
| Çizelge 2.2. Boza fermentasyonunda rol alan bazı maya türleri                                                                           | 13    |
| Çizelge 2.3. Psikobiyotik bakterilerin üretmiş oldukları metabolitler ve sağlık etkileri                                                | 17    |
| Çizelge 2.4. Fermente gıdalar ve içerdiği mikroorganizmaların potansiyel psikobiyotik etkisi ile ilgili çalışmalar                      | 18    |
| Çizelge 2.5. Gıdalardan izole edilen LAB'nin GABA üretim potansiyeli                                                                    | 22    |
| Çizelge 2.6. Gıdalardan izole edilen mayaların GABA üretim potansiyeli                                                                  | 24    |
| Çizelge 3.1. Boza örneklerinin ham madde oranları                                                                                       | 29    |
| Çizelge 3.2. Boza örneklerinden elde edilen toplam izolat sayıları, geliştirildikleri sıvı ve katı besiyerleri ve inkübasyon koşulları. | 38    |
| Çizelge 3.3. Antibiyotik direnç analizinde kullanılan antibiyotikler ve konsantrasyonları                                               | 42    |
| Çizelge 4.1. Boza örneklerinin 36. saat duyuşal analiz sonuçları                                                                        | 46    |
| Çizelge 4.2. Boza örneklerinin soğuk depolama (+4°C) 6.gün duyuşal analiz sonuçları                                                     | 49    |
| Çizelge 4.3. Boza örneklerinin toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayım sonuçları                                                   | 51    |
| Çizelge 4.4. Boza örneklerinin toplam maya sayım sonuçları                                                                              | 54    |
| Çizelge 4.5. Boza örneklerinin toplam fekal koliform bakteri sayım sonuçları                                                            | 57    |
| Çizelge 4.6. TS 9778'e göre bozanın mikrobiyolojik özellikleri                                                                          | 57    |
| Çizelge 4.7. Boza örneklerinin <i>Lactobacillus</i> spp. sayımı sonuçları                                                               | 58    |
| Çizelge 4.8. Boza örneklerinin <i>Lactococcus</i> spp. sayımı sonuçları                                                                 | 60    |
| Çizelge 4.9. Boza örneklerinin <i>Enterococcus</i> spp. sayımı sonuçları                                                                | 62    |
| Çizelge 4.10. Boza örneklerinin fermentasyon ve soğuk depolama (+4°C) sırasındaki pH değişimi                                           | 65    |
| Çizelge 4.11. Boza örneklerinin fermentasyon ve soğuk depolama (+4°C) sırasındaki titrasyon asitliğindeki değişim                       | 66    |
| Çizelge 4.12. Boza örneklerinin kuru madde, su aktivitesi, EPS analizi sonuçları                                                        | 69    |
| Çizelge 4.13. Boza örneklerinin fermentasyon ve soğuk depolama (+4°C) boyunca Briks değerlerindeki değişim                              | 72    |
| Çizelge 4.14. Boza örneklerinin renk tayini sonuçları                                                                                   | 74    |
| Çizelge 4.15. Boza örneklerinin viskozite ölçümü sonuçları                                                                              | 75    |
| Çizelge 4.16. Boza örneklerinin HPLC ile GABA miktarı tayini sonuçları                                                                  | 78    |
| Çizelge 4.17. Farklı boza örneklerinden izole edilerek stoğa alınan LAB ve maya izolat sayıları                                         | 80    |
| Çizelge 4.18. Gliserol stoğa alınan LAB ve maya izolatlarının izole edildikleri besiyerleri ve inkübasyon koşulları                     | 81    |

|                                                                                                                                                                          | <b>Sayfa</b> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Çizelge 4.19. Geleneksel boza (K) örneğinden izole edilen LAB izolatlarının Gram boyama ve katalaz testi sonuçları ile mikroskopik morfolojileri                         | 82           |
| Çizelge 4.20. Chialı boza (C) örneğinden izole edilen LAB izolatlarının Gram boyama ve katalaz testi sonuçları ile mikroskopik morfolojileri                             | 83           |
| Çizelge 4.21. Kinoalı boza (Ki) örneğinden izole edilen LAB izolatlarının Gram boyama ve katalaz testi sonuçları ile mikroskopik morfolojileri                           | 83           |
| Çizelge 4.22. Chia ve kinoalı boza (CKi) örneğinden izole edilen LAB izolatlarının Gram boyama ve katalaz testi sonuçları ile mikroskopik morfolojileri                  | 84           |
| Çizelge 4.23. Farklı boza örneklerinden izole edilen maya izolatlarının kodları                                                                                          | 86           |
| Çizelge 4.24. Farklı boza örneklerinden elde edilen GABA üretim potansiyeli pozitif bulunan LAB ve maya izolat sayıları                                                  | 88           |
| Çizelge 4.25. Geleneksel boza (K) örneğinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının agar damlatma testi yöntemine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları          | 90           |
| Çizelge 4.25. Geleneksel boza (K) örneğinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının agar damlatma testi yöntemine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları (devamı) | 91           |
| Çizelge 4.26. Chialı boza (C) örneğinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının agar damlatma testi yöntemine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları              | 92           |
| Çizelge 4.27. Kinoalı boza (Ki) örneğinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının agar damlatma testi yöntemine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları            | 93           |
| Çizelge 4.28. Chia ve kinoalı boza (CKi) örneğinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının agar damlatma testi yöntemine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları   | 94           |
| Çizelge 4.29. Boza örneklerinden izole edilen GABA üreticisi maya izolatlarının agar damlatma yöntemine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları                           | 95           |
| Çizelge 4.30. Boza örneklerinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının agar difüzyon yöntemine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları                            | 97           |
| Çizelge 4.31. Boza örneklerinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının antibiyotik direnç analizi sonuçları                                                      | 100          |
| Çizelge 4.32. Boza örneklerinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının <i>in vitro</i> sindirim modelindeki davranışı                                            | 105          |
| Çizelge 4.33. Boza örneklerinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının düşük pH ve %0,3 safra tuzu konsantrasyonuna dirençleri                                   | 107          |
| Çizelge 4.34. Boza örneklerinden izole edilen GABA üreticisi ve probiyotik olduğu belirlenen LAB izolatlarının NCBI BLAST sonucu ve GABA üretim miktarları               | 110          |

## 1. GİRİŞ

İnsanların yaşam tarzları ve beslenme alışkanlıkları tüm dünyada gün geçtikçe değişmekte, fonksiyonel beslenme ve sağlıklı yaşam konuları önem kazanmaktadır (Oleskin ve Shenderov, 2019; Oroojzadeh vd., 2022). Özellikle büyük kentlerde yaşam ve çalışma koşullarının zorlayıcı olması, hayatın hızlı akışı ve ekonomik zorluklar insanlarda ağır strese neden olabilmektedir. Bu durum bireylerde ani duygu durum değişimlerine, kuvvetli yalnızlık hissine, depresyona ve anksiyeteye sebep olmakta ve bireylerin diğer birçok fiziksel ve ruhsal sağlığı olumsuz etkileyebilecek durumlarla karşılaşma oranını yükseltmektedir (Giri ve Sharma, 2022; Wall vd., 2014). Tüm bu olumsuz etmenlerin (stres, zorlayıcı çalışma ve yaşam koşulları vb.) insan bağırsak mikrobiyotasını olumsuz etkilediği ve bunun bir sonucu olarak da bireylerdeki nöropsikiyatrik ve davranışsal bozuklukların arttığı yapılan çalışmalarla gösterilmektedir (Pepoyan vd., 2021; Sarkar vd., 2016; Tette vd., 2022).

Probiyotik mikroorganizmaların insanlarda bağırsak mikrobiyotasının yenilenmesi ve güçlendirilmesi üzerine pozitif etkileri bulunmaktadır. Bu etkileri sayesinde bireylerde oluşan psikiyatrik ve davranışsal bozukluklar üzerine önleyici ve düzeltici etkilerinin de olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmektedir (Del Toro-Barbosa vd., 2020; Giri ve Sharma, 2022; Otaru vd., 2021). Nöropsikiyatrik bozukluklar üzerine çeşitli olumlu etkisi bulunan probiyotiklere psikobiyotik mikroorganizmalar adı verilmiştir (Del Toro-Barbosa vd., 2020). Psikobiyotik mikroorganizmaların kan-beyin bariyerinden geçebilen metabolitler ürettiği ve vücutta çeşitli değişimlere (nöral, hormonal ve immünolojik gibi) sebep olduğu ifade edilmektedir (Çetinbaş vd., 2017). Probiyotik mikroorganizmaları içeren fermente gıdaların aynı zamanda psikobiyotik mikroorganizmaları da içerebileceği düşünülmektedir (Del Toro-Barbosa vd., 2020; Dinan vd., 2013).

Ülkemizde özellikle kış aylarında sıklıkla tüketilen geleneksel fermente tahıl ürünümüz olan bozanın da probiyotik mikroorganizmalarca zengin olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur (Doğan ve Özpınar, 2017; Hancıoğlu ve Karapınar, 1997; Kabak ve Dobson, 2011; Osimani vd., 2015; Petrova ve Petrov, 2017; S. D.Todorov vd., 2008;

Ucak vd., 2022). Boza; farklı tahılların (buğday, darı, çavdar, arpa, mısır, yulaf, pirinç gibi) kırmalarından veya unlarından, biri veya birkaçına suda pişirilmesi ve şeker ilave edilmesi sonrasında tekniğine göre laktik asit ve alkol fermantasyonlarına tabi tutulması ile hazırlanan, tatlı veya ekşimsi bir tada sahip, kendine özgü (mayamsı, asidik-alkollü) bir kokusu olan, koyu sarı renkte, koyu kıvamlı bir içecektir (Arici ve Daglioglu, 2002; Yeğin ve Üren, 2008). Boza, mikrobiyotası LAB'leri ve mayalardan oluşan kompleks bir mikrobiyotadır (Anlı ve Şanlıbaba, 2019; S. D. Todorov vd., 2008).

Bazı LAB'leri, bulundukları ortamdaki substrata bağlı olarak GABA üretme yeteneğine sahiptir. Psikobiyotik mikroorganizmaların da ürettiği bir nörotransmitter madde olan GABA, protein yapıda olmayan bir biyoaktif bileşendir ve insan vücudunda merkezi sinir sisteminde (MSS) sinir iletiminin uyarımı ve inhibisyonundan sorumludur (Yalçınkaya vd., 2019). Boza, farklı tahıllardan (buğday, darı, mısır, arpa, yulaf, pirinç, bulgur) çeşitli oranlarda katılarak üretilen bir fermente üründür (Arici ve Daglioglu, 2002). Bu tez çalışması kapsamında boza üretiminde kullanılacak olan tahıllardaki glutamik asit miktarına bağlı olarak fermantasyonu gerçekleştiren GABA üreticisi LAB'lerinin bozada çeşitli konsantrasyonlarda GABA üretme potansiyeli olabileceği düşünülmüştür.

Chia ve kinoa, son yıllarda ülkemizde tüketimi artan, glutensiz, prebiyotik özellikli tahıl benzeri tohumlardır (Bueno vd., 2010; Demir ve Kılınç, 2016). Her iki ham maddenin prebiyotik özellikleri ve içerdikleri besinsel öğeleri (Özbek ve Şahin Yeşilçubuk, 2018), geleneksel boza üretiminde alternatif tahıl kaynağı olarak kullanılabileceğini; glutamik asit içeriklerinin yüksek olması (Chauhan vd., 1992; Yurt ve Gezer, 2018) ise boza üretiminde fermantasyon sonucu GABA üretim potansiyelinin de yüksek olabileceğini düşündürmüştür. Bu nedenle chia ve kinoa boza üretiminde kullanıldığında bozanın probiyotik özelliklerinin yanı sıra potansiyel psikobiyotik özelliğe de sahip olabileceği öngörülmüştür.

Bu doktora tez çalışmasında; chia ve kinoanın boza üretiminde kullanılabılme potansiyeli araştırılmış, farklı tahıl ürünleri (kinoa, chia, darı, mısır) ile elde edilen bozalardan potansiyel psikobiyotik LAB ve mayaların izole edilmesi hedeflenmiştir.

Ayrıca, tez kapsamında üretilen bozaların GABA içerikleri belirlenmiş ve bozalardan elde edilen izolatların GABA üretim potansiyelleri tespit edilmiş ve GABA üreticisi olduğu belirlenen suşların probiyotik özellikleri de değerlendirilmiştir.



## 2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Akdarı (*Panicum miliaceum* L.)

Darılar, buğdaygiller ailesinden tek yıllık, birçok çeşidi olan küçük tohumlu bitkiler olup, genel olarak darı olarak adlandırılmaktadır. Darılar ilk kültüre alınan bitkiler arasında olup, binlerce yıldır yetiştirilmektedir. Darı çeşitleri tane büyüklüğüne göre minör ve majör olarak ikiye ayrılmakta, Akdarı minör darılar sınıfında bulunmaktadır. Akdarının (Proso millet, *Panicum miliaceum* L), orijini tam olarak bilinmemekle birlikte ilk kültüre alınan tahıllardan (muhtemelen buğdaydan önce) biri olduğu belirtilmektedir (Murshed, 2018).

Asya ve Avrupa'da birçok ülkede doğrudan insan gıdası olarak tüketildiği için ekonomik önemi büyüktür. Akdarı, gıda endüstrisinde çeşitli ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır. Bira, boza, un, ekmek, makarna, gevrek ve atıştırmalık ürünler gibi gıda ürünlerinin üretiminde kullanıldığı gibi kuş yemi olarak da kullanımı bulunmaktadır (Gültekin, 2021; Murshed, 2018). Hayvan yemi olarak kullanımı da yaygındır, çünkü besleyici bir tahıl olduğu için hayvanların sağlıklı büyümesi ve gelişmesi için önemli olmaktadır (Awika, 2011).

Akdarı unu, glutensiz ürünlerin üretiminde buğday ununa alternatif olarak kullanılmaktadır (Taylor ve Duodu, 2015). Akdarı nişastası, gıda üretiminde koyulaştırıcı, stabilizatör ve jelleştirici olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, fonksiyonel gıdaların ve besin takviyelerinin üretiminde de önemli bir bileşendir (Awika, 2011).

Akdarı taneleri diyet lifi, nişasta, mineral ve vitamince zengin bir kaynaktır. Akdarı, özellikle B vitaminleri (B1, B2, B3, B6 ve folat) açısından zengindir ve önemli miktarda demir, magnezyum, fosfor ve çinko içermektedir (Taylor ve Duodu, 2015). Akdarı içerdiği biyoaktif bileşenler ile düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kandaki miktarını azaltmakta ve karaciğerin vücuttaki faaliyetlerini pozitif yönde etkilemektedir (Gültekin, 2021). Ayrıca akdarı boza üretiminde kullanılan en kaliteli ham madde olarak bilinmektedir (Anlı ve Şanlıbaba, 2019).

Akdarı tanelerinin protein içeriği, diğer tahıllara kıyasla yüksektir ve esansiyel amino asitler bakımından dengelidir. Özellikle lizin gibi amino asitlerin varlığı, bu tahılı beslenme açısından değerli kılmaktadır (Saleh vd., 2013). Yapılan bir çalışmada darı tanelerinde en yüksek oranda bulunan amino asidin glutamik asit olduğu ve 100 g'da yaklaşık 2,13 g glutamik asit içerdiği tespit edilmiştir (Wiedemair vd., 2020). Ayrıca, darı taneleri glutensiz yapısı sayesinde çölyak hastaları ve gluten intoleransı olan bireyler için uygun bir alternatif olmaktadır (Saleh vd., 2013).

Akdarının sağlık üzerindeki olumlu etkileri çeşitli araştırmalarla desteklenmiştir. Yüksek lif içeriği sayesinde sindirim sistemine faydalı olduğu bilinmekte, bağırsak hareketlerini düzenlemekte ve kabızlığı önlemektedir. Ayrıca, düşük glisemik indeksi ile kan şekeri seviyelerinin kontrolünde yardımcı olabilmektedir. Bu da diyabet hastası bireylere önemli bir avantaj sağlamaktadır (Knudsen, 2014).

## **2.2. Mısır (*Zea mays* L.)**

Mısır, buğdaygiller familyasından, orijini Amerika kıtası olan, dünyada ve ülkemizde en fazla tarımı yapılan tahıllardan birisidir. Amerika'da yapılan arkeolojik çalışmalarda 8000-10000 yıl öncesinde mısırın varlığı belirlenmiştir (Ulus ve Koca, 2023). Mısır, *Zea mays* everta (patlak mısır), *Zea mays* saccharata sturt (şeker mısır), *Zea mays* indendata (at dişi mısır), *Zea mays* indurata (sert mısır), *Zea mays* ceratina (mumsu mısır), *Zea mays* amylaceae (unlu mısır) ve *Zea mays* tunicata (kavuzlu mısır) olmak üzere yedi alt türden oluşan bir tahıl türüdür (A. Öztürk vd., 2019; Ulus ve Koca, 2023). Ülkemiz ekonomisi üzerinde de etkisi yüksek olan mısır bitkisi hem gıda hem de yem olarak kullanılabilmektedir. Bunun yanı sıra gıda sektöründe birçok ürünün (un, yağ, nişasta, tatlandırıcılar, etil alkol gibi) ham maddesi olarak karşımıza çıkmaktadır (Çağlar vd., 2017).

Sıcak iklimlerde yetişen bir bitki olarak bilinen mısır, dünya nüfusunun artmasıyla birlikte çok yönlü kullanımı sebebiyle birçok ülkede en önemli tane tahıl ürünü haline gelmiştir (Keskin vd., 2018). Mısır, özellikle az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde

insan tüketimi için çeltik ve buğdaydan sonra en fazla kullanılan ürünlerin başındadır (Ulus ve Koca, 2023).

Mısır, enerji kaynağı olarak yüksek karbonhidrat içeriği ile bilinmektedir. Mısırdaki nişasta, sindirim sisteminde glikoza dönüşerek enerji sağlamakta, aynı zamanda önemli miktarda diyet lifi, protein, vitamin ve mineral içermektedir. Mısır tanelerinin, özellikle B grubu vitaminler (B1, B3, B5, B6 ve folat) ve E vitamini açısından zengin olduğu bilinmektedir. Ayrıca, potasyum, magnezyum ve fosfor gibi mineralleri de içermektedir (A. Öztürk vd., 2019). Mısırdaki antioksidan özellikleri olan fenolik bileşikler ve karotenoidler bulunmaktadır. Özellikle sarı mısır, lutein ve zeaksantin gibi karotenoidler bakımından zengindir. Bu bileşikler, göz sağlığını korumakta ve yaşa bağlı makula dejenerasyonunu önleyebilmektedir (Sommerburg vd., 1998). Tok tutması ve mide asidini absorbe etmesi, zengin lif içeriği (15,1 g diyet lifi/100g mısır) ve tercih edilen duyuşsal özelliklere sahip olması sayesinde sevilen bir gıda olarak bilinmektedir (J. W. Anderson vd., 2009; A. Öztürk vd., 2019). Mısır taneleri aminoasitler bakımından fakirdir ancak aminoasitlerden en fazla glutamik asiti (0,918-1,391 g/100g) içermektedir (Çağlar vd., 2017). Farklı tahılların GABA içeriklerinin incelendiği bir çalışmada bozanın ham maddelerinden biri olan mısırın GABA içeriği 199 nmol/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur (Quílez ve Diana, 2017).

### **2.3. Chia (*Salvia hispanica* L.)**

Son yıllarda sağlıklı beslenme trendlerinin artmasıyla birlikte chia tohumu, süper gıda olarak adlandırılan besinler arasında yerini almıştır (Ullah vd., 2016). Nane familyasının (*Lamiaceae*) bir üyesi olan chia, beyaz, gri veya çoğunlukla siyah renkli, oval, yaklaşık 1 mm çapında tohumları olan, otsu, tek yıllık bir bitkidir (Erdoğan ve Geçgel, 2019; Ixtaina vd., 2011). Chia tohumunun en iyi yetiştiği bölgeler tropikal iklimin hakim olduğu bölgelerdir. Özellikle Meksika ve Arjantin'de üretilen chia tohumu Güney Amerika'nın haricinde ayrıca Avustralya, Bolivya, Ekvador, Paraguay, Kolombiya ve Nikaragua gibi birçok ülkede de üretilmektedir (Bresson vd., 2009; Erdoğan ve Geçgel, 2019; Timilsena vd., 2017).

Avrupa Komisyonu'nun talebi üzerine yeni bir gıda bileşeni olarak chianın halk sağlığı üzerine etkilerinin tartışıldığı ve çok sayıda bilim insanının katıldığı bir panelde “chia tohumlarının, ağır metal içeriğinin güvenli seviyelerde bulunduğu, gıda güvenliği için maksimum metal seviyelerini aşmadığı ve gıda güvenliğini ve halk sağlığını tehdit etmeyecek yeni bir gıda bileşeni olduğu” rapor edilmiştir (Bresson vd., 2009). Chia tohumunun alerjik olmadığı, herhangi bir toksik etki göstermediği ve gıdalara katılarak yenilebilir olduğu yapılan bilimsel çalışmalarla kanıtlanmıştır. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), chia tohumunun gıda katkı maddesi kategorisinde olmadığını, insan tüketimine sunulabilecek bir gıda olduğunu kabul ettiğini belirtmiştir (Cassiday, 2017).

Chia tohumu, besleyici özellikleri ile de oldukça dikkat çekmektedir. Yapılan çalışmalarda 100 g chia tohumunda yaklaşık olarak 486 kalori, 16,5 g protein, 42,1 g karbonhidrat (bu miktarın 34,4 g lif) ve 30,7 g yağ bulunduğu tespit edilmiştir (Ixtaina vd., 2011; Orona-Tamayo vd., 2017). Ayrıca, chia tohumu  $\omega$ -3 yağ asitleri, antioksidanlar, vitaminler (B vitamini kompleksi) ve mineraller (kalsiyum, demir, magnezyum, fosfor ve çinko) açısından da zengindir (Coorey vd., 2014). Gluten içermemesi chia tohumunun önemli bir özelliği olmaktadır. Bu özelliğiyle de çölyak ve gluten alerjisi olan bireylerin tüketebileceği alternatif gıda kaynağı olmakta, ayrıca vegan veya vejeteryan tipte beslenen bireyler için de alternatif bir bitkisel kaynak olarak kullanılmaktadır (Bueno vd., 2010).

Chia tohumu, %15 ile %23 arasında protein içermektedir. Buna karşılık yulaf ortalama %15,3, amarant %14,8, mısır ve buğday %14, arpa %9,2 ve pirinç %8,5 protein içermektedir. Dolayısıyla chia tohumunun protein içeriği söz konusu tahıllarının protein içeriğine göre daha yüksektir (Bresson vd., 2009). Chia tohumunun protein yapısı 9'u esansiyel aminoasit olmak üzere, 18 çeşit aminoasitten oluşmaktadır (Özbek ve Şahin Yeşilçubuk, 2018). Chia tohumu proteini yaklaşık %52 oranında globülin, %17,3 albümin, %14,5 gliadin ve %12,7 prolamin içermektedir (Demyanenko vd., 2019; Orona-Tamayo vd., 2017; Yurt ve Gezer, 2018). Chia tohumunda yüksek oranda bulunan proteinlerden biri olan globülin; amino asitlerden aspartik asit, glutamik asit, treonin ve histidini içermektedir. Glutamik asit, MSS'yi uyarmakta, bağışıklık fonksiyonlarını güçlendirmekte, sporcularda dayanıklılığı artırmaktadır ve bu özellikleri

ile metabolizma faaliyetleri için önemli bir amino asit olarak bilinmektedir (Woraharn vd., 2015). Chia tohumu unu, 7,0 g glutamik asit, 4,7 g aspartik asit, 4,2g arjinin ve 2,7 g metionin ve sistin amino asitlerini içermektedir. Arjinin, kalp-damar hastalıklarına karşı koruyucu etki gösterirken, aspartik asit ise sinir sisteminin işlevinin düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır (Karolewicz vd., 2001; Meldrum, 2000).

Chia tohumu, ekmek, kek, kurabiye gibi fırın ürünlerine eklenerek besin değerlerini artırmak için kullanılmaktadır. Ayrıca, gluten içermemesi nedeniyle çölyak ve gluten intoleransı olan bireyler için ideal bir ham madde olmaktadır (Borneo vd., 2010; Cassiday, 2017; Coorey vd., 2014). Chia tohumu, enerji içecekleri ve smoothie'ler gibi içeceklerde sıklıkla kullanılmaktadır. Su ile karıştırıldığında jel benzeri bir yapı oluşturmakta ve içeceklere farklı bir doku katmaktadır (Muñoz vd., 2013). Chia tohumu, granola barlar, enerji topları ve krakerler gibi sağlıklı atıştırmalıkların üretiminde de kullanılmaktadır. Yüksek besin değeri, bu ürünleri daha cazip hale getirmektedir (Sandoval-Oliveros ve Paredes-López, 2013). Chia tohumu, ayrıca yoğurt ve puding gibi süt ürünlerinde de kullanılmaktadır. Özellikle vegan yoğurt ve puding üretiminde bitkisel bir alternatif olarak tercih edilmektedir (Coorey vd., 2014). Chia tohumu, doğal bir koyulaştırıcı ve jelleştirici olarak da kullanılabilir. Chia tohumunun su ile temas ettiğinde jelleşme özelliği olduğundan çeşitli gıdalarda yapısal iyileştirici olarak görev yapmaktadır (Muñoz vd., 2013). Chia tohumu, içerdiği yüksek  $\omega$ -3 yağ asitleri sayesinde kalp sağlığını desteklemekte (Taga vd., 1984), yüksek lif içeriğiyle sindirim sistemini düzenlemekte, özellikle kabızlık gibi sorunlara karşı etkili olmakta (Reyes-Caudillo vd., 2008), yüksek lif ve protein içeriği sayesinde uzun süre tok kalmaya yardımcı olmaktadır (Chiang vd., 2021). Chia tohumu, karbonhidratların sindirilme hızını yavaşlatarak kan şekerinin daha dengeli bir şekilde yükselmesini sağlamaktadır. Bu, özellikle diyabet hastaları için önemli olmaktadır (Vuksan vd., 2010).

#### **2.4. Kinoa (*Chenopodium quinoa* Wild)**

Kinoa (*Chenopodium quinoa* Wild) tek yıllık, çift çenekli ve C3 (karbon-3) bitkiler grubuna dahil edilen bir tane bitkisidir (Demir ve Kılınç, 2016; Jacobsen, 2003).

Arjantin, Bolivya, Ekvator, Kolombiya, Peru ve Şili'nin de içinde yer aldığı Güney Amerika And Bölgesi'nde 7000 yıldan uzun süreden beri kinoa yetiştiriciliğinin yapıldığı bilinmektedir (Chauhan vd., 1992; Demir ve Kılınç, 2016; Ruales ve Nair, 1992).

Kinoa, protein içeriğinin yüksek olması ve esansiyel amino asitlerce zengin olması ile dikkat çekmektedir. Kinoa'nın protein içeriği diğer bazı tahıllardan yüksektir ve iyi kaliteli proteine sahip bir üründür (Repo-Carrasco-Valencia ve Serna, 2011; Valencia-Chamorro, 2003). Kinoa'nın 100 gramında yaklaşık 368 kalori, 14 g protein, 6 g yağ ve 64 g karbonhidrat bulunmaktadır (Rojas vd., 2011). Ayrıca, kinoa iyi bir lif kaynağı olup, demir, magnezyum, çinko ve B vitaminleri gibi önemli mikro besinleri içermektedir. Kinoa, glutensiz olması ile çölyak ve gluten hassasiyeti olan bireyler tarafından güvenle tüketilebilmektedir (Vega-Gálvez vd., 2010).

Kinoa, esansiyel olmayan bir amino asit olan glutamik asit açısından da oldukça zengindir. Glutamik asit, MSS için önemli bir nörotransmitter olan glutamatın bir öncüsüdür ve beyin fonksiyonları için kritik öneme sahip olduğu bilinmektedir (Alvarez-Jubete vd., 2009). Kinoa'nın 100 gramında yaklaşık 1,2 g glutamik asit bulunmaktadır (Chauhan vd., 1992). Yapılan birçok araştırma kinoa'unun prebiyotik özellikte olduğunu bildirmiştir (Casarotti vd., 2014; Codină vd., 2016; Lorusso vd., 2018).

Kinoa, gıda sektöründe yaygın olarak kullanılmakta, un haline getirilip, makarna, ekmek ve çeşitli atıştırmalık ürünlerin yapımında kullanılmakta (Bhargava vd., 2006) ya da diğer tahılların (buğday, çavdar gibi) unları ile karıştırılıp çeşitli ürünlerin üretiminde kullanılabilmektedir. Kinoa taneleri ve ürünleri, gluten içermemesi nedeniyle pseudo-cereal (tahıl benzeri) olarak adlandırılmakta ve gluten tüketemeyen bireylerin diyetlerinde güvenle kullanılabilen bir alternatif olmaktadır (Alvarez-Jubete vd., 2009). Ayrıca, kinoa sütü, bitkisel süt alternatifleri arasında popüler olmakta ve laktoz intoleransı olan bireyler için uygun bir seçenek olarak ortaya çıkmaktadır (Tang vd., 2015). Kinoa, salatalar, çorbalar ve garnitürlerde de sıkça kullanılmaktadır (Vega-Gálvez vd., 2010).

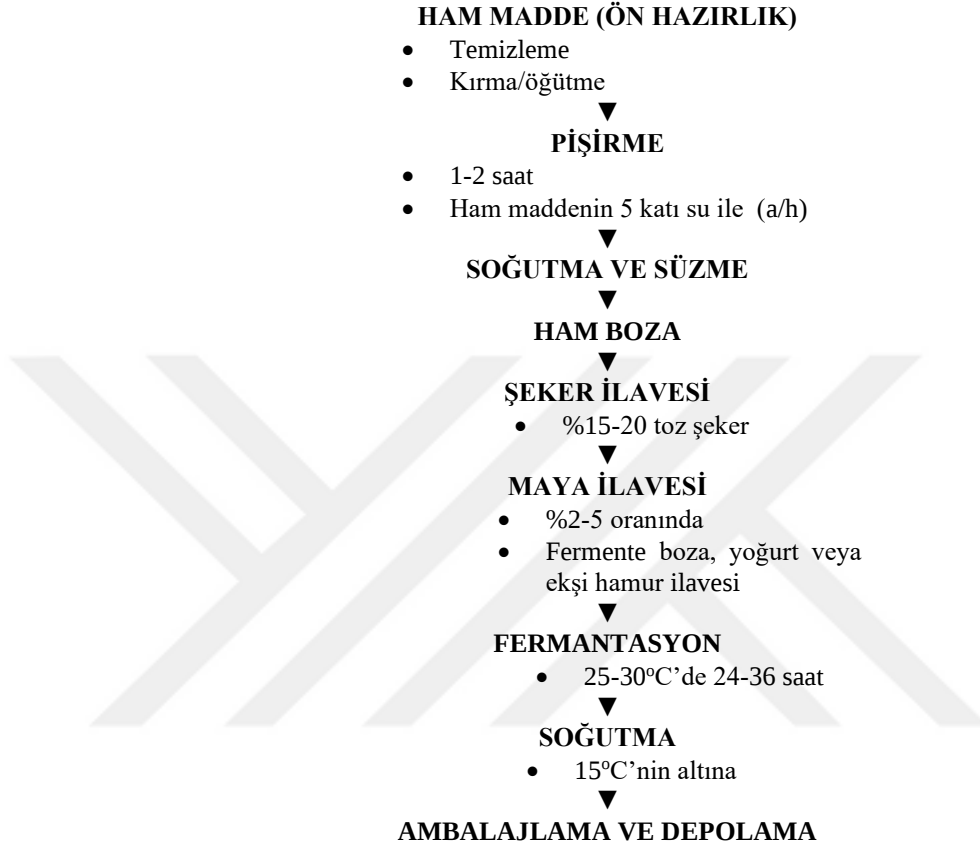
Kinoa'nın sağlık üzerinde birçok olumlu etkisi bulunmaktadır. İçerdiği yüksek miktarda protein ve lif, kilo kontrolüne yardımcı olmakta ve tokluk hissini artırmaktadır (Tang vd., 2015). Ayrıca, düşük glisemik indeksi sayesinde kan şekerini düzenlemeye yardımcı olabilmektedir (Bhargava vd., 2006). Kinoa, antioksidan özelliklere sahip fenolik bileşikler içermektedir ve bu bileşikler vücutta oksidatif stresi azaltarak kronik hastalıklara karşı koruyucu etki göstermektedir (Hirose vd., 2010). Ayrıca, kinoa tktiminin kalp sağlığını desteklediği ve inflamasyonu azalttığı da bildirilmiştir (Watson ve Zibadi, 2013).

## **2.5. Boza**

Boza, geçmişi 8000-9000 yıl öncelerine uzanan, geleneksel fermente bir içecektir. Birçok kaynakta boza en eski bira veya biranın atası olarak kabul edilmektedir. Boza retiminde hem laktik asit hem de alkol fermentasyonunun aynı anda gerçekleşiyor olması ve bira ile kıyaslandığında alkol oranının düşük olması (maksimum %2) bozanın biradan farklı olmasını sağlamaktadır (Levent ve Algan Cavuldak, 2017; Sağlam vd., 2018). Boza, ilk olarak Orta Asya'da üretilmiş, g ile Anadolu topraklarına ve daha sonra da komşu ülkelere yayılarak buralarda da üretilmeye başlamıştır (Erkmen, 2011). Boza, Türkiye dışında, Balkanlar'da (Arnavutluk, Bosna-Hersek, Bulgaristan, Makedonya, Karadağ, Sırbistan, Romanya), Arap lkeleri, İran, Kafkaslar, Kazakistan, Kırım, Kırgızistan, Kosova, Mısır, Macaristan, Türkistan ve birçok Afrika kabilelerinde, Volga evresi'nde üretilip tüketilen fermente, koyu kıvamlı, ferahlık veren bir tahıl ieeidir (Anlı ve şanlıbaba, 2019; Altay vd., 2013; R. Cholakov vd., 2014; Yeğin ve ren, 2008).

Türk Standartları Enstitüsü Boza Standardı'na (TS 9778) göre; "yabancı maddelerinden temizlenmiş darı, pirinç, buğday, mısır ve benzeri hububatın kırma veya unlarından biri veya birına içme suyu katılarak pişirilmesi ve beyaz şeker ilave edilerek tekniğine uygun olarak alkol ve laktik asit fermentasyonlarına tabi tutulması ile hazırlanan bir ürün" olarak tanımlanmaktadır. Darı, buğday, avdar, arpa, yulaf, mısır, pirinç gibi tahıllar bozanın başlıca ham maddesini oluşturmaktadır (Hancıoğlu ve Karapınar,

1997). Boza üretiminde üretildiği bölgeye göre kullanılan ham maddelerin (ekmek, bulgur gibi) de değişiklik gösterdiği bilinmektedir. Ülkemizde en çok darı ve mısır kullanılarak boza üretimi gerçekleştirilmektedir (Anlı ve Şanlıbaba, 2019).



**Şekil 2.1.** Maya kullanarak (back-slopping) fermantasyon ile boza üretim akış şeması (Yeğin ve Üren, 2008; Erkmen, 2011; Anlı ve Şanlıbaba, 2019).

Boza, ülkemizde özellikle kış aylarında tarçın ilave edilerek, tercihe göre leblebi ile beraber tüketilebilen koyu kıvamlı, tatlı veya hafif ekşi, koyu sarı renkli, kendine özgü (alkollü/mayalı) bir kokusu olan, fermente bir gıdadır (Arici ve Daglioglu, 2002). Boza üretiminde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Boza üretimi Şekil 2.1'de gösterildiği gibi maya kullanarak (back-slopping) fermantasyon ile yapılacak ise ilk aşamada ham madde temizlenip, öğütüldükten sonra pişirme, soğutma, süzme işlemi yapılmaktadır. Bu işlemlerden sonra elde edilen ham bozaya %15-20 oranında şeker ilave edilmektedir. Bir sonraki aşamada şekerli ham bozaya % 2-5 oranında maya (ekşi hamur, yoğurt veya eski boza) eklenmekte ve ham boza 25-30°C'de 24-36 saat süreyle fermantasyona bırakılmaktadır. Fermantasyon tamamlandıktan sonra boza hızlı bir şekilde 15°C'nin

altındaki sıcaklıklara soğutulmakta ve ambalajlanıp depolanmaktadır (Yeğın ve Üren, 2008; Erkmen, 2011; Anlı ve Şanlıbaba, 2019).

Boza üretimi doğal fermantasyonla da gerçekleştirilebilmektedir. Doğal fermantasyonla boza üretiminde ham boza eldesine kadar olan aşamalar (ham madde temizleme, öğütme, pişirme, soğutma, süzme) maya kullanarak yapılan fermantasyondaki üretim ile aynı olmaktadır. Bu yöntemde süzme aşamasından sonra ham boza, 25-30°C’de 24-36 saat boyunca, açık kazanda, herhangi bir kültür ilavesi olmadan fermantasyona bırakılmaktadır. Fermantasyon tamamlandıktan sonra bozaya %15-20 oranında şeker ilavesi yapılmakta ve gerekirse viskozite değerlerine göre kıvamını ayarlamak için su ilavesi yapılmaktadır. Sonrasında boza hızlıca 15°C’nin altına soğutulmakta ve ambalajlanıp depolanmaktadır (Akpınar-Bayizit vd., 2010; R. Cholakov vd., 2016, 2017).

**Çizelge 2.1.** Boza fermantasyonunda rol alan bazı bakteriler  
(Hancıoğlu ve Karapınar, 1997; Kabak ve Dobson, 2011; Osimani vd., 2015; Petrova ve Petrov, 2017)

| BAKTERİLER                            |                                                    |
|---------------------------------------|----------------------------------------------------|
| <i>Lactocaseibacillus paracasei</i>   | <i>Pseudomonas pentosaceus</i>                     |
| <i>Lactobacillus pentosus</i>         | <i>Leuconostoc lactis</i>                          |
| <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>  | <i>Leu.mesenteroides</i>                           |
| <i>Levilactobacillus brevis</i>       | <i>Leu.oenos</i>                                   |
| <i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>   | <i>Leu.mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i> |
| <i>Limosilactobacillus fermentum</i>  | <i>Leu. raffinolactis</i>                          |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i>      | <i>Weissella confusa</i>                           |
| <i>Lactobacillus coprophilus</i>      | <i>W. paramesenteroides</i>                        |
| <i>Lactobacillus cornyformis</i>      | <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>             |
| <i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> | <i>Enterococcus faecium</i>                        |

Bozada fermantasyonda rol oynayan birçok farklı mikroorganizma bulunmaktadır (Çizelge 2.1 ve Çizelge 2.2). Başlıca homofermantatif LAB, heterofermantatif LAB ve mayalar fermantasyondan sorumludur. Bozada fermantasyonda rol alan bakterilerin ve mayaların sayı ve cinsi, kullanılan ham maddenin çeşidine ve hangi oranda kullanıldığına göre de oldukça değişkenlik göstermektedir (Altay vd., 2013; R. Cholakov vd., 2014; S. D. Todorov vd., 2008). Bozada mayaların rol aldığı alkol fermantasyonu ve LAB’leri tarafından gerçekleştirilen laktik asit fermantasyonu olmak

üzere iki çeşit fermantasyon eş zamanlı gerçekleşmektedir. Alkol fermantasyonu ile boza, fermantasyonla oluşan CO<sub>2</sub>'in etkisiyle kabarmakta ve hacmi artmaktadır. Ayrıca alkol fermantasyonu sonucu oluşan diğer metabolitler ise bozanın koku ve tat özellikleri üzerine etkili olmaktadır. Laktik asit fermantasyonu ise bozanın asidik karakterinin kazanmasını sağlayan ve lezzeti üzerinde başlıca etkili olan bir diğer fermantasyondur (Erkmen, 2011; Anlı ve Şanlıbaba, 2019). Fermantasyon aşaması boza üretimindeki en kritik aşamalardan birisidir. Fermantasyon aşamasında kontrolsüz koşullarda üretilen bozaların duyuşal özellikleri hızla kötüye gitmekte, alkol tadı baskınlaşmakta, raf ömrü boyunca kıvam sorunları (pütürlülük, fazla akışkanlık, lapa görüntü vb.) meydana gelmektedir (Heperkan vd., 2014; Levent ve Algan Cavuldak, 2017; Osimani vd., 2015).

**Çizelge 2.2.** Boza fermantasyonunda rol alan bazı mayalar  
(Hancıoğlu ve Karapınar, 1997; Kabak ve Dobson, 2011; Osimani vd., 2015; Petrova ve Petrov, 2017)

| <b>MAYALAR</b>             |                                  |
|----------------------------|----------------------------------|
| <b><i>Candida</i> spp.</b> | <b><i>Rhodotorula</i> spp.</b>   |
| <i>C. diversa</i>          | <i>R. araucariae</i>             |
| <i>C. inconspicua</i>      | <i>R. mucilaginosa</i>           |
| <i>C. pararugosa</i>       | <b><i>Saccharomyces</i> spp.</b> |
| <i>C. glabrata</i>         | <i>S. uvarum</i>                 |
| <i>C. quercitrusa</i>      | <i>S. cerevisiae</i>             |
| <i>C. silvae</i>           | <i>S. boulardii</i>              |
| <i>C. tropicalis</i>       | <b><i>Pichia</i> spp.</b>        |
|                            | <i>P. fermentas</i>              |
|                            | <i>P. guilliermondii</i>         |
|                            | <i>P. norvegensis</i>            |

TS 9778 Boza standardına göre, “bozanın toplam kuru madde oranı en az %20, kül miktarı en çok %0,2, sakaroz cinsinden toplam şeker miktarı en az %10, alkol oranı ise hacimce %2’yi geçmemelidir”. Standartta asitlik değerine göre boza, “tatlı boza” ve “ekşi boza” olmak üzere iki temel sınıfta tanımlanmaktadır. Tatlı ve ekşi bozada laktik asit cinsinden toplam asitlik değeri sırasıyla %0,2-0,5 ve %0,5-1,0 olarak belirtilmektedir (Anlı ve Şanlıbaba, 2019).

Boza; sindirimi kolay, vitamin ve mineral içeriği yüksek (Kabak ve Dobson, 2011) kullanıldığı tahılın çeşidine bağlı olarak glutensiz olarak da üretilbilme potansiyeline

sahip ve glutene karşı hassasiyeti olan bireyler tarafından da rahatlıkla tüketilebilecek (Göncü vd., 2023) fermente bir üründür. Fermente süt ürünleri ile kıyaslandığında nispeten düşük esansiyel amino asit ve yağ içeren (Kabak ve Dobson, 2011), ayrıca bitki temelli bir ürün olduğu için vegan veya vejeteryan bireyler arasında da popülerliğini koruyan bir üründür. Yapılan çalışmalar bozanın esansiyel yağ asitleri açısından zengin olduğunu, mikrobiyotası sayesinde kolon sağlığını iyileştirdiğini (Petrova ve Petrov, 2017), kan basıncını dengelediğini (Kancabaş ve Karakaya, 2013), emziren kadınlarda süt verimini artırdığını (Petrova ve Petrov, 2017), mide sıvısının üretimini artırarak sindirimi kolaylaştırdığını (Arıcı ve Daglioglu, 2002; Petrova ve Petrov, 2017), hiperglisemi, oksidatif stres ve inflamasyon üzerinde pozitif etkilerinin olduğunu (Levent ve Algan Cavuldak, 2017) göstermiştir.

Bozanın içerdiği potansiyel probiyotik bakterilerin aynı zamanda psikobiyotik özelliklerinin de olabileceği düşünülmektedir. Türkiye’de ticari olarak üretilen 23 boza örneği ile yapılan bir çalışmada örneklerin mikrobiyotası metagenomik analiz ile incelenmiştir. Boza örneklerinin baskın olarak *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* ve *Streptococcus* cinslerine ait bakteri türlerini içerdiği bildirilmiştir. Boza örneklerinde ayrıca *E. faecium* bulunduğu ifade edilmiştir. Test edilen 23 boza örneğinin asitliğinin %0,14-0,51, pH’nın 3,00-4,07, protein miktarının 0,35-1,23 mg/100 mg, toplam şeker miktarının 9,64-19,21 mg/100 mg boza, toplam kül miktarının 0,05-0,18 mg/100 mg kuru örnek, toplam kuru madde miktarının 13,79-28,04 mg/100 mg arasında değiştiği belirtilmiştir (Ucak vd., 2022). Bir diğer çalışmada, Bulgar bozasından izole edilen bakteriyosin üreticisi *Enterococcus faecium* ST10Bz suşunun DNA’sının PZR analiz sonuçlarında bakterinin genetik yapısında tutunma genleri olan *map*, *mub* ve *ef-tu*’nun ve GABA üretimi ile ilişkili olan gen *gad*’ın varlığına dair pozitif bulguların elde edildiği bildirilmiştir (Valledor vd., 2020)

Yapılan çalışmalardan da anlaşılabileceği gibi bozada bulunan mikroorganizmaların (Çizelge 2.1 ve Çizelge 2.2) birçoğu (*Lb. plantarum*, *Lb. paracasei*, *Lc. lactis*, *Leu. mesenteroides*, *Weissella* spp., *Lb. brevis*, *P. pentosaceus*, *E. faecium*) farklı fermente gıdalardan da izole edilmiş ve GABA üretme potansiyeli göstermişlerdir (Diez-Gutiérrez vd., 2022; Quílez ve Diana, 2017; Sakkaa vd., 2022; Wall vd., 2014). Bu

alışmalar bozanın mikrobiyotasında potansiyel GABA reticisi mikroorganizmaların olabileceğine işaret etmektedir. Bozanın retiminde kullanılan hammaddelerin içerdiği glutamik asit miktarı da mikroorganizmalarca üretilecek olan GABA'nın miktarını etkileyecek bir diğer faktördür (Quilez ve Diana, 2017; Siragusa vd., 2007; Woraharn vd., 2016). Çünkü GABA retimi, L-glutamik asitin bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalarda bulunabilen bir enzim olan glutamat dekarboksilaz (GAD) enzimi tarafından dekarboksilasyonu ile gerçekleşmektedir. O nedenle GABA reticisi suşların yanı sıra, boza retiminde L-glutamik asit içeriği yüksek ham maddelerin seçilmesinin son üründe GABA retim miktarının artırılması açısından önemli olacağı düşünülmüştür. Kinoa ve chia tohumları yüksek protein ve aminoasit kaynağı olarak bilinmektedir. Kinoa'nın 100 gramında yaklaşık 1,2 g glutamik asit bulunmakta (Chauhan vd., 1992), chia tohumu unu ise 7,0 g/100 g protein glutamik asit içermektedir (Sandoval-Oliveros ve Paredes-Lpez, 2013). Farklı tahılların GABA içeriklerinin incelendiği bir başka çalışmada da bozanın ham maddelerinden biri olan mısırın GABA içeriği 199 nmol/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur (Quilez ve Diana, 2017).

## **2.6. Psikobiyotik Mikroorganizmalar**

Günümüzdeki hızlı yaşam ve çalışma koşulları insanların gün içinde ağır strese maruz kalmasına ve ruh sağlığının bozulmasına neden olmaktadır. Bunun bir sonucu olarak insanlarda duygu durum bozukluğu, depresyon, anksiyete vb. ruhsal problemler daha fazla görülmektedir (Oleskin ve Shenderov, 2019). Dünya Sağlık rgt'nün (2018) raporuna göre dünya üzerinde 300 milyondan fazla insan depresyon yaşamaktadır ve bunların birçoğu ayrıca anksiyeteye de maruz kalmaktadır. Bu durum insanların hayat kalitesini düşürmekte ve başka sağlık sorunlarına da sebebiyet vermektedir (Palepu ve Dandekar, 2022).

Son yıllarda yapılan çalışmalar bağırsak sağlığı ile akıl sağlığı arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. İnsan bağırsak mikrobiyotası ile MSS arasındaki ilişki "bağırsak-beyin eksenini" olarak tanımlanmıştır (Wall vd., 2014). Bilimsel alışmalar bağırsak mikrobiyotamızın genel sağlığımız için önemini göstermekte ve hatta bağırsak mikrobiyotası "ikinci beyin" olarak adlandırılmaktadır. Bağırsak mikrobiyotasının insan

vücudunda ikinci beyin olarak adlandırılmasının bir diğer sebebi de mikrobiyotanın akıl sağlığı üzerine olan potansiyel etkilerinden kaynaklanmaktadır (Sarkar vd., 2016; Wall vd., 2014). Araştırmacılar, insanların akıl sağlığı ve MSS üzerine etkileri olan bu mikroorganizmaları “psikobiyotik” olarak adlandırmıştır (S. Anderson, 2019; Barros vd., 2020; Giri ve Sharma, 2022; Möckl vd., 2020; Özer vd., 2019). Daha kapsamlı olarak tanımlandığında psikobiyotik mikroorganizmalar; belirli miktarda tüketildiklerinde konak organizmanın bağırsak mikrobiyotası ile etkileşime girerek sinir sistemine pozitif etkileri olan probiyotik mikroorganizmalardır (Casertano vd., 2022; Cheng vd., 2019; Del Toro-Barbosa vd., 2020; Otaru vd., 2021; Thakur ve Tariq, 2019).

Psikobiyotik mikroorganizmaların, vücutta kan-beyin bariyerinden geçebilen metabolitler (Çizelge 2.3) ürettiği ve bu sayede insan vücudunda sinir sisteminde, hormonlar ve bağışıklık üzerinde olumlu değişimlere sebep olduğu ifade edilmektedir (Çetinbaş vd., 2017; Needham vd., 2022). Bundan dolayı bağırsak-beyin ekseninde herhangi bir anormallik olması durumunda hem sindirim sistemi hem de MSS’yle ilgili rahatsızlıklar görülebileceği bildirilmiştir. Yapılan çalışmalara göre psikobiyotikler vücutta etkilerini üç farklı şekilde gösterebilmektedir (Beck vd., 2019; Del Toro-Barbosa vd., 2020) :

- Bağırsıklı sistemini doğrudan etkilemek,
- Sistemik inflamasyonu azaltmak ve hipotalamik-hipofiz-adrenal (HPA) eksenini boyunca stres tepkisini etkilemek,
- Çeşitli biyoaktif maddeler üretmek (biyoaktif peptidler ve proteinler, nörotransmitter maddeler ve kısa zincirli yağ asitleri gibi).

Bir mikroorganizmanın psikobiyotik potansiyeli belirlemek için kesinleşmiş bir yöntem bulunmamaktadır. Ancak literatürde çoğunlukla uygulanan ve sonuç alınan iki farklı yaklaşım bulunmaktadır. Bunlardan ilki olan pre-klinik yaklaşımda, *in vitro* veya *in vivo* çalışmalar bulunmaktadır. *In vitro* çalışmalarda mikroorganizmanın ürettiği psikobiyotik özelliğe neden olan metabolitlerin (biyoaktif peptidler, nörotransmitter maddeler, GABA veya kısa zincirli yağ asitleri gibi) düzeyi belirlenmekte ya da hayvan hücre kültürleri kullanılarak çeşitli hormonların (serotonin, dopamin vb.) üretimine etkisi incelenmektedir. *In vivo* çalışmalarda, hayvan modelleri (fare/sıçan) kullanılarak

davranış testleri uygulanmakta ve mikroorganizmanın neden olduğu biyolojik değişimlerin (hormonal, immünolojik, nöronal) tespiti yapılmaktadır (S. Anderson, 2019; Del Toro-Barbosa vd., 2020; Luang-In vd., 2020). İkincisinde (klinik yaklaşım) insan deneyleri (davranışsal testler), biyolojik işaretçilerin kandaki düzeylerinin tespiti veya görüntüleme teknikleri kullanımıyla mikroorganizmanın psikobiyotik potansiyeli değerlendirilmektedir.

**Çizelge 2.3.** Psikobiyotik bakterilerin ürettiği oldukları metabolitler ve sağlık etkileri (Oleskin ve Shenderov, 2019; Oroojzadeh vd., 2022; R. Sharma vd., 2021; Tette vd., 2022; Wall vd., 2014; Yalçınkaya vd., 2019)

| Mikroorganizma                                                                                                                                                                                                                                   | Üretilen metabolit      | Sağlık üzerine etkisi                                                                                                                                             |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Levilactobacillus brevis</i> , <i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> | GABA                    | Anksiyete ve depresyonda azalma, hayatı olumsuz yönde etkileyen faktörleri azaltma (psikolojik problemler, bağışıklık problemleri uykusuzluk gibi)                |
| <i>Escherichia</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>                                                                                                    | Serotonin               | Canlılık ve zindelik hissi, ruhsal durumun düzenlenmesi, mutluluk                                                                                                 |
| <i>Lactococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>S. cerevisiae</i>                                                                                                                                                          | Dopamin                 | Kan basıncının yükselmesi, kalp atışlarının hızlanması, Parkinson hastalığının tedavisi veya semptomlarının hafifletilmesi, nörohormon üretiminin teşvik edilmesi |
| <i>Lactobacillus</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus</i>                                                                                                                                                           | Histamin                | Lokal bağışıklık yanıtı oluşturulması, bağırsaktaki fizyolojik fonksiyonlar üzerine etki                                                                          |
| <i>Bacillus subtilis</i>                                                                                                                                                                                                                         | Norepinefrin            | Odaklanma, çevreye cevap verme, dikkat gibi zihinsel yeteneklerin düzenlenmesi                                                                                    |
| <i>Lactocaseibacillus casei</i> , <i>Levilactobacillus brevis</i>                                                                                                                                                                                | Glutamik asit ve Taurin | Glutamik asit, koku, tat ve açlık ile ilişkili olurken; taurin, beyinde iletişim mekanizmasını düzenlemektedir.                                                   |
| <i>Lactobacillus</i>                                                                                                                                                                                                                             | Asetilkolin             | Öğrenme ve hafızayı güçlendirme, Alzheimer ve Parkinson hastalıklarında olumlu etki                                                                               |

Psikobiyotik mikroorganizmalar; otizim gibi hastalıklarda davranışların olumlu yönde etkilenmesi ve hastalık semptomlarının azalması, psikolojik durumun iyileşmesi, depresyon ve anksiyetede hafifleme, hafıza, öğrenme, kavrama gibi zihinsel yeteneklerde artış, Alzheimer/Parkinson gibi sinirsel hastalıkların önlenmesi ve

semptomlarının hafifletilmesi ve tedavisi gibi vücutta psikiyatrik ve sinirsel olumlu etkiler yaratmaktadır (Oleskin ve Shenderov, 2019). Psikobiyotikler,  $\beta$ -glukorinidaz enzimi sentezlemekte ve östrojen hormonunu aktif olmayan formdan aktif forma dönüştürerek hormonun seviyesini ayarlayabilmektedir. Ayrıca psikobiyotik mikroorganizmalar, tiroit hormonuna da benzer bir mekanizma ile etki etmektedir. Psikobiyotik mikroorganizmalar fermente gıdaların üretiminde fermantasyon aşamasında çeşitli biyoaktif metabolitler ürettiği gibi, tüketicinin bağırsağına kolonize olarak da bu metabolitleri (Çizelge 2.3) üretebilmekte veya metabolitlerin üretimini artırıcı etki gösterebilmektedir (Bermúdez-Humarán vd., 2019; Hemarajata ve Versalovic, 2013; Zagórska vd., 2020).

**Çizelge 2.4.** Fermente gıdalar ve içerdiği mikroorganizmaların potansiyel psikobiyotik etkisi ile ilgili çalışmalar (Del Toro-Barbosa vd., 2020; Dinan vd., 2013; Sarkar vd., 2016)

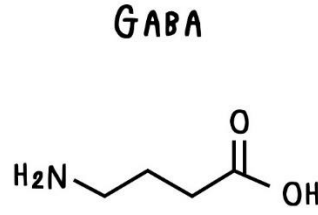
| Gıda                                 | Suş                                                                                                                                                                                                                                                             | Model               | Doz                                                  | Psikobiyotik Etkisi                                                                                                    | Referans               |
|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| Kefir                                | <i>Acetobacter</i> sp., <i>A. aceti</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> , <i>Limosilactobacillus fermentum</i> , <i>Lb. fructivorans</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Leuconostoc</i> sp., <i>Lb. kefiranofaciens</i> , <i>Candida famata</i> , <i>C. krusei</i> | Klinik              | 2 mL/kg/gün 90 gün boyunca                           | Hafızada gelişme, görsel-mekansal/soyutlama yetenekler ve yönetici/dil işlevleri                                       | Ton vd., 2020          |
| Pastörize edilmemiş süt ve süt ürünü | <i>Lactobacillus</i>                                                                                                                                                                                                                                            | Klinik              | 12 haftanın öncesi ve sonrasında serbest tüketim     | Yetişkinlerde stres ve anksiyete skorunu azaltma                                                                       | Butler vd., 2020       |
| Fermente Süt                         | <i>Lactocaseibacillus casei</i> Shirota                                                                                                                                                                                                                         | Klinik              | 100 mL fermente süt 8 hafta boyunca günde 1 kez      | Stresli durumlara maruz kaldığında sağlıklı deneklerde artan dışkı serotonin seviyeleri ve azalmış fiziksel semptomlar | Kato-Kataoka vd., 2016 |
|                                      | <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> I-2494, <i>S. thermophilus</i> I-1630, <i>Lb. bulgaricus</i> I-1632 ve I-1519, ve <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> I-1631                                                                                         |                     | 125 mL fermente süt 4 hafta boyunca günde 2 kez      | Sağlıklı kadınlarda duygu ve duyurunun merkezi işleyişini kontrol eden beyin bölgelerinin aktivitesini etkilenmesi     | Tillisch vd., 2013     |
|                                      | <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>B. bifidum</i> ve <i>Lb. fermentum</i>                                                                                                                                                                           |                     | 200 mL/gün 12 hafta boyunca                          | Alzheimer hastalarında (60-95 yaş) olumlu bir bilişsel işlev                                                           | Akbari vd., 2016       |
|                                      | <i>Lactocaseibacillus casei</i> Shirota YIT 9029                                                                                                                                                                                                                |                     | 8 hafta boyunca günde 1 kez 100 mL fermente süt      | Stresli deneklerin fiziksel semptomlarının azalması                                                                    | Takada vd., 2016       |
| Fermente pirinç kepeği               | <i>S. cerevisiae</i> IFO 2346                                                                                                                                                                                                                                   | In vivo fare deneyi | 1 g/kg/gün fermente pirinç kepeği sıcak su ekstraktı | Sıçanlarda ve farelerde gösterilen anti-stres ve yorgunluk önleyici etkiler                                            | Kim, vd. 2002          |

Fermente gıdaların birçoğu potansiyel probiyotik bakteriler açısından oldukça zengindir. Fermente gıdalardaki probiyotik potansiyelli mikroorganizmalar, bağırsak

bariyerini koruma, patojen gelişimini engelleme, besinlerden yararlanmayı artırma (Rocks vd., 2021) gibi önemli sağlık etkilerinin yanı sıra gıdada gelişme gösterirken nörotransmitter maddeler üreterek veya doğrudan bağırsak ve beyin arasındaki sinir yollarının aktivasyonu ile nörotrofik kimyasalları modüle ederek ve analjezik etki göstererek beyin sağlığı üzerine de etki etmektedir (Del Toro-Barbosa vd., 2020). Yapılan çalışmalarda fermente gıdaların psikobiyotik etkileri çoğunlukla klinik olarak anket yöntemleri ile insanlar üzerinde veya hayvan modellerinde davranış çalışmaları kullanılarak incelenmiştir (Çizelge 2.4). Ancak, çalışmalarda fermente gıdaların veya içerisindeki mikroorganizmaların pre-klinik olarak *in vitro* ve *in vivo* fizyolojik etkileri (hayvan modellerinde vücuttaki nörotransmitter miktarına ve bağırsaktaki nörotransmitter salınımına etkisi vb.), fermente gıdalardaki nörotransmitterlerin varlığı ve miktarı incelenmediğinden fermente gıdaların ve içerdikleri mikroorganizmaların psikobiyotik etkileri tam anlaşılamamıştır (Dinan vd., 2013; Sarkar vd., 2016).

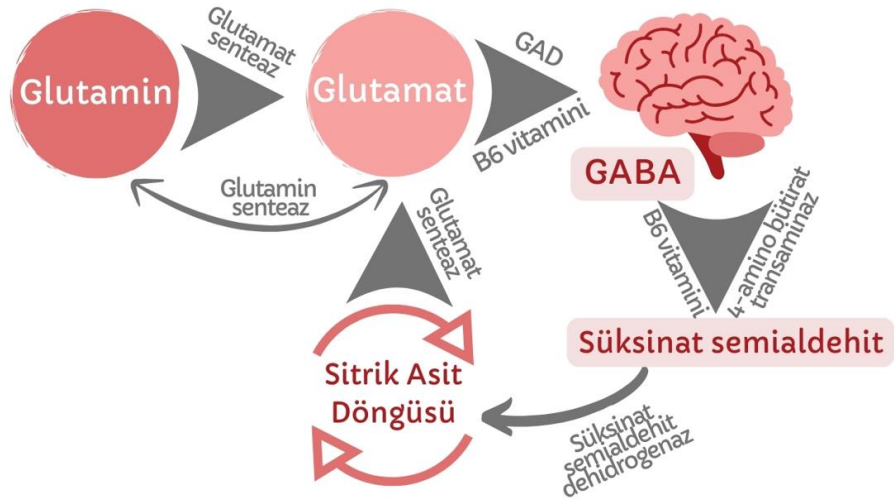
## **2.7. Gamma Amino Bütirik Asit (GABA)**

GABA, protein yapısına katılmayan dört karbonlu bir aminoasit ve biyoaktif bir bileşendir (Chua vd., 2018; Tsai vd., 2006; Valenzuela vd., 2019; Yalçınkaya vd., 2019). GABA esas olarak beynin korteks bölgesinde inhibitör bir nörotransmitter olarak bilinmektedir ve nöronal uyarılabilirliği düzenlemek için çalışmaktadır (Boonstra vd., 2015; Chua vd., 2018). Bu amino asit sadece fizyolojik sistemimizde değil aynı zamanda bitkilerde, hayvanlarda ve mikroorganizmalarda da yaygın olarak bulunmaktadır (Şekil 2.2). Bitkilerde ve mikroorganizmalarda Krebs döngüsündeki rolü ile bilinirken, hayvanlarda ise sinir sinyali nörotransmitteri olarak bilinmektedir. Sağlık, medikal malzemeler, ilaç ve beslenme alanlarında ve özellikle son zamanlarda naylon ve diğer bileşiklerin üretimindeki geniş uygulamaları bu basit aminoasidi oldukça önemli hale getirmiştir (Jain ve Ghodke, 2021).



**Şekil 2.2.** GABA'nın moleküler yapısı

GABA üretimi (Şekil 2.3), bakterilerin yanı sıra bitki ve hayvanların da sahip olabildiği bir enzim olan glutamat dekarboksilaz (GAD) tarafından L-glutamik asitin dekarboksilasyonunu içeren bir mekanizmadır (Kurohara vd., 2001; Siragusa vd., 2007; Yalçinkaya vd., 2019). Bu mekanizmada GABA, L-glutamatın geri dönüşümsüz  $\alpha$ -dekarboksilasyonu ve bir sitoplazmik proton tüketimi ile piridoksal-5'-fosfata (PLP, B6 vitamini) bağımlı enzim olan GAD yardımıyla sentezlenir. PLP hücrede, GAD'ın ko-faktörü olarak görev yapmaktadır ve apo-GAD'ı halo-GAD'a çevirerek aktif hale getirmektedir (Chua vd., 2018). Monosodyum glutamat (MSG) veya L-glutamik asitten GABA üretimi bakterilerde genellikle spesifik bir glutamat/gama-amino butirat antiporteri (hücre zarında vitamin/enzim gibi maddeleri taşıyan membran proteini) aracılığıyla eş zamanlı olarak gerçekleşmektedir. Bu enzimler bakterilerde *gadB* ve *gadC* genleri tarafından kodlanmaktadır (Yunes vd., 2016). Mikroorganizmalarda GABA üretiminde en önemli faktörlerden biri ortamın pH'ıdır. GAD enzimi nötral pH'larda sitoplazmada inaktif halde bulunurken, asidik ortamlarda membrana taşınmakta ve aktif hale geçmektedir (Xiao ve Shah, 2021). Bunun yanı sıra ortamda bulunan karbon ve azot kaynağının çeşidi ve miktarı, GAD enzimi aktivitesi de GABA üretimi için hayati öneme sahip parametreler olmaktadır (Chua vd., 2018; Xiao ve Shah, 2021).



**Şekil 2.3.** GABA üretim mekanizması  
(Chua vd., 2018; Jain ve Ghodke, 2021; Yalçınkaya vd., 2019)

GABA, fermantasyon sırasında gıdalarda mikroorganizmalar tarafından üretilbildiği gibi bağırsak mikrobiyotasında bulunan bakteriler tarafında insan vücudunda da sentezlenebilmektedir (Mousavi vd., 2022). Yapılan birçok çalışmada LAB'lerinin ve mayaların GAD enzimini ürettiği tespit edilmiştir (Dahiya ve Nigam, 2022; Sahab vd, 2020). Tüketildiklerinde mental sağlığa olumlu etkileri bulunan ve probiyotik olarak sınıflandırılan psikobiyotik mikroorganizmaların, bağırsak-beyin ekseninde etkili olan GABA gibi nöroaktif bileşenleri üretebildikleri ifade edilmiştir (Dinan vd., 2013; R. Sharma vd., 2021; Tette vd., 2022).

GABA ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde GABA'nın farklı organizmalarda çok sayıda fizyolojik fonksiyona sahip olduğu bildirilmiştir (Monteagudo-Mera vd., 2023). Memelilerin MSS'deki ana nörotransmitter maddelerdendir ve sinir iletiminin uyarımı ve inhibisyonunu kontrolden sorumludur (S. M. Han ve Lee, 2017; Tette vd., 2022). Memelilerde beyindeki GABA sentezi esas olarak GAD67 enzimi tarafından gerçekleştirilmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda gıdalar ile alınan GABA'nın kan beyin bariyerini geçme yeteneğinden yoksun olduğu bildirilmiştir. Gıdanın içerisinde vücuda alınan GABA, kan beyin bariyerini geçemese de farklı hayvan çalışmaları ve insan denemeleri gıdaların tüketimi ile vücuda alınan GABA'nın sağlığa çok sayıda olumlu

faýdasının olduğunu göstermektedir. Bu yararlarından bazıları; stresi ve yan etkilerini azaltma, tansiyonu dengeleme, kardiyovasküler riski azaltma, antidiyabetik, antidepresan ve sakinleştirici etki olarak sayılabilmektedir (Boonstra vd., 2015; Chua vd., 2018).

Yapılan çalışmalarda GABA'nın sağlık üzerine etkileri ve genellikle fermente gıdalardan izole edilen ve çoğu GRAS (generally recognized as safe) olarak kabul edilen LAB'lerinin GABA üretimi üzerinde durulmuştur (Kanklai vd., 2021; Perpetuini vd., 2020; P. Sharma vd., 2022; Tsai vd., 2006). Mayaların GABA üretimi ile ilgili çalışmalar LAB'lerine kıyasla oldukça sınırlıdır ve bozadan izole edilen mayaların psikobiyotik potansiyeli ve GABA üretim yeteneklerini inceleyen çalışmalara literatürde rastlanmamıştır (Çizelge 2.5 ve Çizelge 2.6).

**Çizelge 2.5.** Gıdalardan izole edilen LAB'lerinin GABA üretim potansiyeli

| Gıda              | Ülke     | Mikroorganizma                                                                | GABA üretme yeteneği                                                                              | Referans                 |
|-------------------|----------|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| Kimchi            | İspanya  | <i>L. plantarum</i> K16                                                       | 1000 mg/L (12 g/L of maya ekstratı, 500mM MSG içeren MRS broth, 34°C'de 96 saat fermentasyon)     | Diez-Gutiérrez vd., 2022 |
| Çikolata          | Türkiye  | <i>L. rhamnosus</i> NRRL B-442                                                | 59000 mg/L                                                                                        | Ozer vd., 2022a          |
| Karides           | Mısır    | <i>Enterococcus faecium</i> SH9                                               | 0,97 g/L (%1 MSG ilave edilmiş MRSB'de)                                                           | Sakkaa vd., 2022         |
| Fermente dut suyu | Tayland  | <i>Levilactobacillus brevis</i> F064A                                         | 3,31 mg/mL (%2 MSG'li dut suyunda, 37°C'de 48 saat fermentasyon ile)                              | Kanklai vd., 2021        |
| Lahana turşusu    | Tayland  | <i>Enterobacter xiangfangensis</i>                                            | 4,6 µg/mL (20 mg/mL MSG'den)                                                                      | Luang-In vd., 2021       |
| Kefir             | Tayland  | <i>Bacillus</i> spp. PS15                                                     | 5,57 µg/mL (20 mg/mL MSG'den)                                                                     |                          |
| Fermente süt      | Çin      | <i>Str.thermophilus</i>                                                       | 8,3 mg/L                                                                                          | M. Han vd., 2020         |
| Paork kampus      | Kamboçya | <i>Lb. plantarum</i>                                                          | 20,34 mM                                                                                          | Ly vd., 2019             |
| Pico peyniri      | İrlanda  | <i>L.plantarum</i> L2A21R1                                                    | 937 mg/L (30mg/mL MSG ilave edilmiş MRS broth'ta)                                                 | Ribeiro vd., 2018        |
| Yoghurt-amazake   | Japonya  | <i>Str. thermophilus</i> Hp                                                   | 1096 µM (ilave MSG yapılmamış)                                                                    | Ohmori vd., 2018         |
| Kung-som          | Tayland  | <i>L. futsaii</i> CS3                                                         | 10,130 mg/kg (starter kültür 8 log kob/g, 0,5% MSG ilave edilmiş)                                 | Sanchart vd., 2017       |
| Ekşi hamur        | Türkiye  | <i>Lb. plantarum</i> SC-9<br><i>Lb. plantarum</i> ED-1<br><i>Lb. graminis</i> | 4,92 mM<br>15,47 mM<br>3,90 mM                                                                    | Demirbaş vd., 2017       |
| Kimchi            | Kore     | <i>L. brevis</i> HYE1                                                         | 14,64 mM GABA, (%1 [a/h] MSG içeren MRS besiyerinde 48 saatte)                                    | Lim vd., 2017            |
| Yoghurt           | İrlanda  | <i>Str.thermophilus</i> APC151                                                | 2 mg/ mL GABA üretimi (14% [a/h] yağsız süt içeren süt, 2,25 mg/mL MSG ilave edilmiş 42°C 48 saat | Linares vd., 2016        |

**Çizelge 2.5.** Gıdalardan izole edilen LAB'lerinin GABA üretim potansiyeli (devamı)

| Gıda                       | Ülke    | Mikroorganizma                                                                                                                                              | GABA üretme yeteneği                                                                                       | Referans               |
|----------------------------|---------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| Nostrano                   | İtalya  | <i>Str. thermophilus</i> , <i>L. paracasei</i>                                                                                                              | 80,0 mg/kg ( <i>Str. thermophilus</i> )                                                                    | Franciosi vd., 2015    |
| Siyah soya fasülyesi sütü  | Tayvan  | <i>Lb. brevis</i> FPA 3709                                                                                                                                  | 2,45 mg/mL GABA (37°C, 48 saat, 1% MSG, 1% kahverengi şeker ve 0,1% pepton ilave edilmiş)                  | Ko vd., 2013           |
| Nham                       | Tayland | <i>L.namurensis</i> , <i>P.pentasaceus</i> HN8                                                                                                              | 4051 mg/kg (%0,5 MSG ilave edilmiş)                                                                        | Ratanaburee vd., 2013  |
| Kimchi (20 farklı örnekte) | Kore    | 55 adet <i>L. plantarum</i> , 6 adet <i>L. brevis</i> , 4 adet <i>Leu. mesenteroides</i> , 1 adet <i>Leu. lactis</i> ve 2 adet <i>Weissella viridescens</i> | 68 izolat da GABA üretme yeteneğine sahip                                                                  | M. J. Kim ve Kim, 2012 |
| Ekşi hamur                 | İtalya  | <i>L.plantarum</i> C48                                                                                                                                      | 504 mg/kg (0,1 mM pridoksal 5 fosfat ilave edilmiş un, starter 5x10 <sup>7</sup> kob/g, 30°C'de 24 saat)   | Coda vd., 2010         |
| Ahududu suyu               | Kore    | <i>L.brevis</i> GABA100                                                                                                                                     | 27,6 mg/mL (%2 MSG ilave edilmiş, pH=3,5 ahududu suyunda)                                                  | J. Y. Kim vd., 2009    |
| Geleneksel turşu           | Japonya | <i>L. senmaizukei</i>                                                                                                                                       | GABA üretim yeteneğine sahip                                                                               | Hiraga vd., 2008       |
| Peynir                     | Kore    | <i>L.buncheri</i> OPM-1                                                                                                                                     | 91,72 mg/L (%1 MSG'li MRS Broth'da 30°C'de 48saat)                                                         | Park ve Oh, 2007       |
| Tempe                      | Japonya | <i>Rhizopus microsporus</i> var. <i>oligosporus</i> IFO                                                                                                     | 1,740 mg/100g kuru maddede (Aerobik koşullarda 30°C'de 20–22 saat ve anaerobik koşullarda 30°C'de 20 saat) | Aoki vd., 2003         |

Mayalar; alkol üretimi, organik asitlerin üretimi, fermente gıdalarda tekstür, aroma ve tadın geliştirilmesi, besleyici özelliklerin artırılması, anti-besinsel faktörlerin ve toksinlerin azaltılması gibi önemli rolleri ile gıdaların fermantasyonunda önemli bir konumda bulunmaktadır. Ayrıca mayaların biyoaktif maddeler (GABA, folik asit, karotenoidler, antimikrobiyal peptidler gibi) ürettiği bilinmekte (S. Han vd., 2016; S. M. Han ve Lee, 2017; L. Zhang vd., 2022) ve mayalar fonksiyonel gıda endüstrisinde vazgeçilmez bir rol üstlenmektedir (S. Li vd., 2021; Perpetuini vd., 2020). Mayalar da LAB'leri gibi glutamat dekarboksilazın katalizlediği dekarboksilasyon reaksiyonu ile GABA üretmektedir (S. M. Han ve Lee, 2017; Perpetuini vd., 2020). Ayrıca uçucu aroma bileşenleri üreterek gıdaların aromasında değişikliklere neden olabilmektedirler. GABA ilk olarak asit uygulanmış maya ekstraktından izole edilmiş, daha sonra işlenmemiş maya ekstraktında kuru ağırlığına göre %1-2 oranında serbest halde de mevcut olduğu tespit edilmiştir (Dhakal vd., 2012). Kırmızı maya *Rhodotorula glutinis* ile ilgili yapılan bir çalışmada mayanın amino asit kompozisyonu araştırılırken de GABA tespit edilmiştir. *Neurospora crassa* sporunun erken çimlenme döneminde oldukça önemli bir miktarda ortamda GABA tespit edilmiştir. Farklı maya türlerinin de

GABA ürettiği bilinmektedir (Dhakal vd., 2012; S. Li vd., 2021). Yapılan bir çalışmada Çin'in geleneksel bir fermente süt ürününden izole edilen *Kluyveromyces marxianus* B13 ile peynir üretilmiş ve 489 mg/kg GABA üretildiği tespit edilmiştir (S. Li vd., 2021). Fermente elma suyunda *S. cerevisiae* SC125'in 898,35 mg/L (Sun vd., 2022), *Pao cai* (Çin Turşusu)'nda *S. cerevisiae*'in 1,03 g/L (Q. Zhang vd., 2020), fermente fırın ürünlerinde *S. cerevisiae* Hansen'in 20 mg/mL ve şarapta *S. cerevisiae* Klosterneuburg'un 26 mg/mL (Hudec vd., 2015) düzeylerinde GABA ürettiği tespit edilmiştir.

Ayrıca çeşitli fermente süt ürünlerinden izole edilen *Kluyveromyces marxianus*'un 50 farklı suşu analiz edilmiş ve suşların GABA üretim potansiyeli 2,33 mg/L ile 7,78 mg/L arasında bulunmuştur (Perpetuini vd., 2020). Bu çalışmalardan da görüldüğü gibi mayalar da GABA üretiminde fermente gıdalarda en az LAB'leri kadar önemli bir rol üstlenmektedir. Tez kapsamında bozada LAB'lerinden sonra ortamda hakim olan bir diğer mikroorganizma grubu olan mayaların da GABA üretim yetenekleri incelenmiştir.

**Çizelge 2.6.** Gıdalardan izole edilen mayaların GABA üretim potansiyeli

| Gıda                        | Ülke     | Mikroorganizma                                                                                      | GABA üretme yeteneği                                     | Referans             |
|-----------------------------|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|----------------------|
| Peynir                      | Çin      | <i>Kluyveromyces marxianus</i> B13-5                                                                | 489 mg/kg                                                | Y. Li vd., 2022      |
| Fermente Elma suyu          | Çin      | <i>S. cerevisiae</i> SC125                                                                          | 898,35 mg/L                                              | Sun vd., 2022        |
| Tempe                       | Tayvan   | <i>Rhizopus oryzae</i> MHU001<br><i>Rhizopus oryzae</i> MHU002<br><i>Rhizopus oryzae</i> BCRC 31837 | 7,552 g/kg<br>9,712 g/kg<br>4,122 g/kg                   | Chen vd., 2021       |
| Çeşitli süt ürünleri        | -        | <i>Kluyveromyces marxianus</i> (50 farklı suş)                                                      | Suşların GABA üretim potansiyeli 2,33 mg/L ile 7,78 mg/L | Perpetuini vd., 2020 |
| Pao cai (Çin Turşusu)       | Çin      | <i>S. cerevisiae</i>                                                                                | 1,03 g/L                                                 | Q. Zhang vd., 2020   |
| Dut birası (mullberry beer) | Çin      | <i>S. cerevisiae</i> SC125                                                                          | 2,42 g/L, (30°C, 72 saat, 5 g/L glutamate ilave edilmiş) |                      |
| Fırın ürünleri              | Slovakya | <i>S. cerevisiae</i> Hansen                                                                         | 20 mg/mL                                                 | Hudec vd., 2015      |
| Şarap                       |          | <i>S. cerevisiae</i> Klosterneuburg                                                                 | 26 mg/mL                                                 |                      |

GABA'nın; nörotransmisyon, hipotansiyonu uyarma, diüretik ve sakinleştirici etkilerinin olduğu (H. Li ve Cao, 2010), rahatlama ve uyku düzeni üzerinde olumlu etkilerinin bulunduğu (Sanacora ve Blumberg H, 2007; Yamatsu vd., 2015), bağışıklık sistemi ile ilgili hücrelerin uyarılmasında etkili olduğu bildirilmiştir (Siragusa vd.,

2007). Siragusa vd. (2007) yaptıkları çalışmada 22 farklı İtalyan peynirinin GABA konsantrasyonlarını incelemişler ve peynirlerin GABA konsantrasyonlarının 0,26-39 mg/kg arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca bu peynirlerden 440 adet LAB izole etmişler ve GABA üretme potansiyellerini incelemişlerdir. Bu izolatlardan 61 tanesinin GABA üretme aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada Kore'nin kimchi, kırmızı biber salçası, soya fasülyesi ezmesi, tuzlu karides, salatalık turşusu gibi geleneksel fermente gıdalarından 100 adet LAB izole edilmiş ve izolatlar GABA üretme potansiyeli ve GAD geni taşıması bakımından değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda kimchiden izole edilen *Lactobacillus brevis* HYE1'in %1 (a/h) MSG içeren MRS besiyerinde 48 saat sonunda en çok GABA üreten (14,64 mM) mikroorganizma olduğu bildirilmiştir (Lim vd., 2017). Yapılan başka bir çalışmada ise, İtalya'da Alp Dağları'na özgü geleneksel bir peynir olan ve çiğ inek sütünden yapılan Nostrano peynirinden LAB izole edilmiştir. İzolatların GABA üretme yetenekleri araştırılmıştır. Toplam 1059 LAB izolatı, rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA polimeraz zincir reaksiyonu (RAPD-PZR) kullanılarak taranmış ve 583 gruba ayrılmıştır. 583 gruptan 97'sinde GABA üreten suşlar tespit edilmiştir ve suşların GABA üretimleri yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile incelenmiştir. İzole edilen türler çoğunlukla *L. paracasei*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (*Str. thermophilus*) ve *Leuconostoc mesenteroides* olarak tespit edilmiştir. En çok GABA üreten türün *L. paracasei* olduğu belirlenirken, *L. lactis*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Str. thermophilus* suşlarının da GABA üretme yeteneği saptanmıştır. *Str. thermophilus*'un bir suşu 80,0 mg/kg ile en yüksek GABA üreten suş olduğu ifade edilmiştir. Çalışma sonucunda çiğ süttten elde edilen peynirler, faydalı mikrobiyal çeşitlilik ve sağlığı destekleyici yeni LAB suşlarının kaynağı olarak tanımlanmıştır. Proteolitik aktivite ile kazeinden bol miktarda glutamat açığa çıktığı ve glutamatın da mikroorganizmaların sahip olduğu enzimler sayesinde GABA'ya dönüştürüldüğü bildirilmiştir (Franciosi vd., 2015). Japonya'da yapılan bir çalışmada da geleneksel turşulardan izole edilen bir suş *L. senmaizukei* olarak tanımlanmış ve GABA ürettiği belirlenmiştir (Hiraga vd., 2008). M. J. Kim ve Kim, (2012)'in yaptığı başka bir çalışmada ise 20 kimchi örneğinden 230 adet LAB izole edilmiş ve izolatların GABA sentezleme yetenekleri araştırılmıştır. Çalışmada, 55 adet *L. plantarum*, 6 adet *L. brevis*, 4 adet *Leu. mesenteroides*, 1 adet *Leu. lactis* ve 2 adet *Weissella viridescens* olmak

üzere toplam 68 izolatin GABA sentezlediği belirlenmiştir. Perpetuini vd. (2020) çeşitli süt ürünlerinden 50 adet farklı *Kluyveromyces marxianus* suşu izole etmişler ve suşların GABA üretim potansiyelini incelemişlerdir. Tüm suşların az miktarda (2,33 mg/L ile 7,78 mg/L arasında değişmekte) GABA ürettiği tespit edilmiştir. Türkiye’de yapılan bir çalışmada lahana turşusu (LT), sauerkraut (SK) ve kimchi (KM) gibi lahana-bazlı fermente ürünlerin doğal mikrobiyotasından 72 adet LAB izole edilmiş ve izolatların GABA üretme yeteneği ve GAD enzim aktivitesi test edilmiştir. SK örneklerinden 6 adet ve KM örneklerinden 5 adet LAB suşu elde edilmiştir. Bu suşların tanımlanması sonucunda, izolatların *Lactococcus* ve *Leuconostoc* cinsindeki bakteri türlerine ait olduğu belirlenmiştir. GABA üretme yeteneğine sahip bu izolatların, starter kültür olarak kontrollü fermantasyon koşullarında SK ve KM üretimleri gerçekleştirilmiştir. SK örnekleri arasında en yüksek GABA üretimi *Lc. lactis* ssp. *lactis* 1 SK1-C29 suşunun inokule edildiği SK örneğinde (15184,0 mg GABA/kg); KM örneklerinde ise en yüksek miktar *Leu. mesenteroides* ssp. *mesenteroides* 1 KM1-C102 suşunun inokule edildiği KM örneğinde (1442,0 mg GABA/kg) örneğinde belirlenmiştir (Özer vd., 2019). Demirbaş vd., (2017), ekşi hamurdan LAB suşları izole ederek GABA üretim miktarlarını incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmanın sonucunda *Lb. plantarum* SC-9 ve ED-1 suşlarında sırasıyla 4,92 mM ve 15,47 mM GABA üretildiğini tespit ederken, *Lb. graminis* suşunda 3,90 mM GABA üretildiğini tespit etmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada ise, ekşi hamurdan izole edilen LAB’lerinin probiyotik özellikleri ve GABA üretme yeteneği belirlenmiştir. Ekşi hamur kaynaklı *Lb. plantarum* WPS-12 suşunun 0,072 mg/mL GABA ürettiği tespit edilirken, *Lc. garvieae* WPS-3’te 0,069 mg/mL ve *Lb. paracasei* WPS11’de 0,066 mg/mL ve *Lb. graminis* WPS-1 suşunda 0,048 mg/mL düzeyinde GABA ölçülmüştür.

Yüksek glutamat dekarboksilaz aktivitesine sahip mikroorganizmalar ile özellikle glutamik asit (L-Glu) bakımından zengin gıdaların fermantasyonu sonucunda GABA içeriğinin arttığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Aoki vd., 2003; Coda vd., 2010; Demirbaş vd., 2017; Franciosi vd., 2015; M. Han vd., 2020; Hiraga vd., 2008; Hudec vd., 2015; M. J. Kim ve Kim, 2012; Ko vd., 2013; Y. Li vd., 2022; Lim vd., 2017; Linares vd., 2016; Nagaoka, 2005; Ohmori vd., 2018; Ozer vd., 2022a; Özer vd., 2019; Perpetuini vd., 2020; Sahab vd., 2020; Sanchart vd., 2017; Sun vd., 2022; Q. Zhang vd.,

2020). Mikroorganizma faaliyeti sonucu GABA üretimi, ortamın pH'sına (Bhanwar vd., 2013), glutamik asit veya glutamik asit tuzlarının varlığına ve dışarıdan eklenen karbon ve azot kaynaklarına bağlı olarak değişiklik gösterdiği rapor edilmiştir (Diana, Rafecas, vd., 2014; Sahab vd., 2020; Yogeswara vd., 2021).

Bu doktora tez çalışmasında; chia ve kinoanın boza üretiminde kullanılabilme potansiyeli araştırılmış, farklı tahıl ürünleri (kinoa, chia, darı, mısır) ile elde edilen bozalardan potansiyel GABA üreticisi LAB ve mayaların izole edilmesi hedeflenmiştir. Ayrıca, tez kapsamında üretilen bozaların GABA içerikleri belirlenmiş ve GABA üreticisi olduğu belirlenen suşların probiyotik özellikleri de incelenmiştir.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Farklı Ham Maddeler ile Boza Üretimi

Tez çalışması kapsamında analize alınan tüm boza örnekleri Ömür Boza (Bozacılar Gıda Tekstil Tic. Ltd. Şti., Bursa) firması tesislerinde üretilmiştir. Boza üretimi için ham madde olarak Şekil 3.1’de gösterilen mısır (*Zea mays*), darı (*Panicum miliaceum*), chia (*Salvia hispanica*) ve kinoa (*Chenopodium quinoa*) üretilen bozayı tatlandırmak için şeker ve kıvam ayarlaması için su kullanılmıştır. Ham maddeler, Ömür Boza (Bozacılar Gıda Tekstil Tic. Ltd. Şti., Bursa) firması tarafından temin edilmiştir.



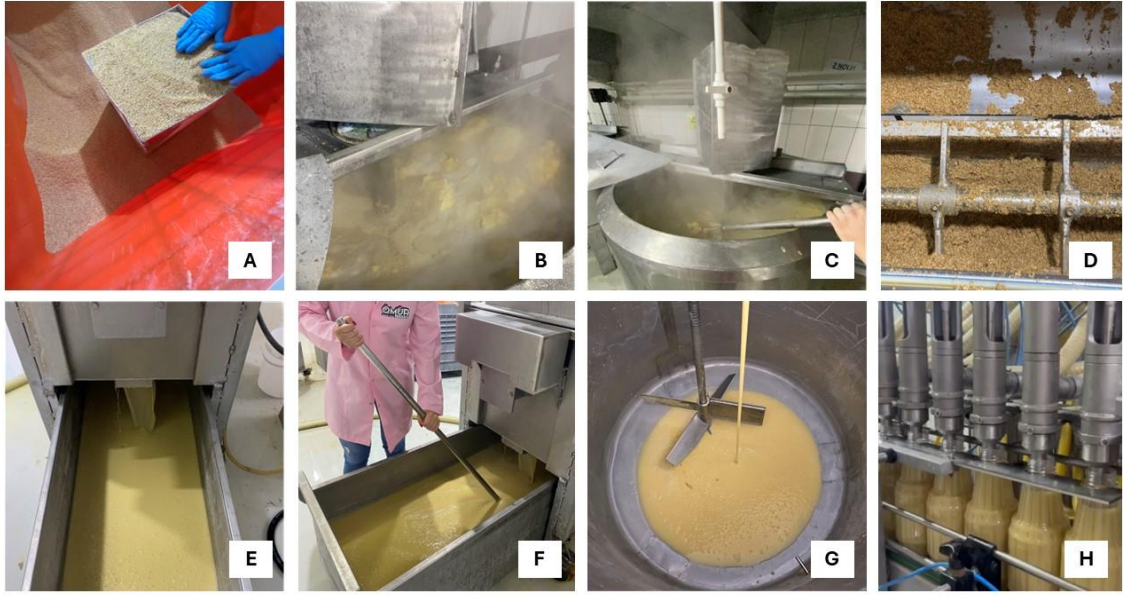
**Şekil 3.1.** Boza üretiminde kullanılan ham maddeler (soldan sağa kinoa, chia, mısır ve darı)

Boza üretiminde kullanılacak olan ham maddelerin seçiminde glutamik asit içeriği ve son ürünün duyuşal özellikleri göz önünde bulundurulmuştur. Boza üretiminde kullanılan ham maddelerin oranları ön çalışmalar ile belirlenmiştir. Buna göre; kontrol örneği (K) olarak mısır ve darıdan (9:1 oranında) hazırlanan geleneksel boza kullanılmıştır. Chia içeren boza örneğinde (C) mısır, darı ve chia sırasıyla 8:1:1 oranında, kinoa içeren boza örneğinde (Ki) mısır, darı ve kinoa sırasıyla 7,5:1:1,5 oranında hem kinoa hem de chia içeren boza örneğinde ise (CKi) mısır, darı, chia ve kinoa sırasıyla 8:1:0,5:0,5 oranında karıştırılmıştır (Çizelge 3.1).

**Çizelge 3.1.** Boza örneklerinin ham madde oranları

| <b>Boza</b>                         | <b>Kısaltma</b> | <b>Mısır</b> | <b>Darı</b> | <b>Chia</b> | <b>Kinoa</b> |
|-------------------------------------|-----------------|--------------|-------------|-------------|--------------|
| Geleneksel Boza<br>(Kontrol Örneği) | K               | 9            | 1           | -           | -            |
| Chia Katkılı Boza                   | C               | 8            | 1           | 1           | -            |
| Kinoa Katkılı Boza                  | Ki              | 7,5          | 1           | -           | 1,5          |
| Chia ve Kinoa Katkılı Boza          | CKi             | 8            | 1           | 0,5         | 0,5          |

Boza üretimi Şekil 3.2 ve Şekil 3.3'te gösterilen üretim basamakları takip edilerek yapılmıştır. Öncelikle ham maddeler yabancı maddelerden temizlenmiştir. Sonrasında mısır ve darı taneleri değirmende öğütülerek kırılmıştır. Chia ve kinoa taneleri küçük olduğu için herhangi bir öğütme işlemi uygulanmamıştır. Kırılmış tahıllar, chia ve/veya kinoa yapılacak boza örneğine uygun oranlarda karıştırılmış ve ham madde karışımının 5 katı (a/h) kadar kaynayan suya aktarılmıştır. Ham maddeler yaklaşık 2 saat boyunca arada karıştırma uygulanarak pişirilmiştir. Yumuşayan ham maddeler süzme ve posa ayırma işlemi için filtreye gönderilmiştir. Filtrede posa ve ham boza birbirinden ayrılmıştır. Ham boza fermantasyon sıcaklığına kadar soğutulmuş ve fermantasyon tankına alınmıştır. Boza üretiminde doğal (spontan) fermantasyon gerçekleştirilmiştir ve herhangi bir ticari starter kültür ilavesi yapılmamış, eski boza ilave edilmemiştir. Ham boza açık kazanda, 25°C'de, 36 saat fermantasyon odasında fermente edilmiş; fermantasyon, örneklerin pH'ı 3-4 aralığında ölçüldüğünde tamamlanmıştır. Fermantasyonu tamamlanan bozaya şeker (en az %15) ve gerekliyse su ilavesi (bozanın kıvamına göre) yapılmıştır. Daha sonra elde edilen bozalar 1L'lik pet şişelere otomatik dolum makinasıyla doldurulmuştur (Akpınar-Bayizit vd., 2010; R. Cholakov vd., 2016).



**Şekil 3.2. Boza Üretim Aşamaları**

(A) Ham madde, (B) Tahıl karışımının kaynayan suya ilave edilmesi, (C) Pişirme, (D) Süzme ve posa ayırma, (E) Ham Boza, (F) Ham bozanın karıştırılarak soğutulması, (G) Açık Kazanda Fermantasyon, (H) Şişelere dolm

Üretilen boza örneklerinden fermantasyon başlangıcında (0. saat) örnek alınmış ve fermantasyon tamamlandığında ağzı kapalı şişelerde hazırlanan bozalar soğuk koşullarda (+4°C’de) hızlıca Bursa Uludağ Üniversitesi (BUÜ) Gıda Mühendisliği Laboratuvarı’na getirilmiştir.



**Şekil 3.3. Boza üretim akış şeması**  
(Akpınar-Bayizit vd., 2010; R. Cholakov vd., 2016)

Boza örneklerinde duyuusal analizler fermentasyon sonunda (36. saat) ve soğuk depolamanın (+4°C) 6. gününde gerçekleştirilmiştir. Mikrobiyolojik analizler (toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısı, laktik asit bakterisi sayısı, maya sayısı, fekal koliform bakteri sayısı), fiziksel ve kimyasal analizler (pH, titrasyon asitliği, Briks, viskozite) ise boza örneklerine fermentasyon başlangıcında (0. saat), fermentasyon sonunda (36. saat) ve soğukta depolama boyunca ise (6. gün, 12. gün, 18. gün, 24. gün) uygulanmıştır. Fiziksel ve kimyasal analizlerden su aktivitesi tayini, gluten miktarı tayini, EPS analizi, kuru madde tayini, renk analizi ve HPLC ile GABA miktarı tayini tüm boza örneklerine yalnızca fermentasyon sonunda (36. saat) yapılmıştır. Her bir farklı boza örneğinden en az 3 şahit numune -18°C’de tez çalışması boyunca muhafaza edilmiştir.

### **3.2. Duyusal Analizler**

Duyusal analizler, BUÜ Gıda Mühendisliği Bölümü’nde gerçekleştirilmiştir. Boza örneklerinin duyuusal özellikleri tüketici beğeni testi yöntemine göre, 9 puanlı hedonik skala kullanılarak, 20 eğitimsiz panelist tarafından gerçekleştirilmiştir. Duyusal analiz formu örneği Şekil 3.4.’de verilmiştir. Boza örnekleri; panelistler tarafından, standart olarak ışıklandırılmış ortamda, koku, renk, kıvam, lezzet, ağızda bıraktığı his, tatlılık ve genel kabul edilebilirlik özellikleri üzerinden bireysel olarak, fermentasyon sonunda ve soğuk depolamanın (+4°C) 6. gününde analiz edilmiştir. Panelistlerden duyuusal değerlendirme kapsamında bozalarda algıladıkları farklı bir özellik varsa belirtmeleri de istenmiştir. (Altuğ Onoğur ve Elmacı, 2019).

Adı-Soyadı:

Tarih:

Lütfen size verilen örneklerin her bir özelliğini 1'den 9'a kadar sıralayınız.

(1: Aşırı kötü, 2: Çok Kötü, 3: Kötü, 4: Biraz Kötü, 5: Orta, 6: Biraz İyi, 7: İyi, 8: Çok İyi, 9 Mükemmel)

| Özellik                                         | ÖRNEK KODU |  |  |  |
|-------------------------------------------------|------------|--|--|--|
|                                                 |            |  |  |  |
| Koku                                            |            |  |  |  |
| Renk                                            |            |  |  |  |
| Kıvam                                           |            |  |  |  |
| Lezzet                                          |            |  |  |  |
| Ağızda bıraktığı his                            |            |  |  |  |
| Tatlılık                                        |            |  |  |  |
| GENEL KABUL EDİLEBİLİRLİK                       |            |  |  |  |
| ALGILANAN FARKLI ÖZELLİK<br>(Lütfen belirtiniz) |            |  |  |  |

Şekil 3.4. Duyusal analiz formu örneği (Berktaş, 2011)

### 3.3. Mikrobiyolojik Analizler

Boza örneklerinde fermentasyon başlangıcında (0. saat), fermentasyon sonunda (36. saat) ve soğukta depolama (+4°C) boyunca (6. gün, 12. gün, 18. gün, 24. gün) toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısı, laktik asit bakterisi sayısı, maya sayısı, fekal koliform bakteri sayısı analizleri gerçekleştirilmiştir. Mikrobiyolojik analizler BUÜ Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Örnekler analizler gerçekleştirilene kadar +4°C'de saklanmıştır.

Boza örneklerinden mikrobiyolojik analizlerde kullanmak üzere seri dilüsyonların hazırlanmasında %0,1 peptonlu su (PW, Merck, Almanya) kullanılmıştır. Toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayımı için Plate Count Agar (PCA, Merck, Almanya), LAB sayımı için %0,1 cycloheximide (Oxoid, Almanya) içeren De Man Rogosa Sharpe Agar (MRSA, Merck, Almanya), M17 Agar (M17A, Merck, Almanya), Kanamisin Esculin Azide Agar (KAA, Merck, Almanya) kullanılmıştır. Toplam maya sayımı için Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar (DRBCA, Sigma Aldrich, Almanya) besiyeri, fekal koliform bakteri sayımı için Violet Red Bile Agar (VRBA, Merck, Almanya) kullanılmıştır.

### 3.3.1. Toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayımı

Toplam aerobik mezofilik canlı bakteri (TAMB) sayımında 10 g boza örneği aseptik koşullarda 90 mL steril %0,1'lik PW'a transfer edilmiş ve seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Uygun dilüsyonlardan PCA besiyerine dökme plak yöntemine göre ekimler yapılmıştır. Petriler aerobik olarak 30°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir ve inkübasyon sonunda koloni sayımı gerçekleştirilmiştir. Toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayısı log kob/mL olarak hesaplanmıştır (FDA, 2024).

### 3.3.2. Toplam maya sayımı

Toplam maya (TM) sayımında, 10 g boza örneği aseptik koşullarda 90 mL steril %0,1'lik PW'a transfer edilmiş ve seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Uygun dilüsyonlardan DRBCA besiyerine yayma plak yöntemine göre ekimler yapılmıştır. Petriler aerobik olarak 25°C'de 3-5 gün inkübe edilmiş ve inkübasyon sonunda koloni sayımı gerçekleştirilmiştir. Toplam maya sayısı log kob/mL olarak hesaplanmıştır (FDA, 2024).

### 3.3.3. Toplam fekal koliform bakteri sayımı

Toplam fekal koliform bakteri (TFKB) sayımı için 10 g boza örneği aseptik koşullarda 90 mL steril %0,1'lik PW'a transfer edilmiş ve seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Uygun dilüsyonlardan çift katlı dökme plak yöntemiyle Violet Red Bile Agar (VRBA, Merck) besiyerine ekimler yapılmış, aerobik olarak 44,5°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Toplam fekal koliform bakteri sayısı log kob/mL olarak hesaplanmıştır (FDA, 2024).

### 3.3.4. Laktik asit bakterisi sayımı

LAB sayımında, 10 g boza örneği aseptik koşullarda 90 mL steril %0,1'lik PW'a transfer edilmiş ve seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Uygun dilüsyonlardan *Lactobacillus* spp. için %0,1 cycloheximide içeren MRSA ve *Lactococcus* spp. için M17A besiyerlerine çift katlı dökme plak yöntemine göre, *Enterococcus* spp. için KAA besiyerine yayma plak yöntemine göre ekimler yapılmıştır. Petriler aerobik olarak 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon sonunda koloni sayımı

gerçekleştirilmiştir. LAB sayısı log kob/mL olarak hesaplanmıştır (Özmen Toğay vd., 2010).

### **3.4. Fiziksel ve Kimyasal Analizler**

Fiziksel ve kimyasal analizler için, %1'lik fenolfitaleyn belirteci (Merck, Almanya), 0,1N sodyum hidroksit (NaOH, Sigma Aldrich, Almanya), %80 trikloroasetik asit (TCA, Merck, Almanya), etanol (%99, Tekkim, Türkiye), L-glutamik asit (BLD Pharm, Çin), metilen kırmızısı (Tekkim, Türkiye), metilen mavisi (Kimyalab, Türkiye), Tween 80 (Sigma Aldrich, Almanya), %0,85'lik NaCl (Merck, Almanya) kullanılmıştır.

Boza örneklerinde fermantasyon başlangıcında (0. saat), fermantasyon sonunda (36. saat) ve soğukta depolama boyunca (6. gün, 12. gün, 18. gün, 24. gün), fiziksel ve kimyasal analizler kapsamında pH ölçümü, titrasyon asitliği, Briks ölçümü, viskozite tayini yapılmıştır. Kuru madde tayini, su aktivitesi tayini, renk analizi, gluten tayini ve ekzopolisakkarit (EPS) analizi boza örneklerinde yalnızca fermantasyon sonunda (36. saat) gerçekleştirilmiştir.

Fiziksel ve kimyasal analizlerden pH ölçümü, titrasyon asitliği, kuru madde tayini, Briks ölçümü, renk analizi ve EPS analizi BUÜ Gıda Mühendisliği Bölümü ilgili laboratuvarlarında tamamlanmıştır. Su aktivitesi ölçümü Bursa Teknik Üniversitesi (BTÜ) Gıda Mühendisliği Bölümü ilgili laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Gluten tayini Ömür Boza firması tarafından hizmet alımı olarak gerçekleştirilmiş, viskozite tayini Ömür Boza firması üretim tesislerinde gerçekleştirilmiştir.

Tüm boza örneklerinin fermantasyon sonunda (36. saat) HPLC ile GABA miktarı belirlenmiştir. HPLC ile GABA miktarı tayini Trakya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Enstrümental Analiz Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir.

#### **3.4.1. pH ölçümü ve titrasyon asitliği tayini**

Boza örneklerinde pH-metre (WTW inoLab, Almanya) ile pH ölçümü yapılmıştır. Homojen olarak karıştırılan boza örneklerinden 20 mL alınmış, üzerine 20 mL saf su ve

4-5 damla %1'lik fenolfitaleyn belirteci ilave edilmiştir. 0,1 N ayarlı NaOH çözeltisi ile açık pembe renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Her bir analiz 2 paralel olarak yapılmıştır ve 0,1N NaOH sarfiyatları kaydedilmiştir. Örneklerdeki % laktik asit miktarı aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplanmıştır (Metin, 2012).

(3.1)

$$\%Laktik\ Asit = \frac{v \times 0,009 \times F}{m \times d} \times 100$$

Formülde  $v$ ; mL cinsinden tüketilen 0,1 N NaOH miktarını,  $m$ ; mL cinsinden örnek miktarını,  $d$ , g/mL cinsinden örneğin yoğunluğunu ve  $F$ ; 0,1N NaOH çözeltisinin faktörünü (1,048) belirtmektedir (Metin, 2012).

#### 3.4.2. Kuru madde, su aktivitesi, gluten, EPS tayinleri ve Briks ölçümü

Sabit tartıma gelmiş ve darası alınmış kurutma kaplarına yaklaşık 5 g boza örneği tartılıp  $100 \pm 2^\circ\text{C}$ ' de 4 saat kurutulmuştur. Daha sonra desikatörde soğutulmuş ve tartımı alınmıştır. Bulunan değerlerle % kuru madde oranı hesaplanmıştır (Anonim, 1983).

Su aktivitesi tayini su aktivitesi ölçüm cihazı (Novasina AG Labmaster, ABD) kullanılarak yapılmıştır (Cemeroğlu, 2013).

Boza örneklerinde gluten tayini hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir (Özcan vd., 2020).

EPS analizi, fermentasyon sonunda elde edilen kontrol grubu ve farklı tahıllardan elde edilen boza örneklerinde Purwandari vd. (2007)'nin kullandıkları yönteme göre yapılmıştır. Yönteme göre; yaklaşık 30 g boza örneği öncelikle  $11000 \times g$   $4^\circ\text{C}$ 'de 4 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası oluşan üst faz alınarak üzerine 2 hacim soğuk etanol ilave edilmiştir. Karışım  $4^\circ\text{C}$ 'de 12 saat bekletilmiştir. Daha sonra  $2000 \times g$   $4^\circ\text{C}$ 'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası oluşan pelet üzerine 10 mL distile su eklenmiştir ve EPS içeren çökelti çözölmüştür. Çözelti üzerine 250  $\mu\text{L}$  %80 TCA eklenmiş ve kalan proteinlerin çökmesi sağlanmıştır. Karışım  $4^\circ\text{C}$ 'de 12 saat bekletildikten sonra  $2000 \times g$   $4^\circ\text{C}$ 'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Son olarak santrifüj

sonrası oluşan, EPS içeren üst faz alınmıştır. Daha sonra distile suyla ve TCA ile yapılan EPS saflaştırma işlemi tarif edildiği şekilde bir kez daha tekrarlandıktan sonra EPS içeren karışım vakum etüvde 55°C’de sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur. Sonuç, g EPS miktarı/ kg boza olarak verilmiştir.

Boza örneklerinde refraktometre (Hanna, ABD) ile Briks ölçümü gerçekleştirilmiştir (Cemeroğlu, 2013).

#### **3.4.3. Renk tayini ve viskozite ölçümü**

Boza örneklerinde renk tayini Konica Minolta CR300 (Japonya) renk ölçüm cihazı ile gerçekleştirilmiştir (Cemeroğlu, 2013). Cihaz her ölçüm öncesi siyah yüzey ve beyaz seramik ile standardize edilmiştir. Sonuçlar  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  olarak belirtilmiş olup kontrol örneği ile aralarındaki farklar istatistiksel olarak belirlenmiştir.

$L^*$  değeri aydınlık eksenini olarak adlandırılmaktadır.  $L^*=0$  ise renk minimumunda yani siyah,  $L^*=100$  ise renk maksimumunda yani beyaz olmaktadır.  $a^*$  değeri kırmızı-yeşil eksenini olarak adlandırılmaktadır. Eğer  $a^*$  değeri pozitif (+) değerlerde ise renk kırmızı, eğer negatif (-) değerlerde ise yeşil, 0 ise nötr olmaktadır.  $b^*$  değeri sarı-mavi eksenini olarak adlandırılmaktadır.  $b^*$  değeri pozitif (+) ise renk sarı, negatif (-) değerlerde ise mavi, 0 ise nötr olmaktadır (Altuğ Onoğur ve Elmacı, 2019).

Boza örneklerinin viskozitesi Brookfield viskozimetre 30 rpm’de 4 numaralı spindle ile ölçülmüştür (Cemeroğlu, 2013).

#### **3.4.4. Farklı ham maddeler ile üretilen boza örneklerinin HPLC ile GABA miktarının belirlenmesi**

Boza örneklerinde HPLC ile GABA miktarı Le vd., 2020’e göre bazı modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir. Yöntem ekstrakt elde etme, türevlendirme ve HPLC ile analiz olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır. Yönteme göre ilk olarak örnekler (2 g), 8 mL %75 etanol ile karıştırıldıktan sonra 1 saat ultrasonik su banyosunda bekletilmiş ve 10000 rpm’de 20°C’de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant

türevlendirilmiş ve HPLC’de analiz edilmiştir (Ekstrakt elde etme aşaması). İkinci olarak türevlendirme ajanı hazırlanmıştır. Bu amaçla metanolik o-fitalaldehid (OPA; 0,512g OPA+10 mL metanol), borat tamponu (50 mL 0,5M borik asit+ 50 mL 0,5M sodyum hidroksit+3,73 g 0,5M potasyum klorür) ve 2-merkaptotanol (2-MCE) karıştırılmıştır (40:10:1, h/h/h). Daha sonra 300 µL türevlendirme ajanı, 150 µL ekstrakt/standart, 50 µL internal standart (IS, 250 mg/L suda L-novaline) karıştırılmış ve 22°C’de 2 dakika bekletilmiştir (Türevlendirme aşaması). Son olarak 20 µL türevlendirilmiş ekstrakt HPLC kolonuna (Agilent XDB C18 150 mm) enjekte edilmiştir. Standart eğri 0,1-10 ppm GABA için oluşturulmuştur. HPLC için kullanılacak çözelti A: 0.5 N Sodyum Asetat pH 7.2, çözelti B: Asetonitril %100 (%80 çözelti A, %20 çözelti B) bildirilmiştir. Akış hızı 0,8mL/dk kullanılmıştır. Agilent 1260 DAD+Floresans dedektörler kullanılmıştır. DAD 338 nm, FLD 340 nm Exication 455 nm emission ile ölçüm gerçekleştirilmiştir.

### **3.5. Boza Örneklerinden LAB ve Maya İzolasyonu**

Boza örneklerinden LAB ve maya izolasyonu için De Man Rogosa Sharpe Broth (MRSB, Merck, Almanya), M17 Broth (M17B, Merck, Almanya) ve Brain Heart Infusion Broth (BHI, Merck, Almanya), Malt Extract Broth (MEB, Sigma Aldrich, Almanya), Muller Hilton Agar (MHI, Merck, Almanya), Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar (YGCA, Merck, Almanya); izolatları -18°C’de stok olarak saklamak için gliserol (Merck, Almanya), izolatlara katalaz testi uygulaması için %3’lük hidrojen peroksit (Tekkim, Türkiye) ve izolatların Gram boyamaları için Gram boyama kiti (Kimyalab, Türkiye) kullanılmıştır.

Boza örneklerinden LAB ve maya izolasyonu amacıyla, petri üzerindeki kolonilerden farklı morfolojik özelliğe sahip olanlar seçilmiştir. Seçilen koloniler öze ile 5 mL uygun sıvı besiyerine aktarılmış ve uygun inkübasyon koşullarında inkübe edilmiştir (Çizelge 3.2). İnkübasyondan sonra tek koloni düşürme tekniği ile uygun katı besiyerine aktarılmış (saflaştırma) ve uygun sıcaklıkta inkübe edilmiştir (Çizelge 3.2). Petrilerde tek gelişen kolonilerden 5 mL’lik uygun sıvı besiyerine inoküle edilerek uygun sıcaklıkta (Çizelge 3.2) inkübe edilmiştir (Bağcı, 2012).

**Çizelge 3.2.** Boza örneklerinden elde edilen izolatların aktifleştirildikleri sıvı ve katı besiyerleri ve inkübasyon koşulları

| İzolatin alındığı besiyeri | İzolatin aktifleştirildiği sıvı besiyeri | İzolatin aktifleştirildiği katı besiyeri | İnkübasyon Koşulları |
|----------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|----------------------|
| MRSA                       | MRSB                                     | MRSA                                     | 30°C'de 24 saat      |
| M17A                       | M17B                                     | M17A                                     | 30°C'de 24 saat      |
| KAAs                       | BHI                                      | MHI                                      | 37°C'de 24 saat      |
| DRBCA                      | MEB                                      | YGCA                                     | 25°C'de 3-5 gün      |

LAB'leri Gram boyama kiti kullanılarak boyanmış ve ışık mikroskopunda incelenmiştir. İzolatların boyanması kit içerisindeki prosedür uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, izolatların 24 saatlik taze sıvı kültüründen öze ile temiz bir lama aktarılmış ve lam üzerinde kurumaya bırakılmıştır. Lam üzerindeki kurumuş kültür, lamın üç kez alevden geçirilmesi ile fiksasyona tabi tutulmuştur. Fiksasyon sonrasında kristal viyole boyası fikse edilen kültür üzerine damlatılmış ve 1 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda boyanın fazlası dökülmüş ve lam su ile yavaşça yıkanmıştır. Lamdaki kültür üzerine Gram iyot çözeltisinden damlatılmış ve 1 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda çözeltinin fazlası dökülmüş ve lam su ile yavaşça yıkanmıştır. Lamdaki kültür üzerine %96'lık etil alkol damlatılmış ve 10 saniye bekletilmiştir. Süre sonunda etil alkolün fazlası dökülmüş ve lam su ile yavaşça yıkanmıştır. Lamdaki kültür üzerine safranin boyası damlatılmış ve 30 saniye bekletilmiştir. Süre sonunda boyanın fazlası dökülmüş ve lam su ile yavaşça yıkanmış ve sonrasında kurumaya bırakılmıştır. Kuru lamlar mikroskopta yağlı objektifte (x100) incelenmiştir. Mikroskop ile incelenen izolatlardan Gram pozitif olduğu tespit edilen LAB izolatlarına katalaz testi uygulanmıştır. Bu amaçla temiz bir lam üzerine izolatların 24 saatlik taze sıvı kültüründen öze ile bir damla aktarılmıştır. Kültür üzerine %3'lük hidrojen peroksit çözeltisinden damlatılmış ve gaz çıkışı gözlenmiştir. Gaz oluşumunun gözlenmesi katalaz pozitif reaksiyon olarak belirlenmiştir (Bağcı, 2012). Gram pozitif ve katalaz negatif özellikteki LAB izolatları ileri testler için gliserol stoğuna alınmıştır.

Maya izolatlarının yaş preparatı hazırlandıktan sonra izolatlar mikroskopta incelenmiştir. Bu amaçla maya izolatlarının 24 saatlik taze sıvı kültürlerinden temiz bir lam üzerine öze ile bir damla aktarılmıştır. Kültür üzerine hava kalmayacak şekilde

temiz bir lamel kapatılmış ve hazırlanan yaş preparat mikroskopta incelenmiştir (Bağcı, 2012).

Mikroskopta incelenen izolatlar saf kültür halinde değilse saflaştırma aşamasına saf kültür elde edilene kadar devam edilmiştir. İzolatlar saf kültür olarak son konsantrasyon %30 (h/h) olacak şekilde gliserol stoğa alınmış, -18°C’de muhafaza edilmiştir (Bağcı, 2012).

### **3.6. Boza Örneklerinden İzole Edilen LAB ve Mayaların PIM Yöntemi ile GABA Üretim Potansiyellerinin Belirlenmesi**

Gram pozitif ve katalaz negatif olduğu belirlenen LAB ve maya izolatlarının GABA üretme yeteneklerini tespit etmek amacıyla glutamat dekarboksilaz (GAD) enzim faaliyetinin varlığı PIM ile tespit edilmiştir (Diana, Rafecas, vd., 2014; Yang vd., 2006).

Yöntem ile GABA üretim potansiyeli test edilen izolatların 24 saatlik taze kültürlerini hazırlamak için izolatlar stoktan %2 oranında (h/h) Çizelge 3.2’te verilen izolata uygun 10 mL sıvı besiyerine aktarılmış ve uygun inkübasyon koşullarında geliştirilmiştir. Daha sonra 24 saatlik taze kültürler, 50 mL uygun besiyerine %2 oranında inoküle edilmiş ve 48 saat uygun sıcaklıkta inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda kültürler 5000xg’de 4°C’de 15 dakika (mayalar için 10000xg’de) santrifüj edilmiş ve ortamdaki besiyeri uzaklaştırılmıştır. Daha sonra %0,85’lik steril NaCl çözeltisi ile hücreler yıkanmış, vorteks cihazında karıştırılmış ve 5000xg’de 4°C’de 15 dakika (mayalar için 10000xg’de) santrifüj edilmiştir. Bu işlem üç kez tekrarlanmıştır. Ardından hücreler 10 mL L-glutamik asit+Tween 80 solüsyonu (0,1 mmol/L Tween 80 içeren 50 mmol/L L-glutamik asit solüsyonu) içerisinde süspanse edilmiştir. Süspansiyon 0,5 N HCl ile pH’sı ayarlanarak 37°C de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. 7. gün sonunda örnekler 5000xg’de 4°C’de 15 dakika (mayalar için 10000xg’de) santrifüj edilmiş ve üst faz test edilmek üzere tüplere alınmıştır. Süpernatantın bir kısmı ayrılmış ve üzerine birkaç damla kompleks pH indikatör çözeltisi damlatılarak örneklerin renk değişimleri gözlenmiştir (Diana, Rafecas, vd., 2014; Yang vd., 2006). Süpernatantın diğer bir kısmı ayrılarak -18°C’de muhafaza edilmiş ve daha sonradan probiyotik özellikleri bulunan

izolatlara ait süpernatantların içerdiği GABA miktarları kantitatif olarak Bölüm 3.4.4'te anlatılan yöntemle göre HPLC ile belirlenmiştir.

**Kompleks pH indikatörünün hazırlanması:** İndikatör çözeltisi için 0,2 g metil kırmızısı ve 0,1 g metilen mavisi ayrı ayrı 100 mL etanolde (mutlak etanol; %100) çözündürülmüştür. Daha sonra bu iki çözelti 1:1 (h/h) oranında karıştırılarak kompleks pH indikatör çözeltisi hazırlanmıştır. Analiz sonucu oluşan renge göre değerlendirilmiştir. Morumsu-kırmızıdan yeşile bir renk dönüşümü GABA üretimi göstergesi olarak belirlenmiştir (Diana, Rafecas, vd., 2014; Yang vd., 2006).

### **3.7. Boza Örneklerinden İzole Edilen GABA Üreticisi İzolatların Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi**

Boza örneklerinden izole edilen GABA üreticisi izolatların probiyotik özelliklerini belirlemek için; bazı Gram negatif bakterilerden *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 ve Gram pozitif bakterilerden *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecium* M74, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Listeria innocua* ATCC 33090, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644'e karşı antimikrobiyal aktiviteleri, bazı antibiyotiklere karşı dirençleri, düşük pH ve çeşitli safra tuzu konsantrasyonuna dirençleri ve *in vitro* sindirim modelindeki davranışları incelenmiştir.

#### **3.7.1. İzolatların antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi**

Boza örneklerinden izole edilen GABA üreticisi LAB ve maya izolatlarının probiyotik özelliklerini belirlemek için; bazı Gram negatif bakterilerden *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 ve Gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterococcus faecium* M74, *Listeria innocua* ATCC 33090 ve *Listeria monocytogenes* ATCC 7644'e karşı antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir.

Gliserol stoktaki izolatların aktiveleştirilmesinde ve antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde Çizelge 3.2'de verilen besiyerleri kullanılmıştır. Test bakterisi

kültürlerinin geliştirilmesinde Nutrient Broth (NB, Merck, Almanya) ve Nutrient Agar (NA, Merck, Almanya) kullanılmıştır. İzolatların antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi için “agar damlatma” ve “agar difüzyon” teknikleri ayrı ayrı uygulanmıştır (S. D. Todorov vd., 2008).

**-Agar Damlatma Testi:** Antimikrobiyal etki spektrumları belirlenecek olan LAB ve mayaların 24 saatlik sıvı kültürlerinden, uygun besiyerine (Çizelge 3.2) damla şeklinde 2 µL inokule edilmiştir. Petri kutuları daha sonra uygun koşullarda (Çizelge 3.2) inkübe edilmiştir. NB besiyerinde 37°C'de 24 saat aktifleştirilmiş test bakterisi kültürlerinden %0,75 agar içeren 10 mL NA besiyerine 10 µL miktarda eklenip karıştırılmış ve bu karışım katı besiyerinde geliştirilen damlatma kültürlerin üzerine dökülmüştür. Petri kutuları daha sonra 37°C'de 24 saat daha inkübe edilmiştir. LAB ve maya izolatlarının test bakterilerine karşı antimikrobiyal aktiviteleri, inkübasyon sonunda damlatma kültürler etrafında oluşan şeffaf inhibisyon zonları yönüyle değerlendirilmiştir (S. D. Todorov ve Dicks, 2007).

**- Agar Difüzyon Testi:** Agar difüzyon tekniğinde ise uygun besiyerinde uygun inkübasyon koşullarında (Çizelge 3.2) aktifleştirilen izolatlar 10000xg'de 4°C'de 10dakika santrifüjlenerek süpernatant kısım kullanılmak üzere ayrılmıştır. Elde edilen süpernatantlar 0,22 µm gözenek çaplı steril membran filtreden geçirilerek hücre içermeyen süpernatantlar elde edilmiştir. Aktifleştirilmiş 0,1 mL test bakteri kültürü %0,75 agar (a/h) içeren 20 mL miktardaki NA besiyeri içine ilave edilip karıştırılarak steril Petri kutularına dökülmüş ve buzdolabı içerisinde 2 saat bekletilerek katılaşması sağlanmıştır. Katılaştıran agar yüzeyine 1 mL'lik steril otomatik pipet uçları kullanılarak 9 mm çapında kuyucuklar açılmış ve her bir kuyucuk içine çalışılan izolatların hücre içermeyen süpernatantlarından 100 µL miktarda ayrı ayrı eklenmiştir. İzolatların antimikrobiyal aktiviteleri, Petri kutularının inkübasyonunun ardından kuyucuklar etrafında oluşan şeffaf inhibisyon zonları kumpas yardımı ile ölçülerek belirlenmiştir (S. D. Todorov vd., 2008; S. D. Todorov ve Dicks, 2007).

### 3.7.2. İzolatların antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi

Boza örneklerinden izole edilen GABA üreticisi LAB ve maya izolatlarından yalnızca bazı LAB izolatları antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bu izolatların probiyotik özelliklerinin belirlenebilmesi için bir sonraki aşama olarak izolatların antibiyotik dirençleri belirlenmiştir. Bu amaçla disk difüzyon yöntemi (CLSI, 2017) kullanılmıştır.

Yönteme göre test edilecek LAB izolatları MRSB besiyerine ekilip 37°C'de 24 saat inkübe edilerek canlandırılmış ve bu kültürlerden 0,5 McFarland standardına uygun bulanıklıkta steril %0,85'lik NaCl içerisinde süspansiyon hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonlardan MHI yüzeyine yayılmış ve ardından antibiyotik diskler her Petri kutusuna 3 adet disk olacak şekilde yerleştirilmiştir. 37°C'de 24 saatlik inkübasyonun ardından antibiyotik diskler etrafında oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek izolatların antibiyotiklere duyarlılık ya da dirençlilik durumları ilgili standartlarla (Çizelge 3.3) karşılaştırılarak değerlendirilmiştir (CLSI, 2017).

**Çizelge 3.3.** Antibiyotik direnç analizinde kullanılan antibiyotikler ve konsantrasyonları (CLSI, 2017)

| Etki Mekanizması                   | # | Antibiyotik   | Kısaltması | Konsantrasyon | Zon Çapı (mm) |       |     |
|------------------------------------|---|---------------|------------|---------------|---------------|-------|-----|
|                                    |   |               |            |               | R             | I     | S   |
| Hücre duvarı sentezi inhibitörleri | 1 | Vankomisin    | VA         | 30µg/disk     | ≤14           | 15-16 | ≥17 |
|                                    | 2 | Tetrasiklin   | TE         | 30µg/disk     | ≤14           | 15-18 | ≥19 |
|                                    | 3 | Eritromisin   | E          | 10µg/disk     | ≤13           | 14-22 | ≥23 |
| Protein sentezi inhibitörleri      | 4 | Kloramfenikol | C          | 30µg/disk     | ≤12           | 13-17 | ≥18 |
|                                    | 5 | Streptomisin  | S          | 10µg/disk     | 11            | 12-14 | ≥15 |
|                                    | 6 | Gentamisin    | CN         | 10µg/disk     | ≤12           | -     | ≥13 |

R:dirençli, S: duyarlı, I:orta derecede dirençli/duyarlı

### 3.7.3. İzolatların *in vitro* sindirim modelindeki davranışının belirlenmesi

Boza örneklerinden izole edilen GABA üreticisi, antimikrobiyal aktiviteye sahip, antibiyotik duyarlılığı bulunan LAB izolatlarının *in vitro* sindirim modelindeki davranışlarının analizi Nazzaro vd., (2012)'ye göre yapılmıştır. Yönteme göre yapay

mide suyu olarak 3 g/L pepsin içeren son pH 2.0'ye ayarlanmış MRSB kullanılmıştır. Yapay bağırsak sıvısı, 1 g/L pankreatin ve 4,5 g/L safra tuzu içeren MRSB'den oluşmuştur. Her iki yapay ortam da 0,22 µm membran filtre ile sterilize edilmiştir. LAB izolatlarının 24 saatlik taze kültürleri 5000xg'de 4°C'de 15 dakika santrifüj edilip, iki kez fizyolojik su ile yıkandıktan sonra pelet elde edilmiştir. Yapay mide suyunda süspanse edilen pelet 37°C'de 3 saat inkübe edilmiş ve santrifüjlenerek yeniden pellet elde edilmiştir. Steril fizyolojik su ile yıkanan pelet yapay bağırsak sıvısı ile (4,5 mL/100 mL) resüspanse edilmiştir. Örnekler 37°C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Her aşamada LAB sayımı için örnek alınmış ve MRSA'ya ekim yapılmıştır. Petri kapları 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiş ve sayım alınmıştır.

#### **3.7.4. İzolatların safra tuzu ve düşük pH direncinin belirlenmesi**

Boza örneklerinden izole edilen GABA üreticisi, antimikrobiyal aktiviteye sahip, istenilen antibiyotik duyarlılığına sahip olan ve *in vitro* sindirim modelinde canlı kalmayı başaran izolatların safra tuzu ve düşük pH'ya dirençleri belirlenmiştir.

İzolatların safra tuzu direncinin test edilmesi amacıyla, MRSB'deki 24 saatlik taze kültürleri, son konsantrasyonda %0,3 (a/h) safra tuzu (Merck, Almanya) içeren tüplerdeki MRSB besiyerlerine %4 (h/h) oranında inoküle edilmiştir. Tüpler 30°C'de inkübe edilmiş, taze kültürden ve 0., 1., 4. ve 24. saatlerde örnek alınarak uygun dilüsyonlarından yayma plak yöntemine göre MRSA besiyerine ekim yapılmıştır. Petriler 30°C'de 48 saat inkübe edildikten sonra sayım sonucu belirlenmiştir (Klingberg vd., 2005).

İzolatların düşük pH'ya dirençlerinin belirlenebilmesi için MRSB'deki 24 saatlik taze kültürleri, pH değeri 3 ve 7'ye ayarlanan MRSB besiyerlerine %4 oranında inoküle edilmiştir. Tüpler 30°C'de inkübe edilmiş, taze kültürden ve 0., 1., ve 4. saatlerde pH=3 ve pH=7 olarak ayarlanan besiyerlerinden örnek alınarak uygun dilüsyonlarından yayma plak yöntemine göre MRSA besiyerine ekim yapılmıştır. Petriler 30°C'de 48 saat inkübe edildikten sonra sayım sonucu belirlenmiştir (Klingberg vd., 2005).

### **3.8. Boza Örneklerinden İzole Edilen GABA Üreticisi ve Probiyotik Potansiyeli Olan İzolatların Tanımlanması**

Probiyotik ve psikobiyotik özellikler yönünden pozitif bulunan LAB izolatlarının 16S rRNA dizi analizi ile tanımlamaları hizmet alımı yoluyla Aquatayf firması tarafından gerçekleştirilmiştir (Tamura vd., 2021). Bu amaçla izolatların DNA'ları Intron G-Spin DNA Ekstraksiyon kiti (katalog numarası 17045) kullanılarak izole edilmiştir. DNA amplifikasyonu için 16S rRNA Forward (27f) AGAGTTTGATCTGGCTCAG ve 16S rRNA Reverse (rP2) ACGGCTACCTTGTTACGACTT primerleri (Oligomer) kullanılmıştır. PZR karışımı için 3,5 µL dH<sub>2</sub>O, 5,5 µl 5X PCR Dye Master Mix II (1X PZR karışımının 25 µL'sinde 0,75U Taq DNA polimeraz, reaksiyon tampon çözeltisi, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 250 µM dNTP ve enzim stabilizatörü bulunmaktadır), 10 picomole/µL 16S rRNA primeri ve 16S rRNA Forward primeri kullanılmıştır. İzolatların DNA örnekleri 94°C'de 1 dakikada denatüre edilmiştir. Sonrasında PZR, 94°C'de 1 dakika, 57°C'de 1 dakika, 72°C'de 1 dakika ve 72 °C'de 10 dakika 40 döngü olacak şekilde uygulanmıştır (Tamura vd., 2021).

PZR ürünleri %0,5'lik agaroz içeren jelde yürütülmüştür. Jel, DNR-BIOIMANING SYSTEMS jel dökümantasyon programı kullanarak görüntülenmiştir. Jel elektroforezi için öncelikle 0,8 gr agaroz tartılmış ve 150 mL 1X TAE buffer içerisinde kaynatılıp, erimesi sağlanmıştır. Jel, 40°C'ye kadar soğuduktan sonra, 4 µL Red Safe eklenmiştir. Jel, elektroforez tankına aktarılmış ve taraklar yardımıyla jel kuyucukları hazırlanmıştır. Jelin üzerine 1× TAE, tank içerisinde jelin üzerini kapatacak şekilde dökülmüştür. Daha sonra 10 µl'lik PZR ürünü, 1µL of Gel 6X Loading Buffer ile karıştırıldıktan sonra jelin kuyucuğuna yüklenmiştir. Referans olarak 8 µL DNA moleküler ağırlık işaretleyici kullanılmıştır. PZR ürünleri, 30 dakika 100V/80 mA'de jelde yürütülmüştür. Jel UV altında görüntülenmiş ve fotoğraflanmıştır. PZR ürünleri EXO-SAP saflaştırma kiti kullanılarak saflaştırılmıştır. Sonrasında, BIG-DYE cycle sequencing kit kullanılarak ABI 3500 cihazında dizileme işlemi gerçekleştirilmiştir. İzolatın moleküler karakterizasyonu için Forward ve Reverse primerleri ile elde edilen dizileme sonuçları Bioedit Programı kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen diziler NCBI nucleotide BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) veri tabanı kullanılarak veri bankasındaki

dizileme sonuçları ile eşleştirilmiştir. Referans türlerin nükleotid dizileri NCBI Gene Bank web sayfasından indirilerek incelenmiştir. Çoklu dizi analizi BioEdit sequence alignment editor v7.2.5 (12/11/2013) programı ile gerçekleştirilmiştir. Filogenetik ağaç, filogenetik analiz programı MEGA-X version 10.2.2 ile elde edilmiştir. Filogenetik ağaç oluşturulurken Neighbour-joining yöntemi ve 1000 bootstrap değeri kullanılmıştır (Tamura vd., 2021).

### **3.9. İstatistiksel Analizler**

Çalışmada tüm analizler iki paralel ve iki tekrar olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Çalışmadan elde edilen veriler çizelgelerde ortalama değer  $\pm$  standart sapma olacak şekilde gösterilmiştir. Analiz sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesinde ANOVA ve post-hoc olarak Tukey testi kullanılmıştır ( $p<0,05$ ). İstatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesinde Minitab 17 (Minitab Statistical Software, USA) paket programı kullanılmıştır.

#### 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

##### 4.1. Duyusal Analiz Sonuçları

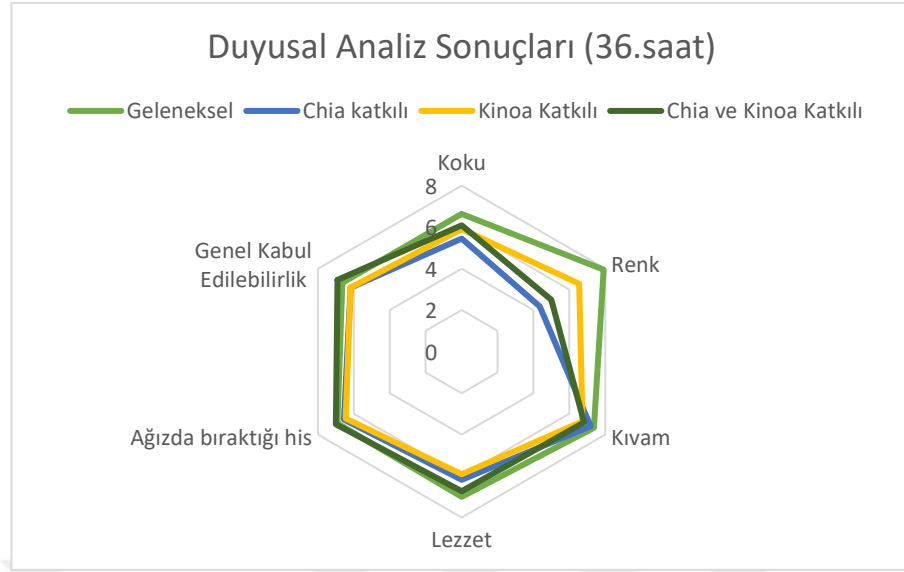
Bu çalışmada, farklı ham maddelerden üretilen dört farklı boza örneği (geleneksel boza, chialı boza, kinoalı boza, chialı ve kinoalı boza) Bölüm 3.2’de anlatıldığı şekilde duyusal değerlendirmeye alınmıştır. Tez kapsamında üretilen boza örneklerinin fermantasyon sonunda (36. saat) ve 6 gün soğuk depolama sonrasında gerçekleştirilen duyusal analiz sonuçları Çizelge 4.1, Çizelge 4.2, Şekil 4.1 ve Şekil 4.3’te verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Boza örneklerinin 36. saat duyusal analiz sonuçları

| Örnek Kodu    | Koku                   | Renk                    | Kıvam                     |
|---------------|------------------------|-------------------------|---------------------------|
| K             | 6,64±1,91 <sup>a</sup> | 7,91±1,76 <sup>a</sup>  | 7,36±1,91 <sup>a</sup>    |
| C             | 5,50±1,92 <sup>a</sup> | 4,36±1,57 <sup>b</sup>  | 7,18±2,04 <sup>a</sup>    |
| Ki            | 5,91±2,21 <sup>a</sup> | 6,55±2,12 <sup>ab</sup> | 6,73±1,90 <sup>a</sup>    |
| CKi           | 6,10±2,07 <sup>a</sup> | 5,00±2,32 <sup>b</sup>  | 6,82±2,27 <sup>a</sup>    |
| En az -En çok | 5,50-6,64              | 4,36-7,91               | 6,73-7,36                 |
| Örnek Kodu    | Lezzet                 | Ağızda bıraktığı his    | Genel Kabul Edilebilirlik |
| K             | 7,00±1,90 <sup>a</sup> | 6,91±1,76 <sup>a</sup>  | 6,64±2,20 <sup>a</sup>    |
| C             | 6,18±2,40 <sup>a</sup> | 6,55±2,12 <sup>a</sup>  | 6,18±1,72 <sup>a</sup>    |
| Ki            | 5,91±1,58 <sup>a</sup> | 6,46±1,29 <sup>a</sup>  | 6,18±1,25 <sup>a</sup>    |
| CKi           | 6,73±1,68 <sup>a</sup> | 7,00±2,10 <sup>a</sup>  | 6,91±1,97 <sup>a</sup>    |
| En az -En çok | 5,91-7,00              | 6,46-7,00               | 6,18-6,91                 |

Sonuçlar aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. K: Geleneksel boza (kontrol); C: Chia katkılı boza, Ki: Kinoa katkılı boza, CKi: Chia ve Kinoa katkılı boza

Boza örneklerinin koku, kıvam, lezzet, ağızda bıraktığı his ve genel kabul edilebilirlik özellikleri kapsamında 36. saat duyusal değerlendirme sonuçları incelendiğinde, örnekler (K, C, Ki ve CKi) arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Boza örneklerinin genel kabul edilebilirlik özellikleri incelendiğinde istatistiksel olarak diğerlerinden farklı olmasa da en yüksek skoru 36. saat sonunda CKi örneği almıştır.



**Şekil 4.1.** Boza örneklerinin 36. saat duyu analizi sonucunun örümcek ağı grafiğinde gösterimi

Boza örneklerinin 36. saat sonrasında yapılan duyu değerlendirme sonuçlarına göre renk özellikleri birbirlerinden istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Sonuçlara göre renk özelliği açısından en çok tercih edilen boza olarak K örneği bulunmuştur. Renk özelliğinde K örneğini tercih bakımından Ki, CKi ve C örnekleri takip etmiştir (Şekil 4.1). Yapılan bir çalışmada ham madde olarak pirinç, darı, mısır ve buğday kullanılarak çeşitli özelliklerde bozalar üretilmiştir. Çalışmanın duyu analiz sonuçlarına göre pirinçten üretilen boza örneğinin rengi beyazımsı olduğu için en az tercih edilen örnek olmuştur. Tüketicilerin genellikle sarımsı renkteki bozaları tüketmeye daha yatkın oldukları sonucuna varılmıştır (Akpınar-Bayizit vd., 2010). Ham maddenin niteliği bozanın renk özelliğine etki etmektedir. Tez kapsamında üretilen boza örneklerinde de Şekil 4.2’de görüldüğü gibi ham maddenin çeşidi ve oranları değiştikçe üretilen bozaların renklerinde de değişimler meydana gelmiştir.



**Şekil 4.2.** Farklı ham maddeler kullanılarak üretilen boza örnekleri  
(1: chia katkılı boza örneği, 2: kinoa katkılı boza örneği, 3: chia ve kinoa katkılı boza örneği, 4: geleneksel boza örneği)

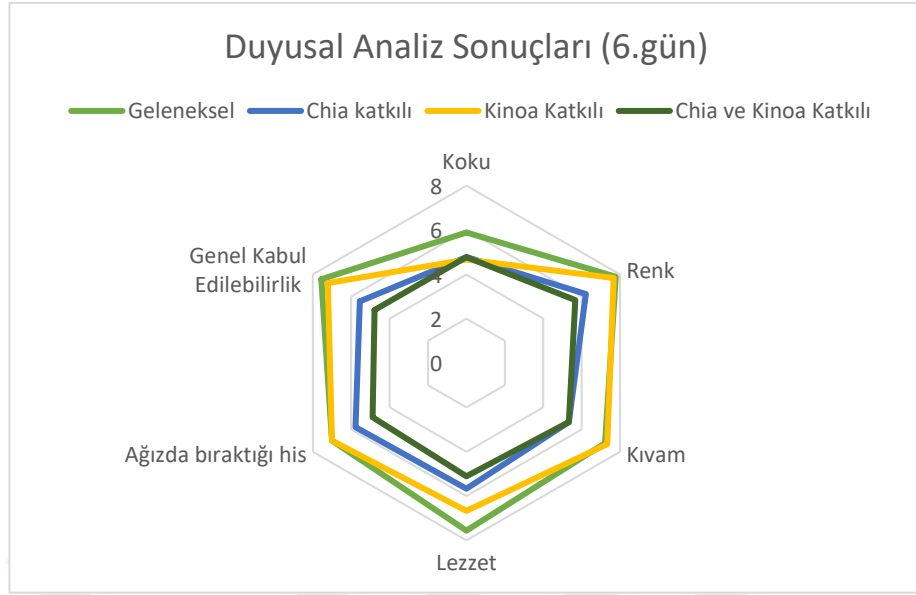
Duyusal analiz sırasında panelistler 36. saat sonunda K örneğinde, alkol aroması, metalik tat, depo kokusu/aroması, yoğun maya kokusu, plastik tadı; C örneğinde, tanımlanamayan yabancı tat, yutulduğunda plastik gibi bir ağız hissi, fermente tat, koyuluk, pütürlülük, tahıl aroması, tarçın, salep aroması, vanilya, krema aroması, meyveli aroma, çilek aroması baskınlığı hissetmiştir. Panelistler, Ki örneğinde, çok yoğun maya kokusu, pütürlülük, kokusuzluk, ekşimsilik; CKi örneğinde, koyuluk, pütürlülük, yoğun aromalı gibi farklı özellikler algılamıştır. Ayrıca tüm örneklerde buruk tat algılanmıştır. Her bir boza örneğinde panelistlerin farklı aroma, koku ve lezzet bileşenlerini algılamış olması boza örneklerinin ham madde içeriklerinin farklılığı ile açıklanabilmektedir. Ham madde tipinin ve miktarlarının değişmesiyle birlikte boza üretiminde fermantasyonda kullanılan karbon kaynağının, ortamdaki azot kaynağının, lipidlerin ve büyüme faktörlerinin değişmesi yeni oluşan üründeki metabolitlerin ve miktarlarının da değişmesine yol açmaktadır (Coda vd., 2010; Di Cagno vd., 2011; Lorusso vd., 2018).

**Çizelge 4.2.** Boza örnekleri soğuk depolama (+4°C) 6. gün duyuusal analiz sonuçları

| Örnek Kodu           | Koku                    | Renk                    | Kıvam                     |
|----------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|
| K                    | 5,89±1,97 <sup>a</sup>  | 7,78±1,09 <sup>a</sup>  | 7,22±0,97 <sup>a</sup>    |
| C                    | 4,78±1,20 <sup>a</sup>  | 6,22±1,71 <sup>ab</sup> | 5,33±1,73 <sup>a</sup>    |
| Ki                   | 4,67±1,50 <sup>a</sup>  | 7,67±0,87 <sup>ab</sup> | 7,33±1,12 <sup>a</sup>    |
| CKi                  | 4,78±1,39 <sup>a</sup>  | 5,67±2,45 <sup>b</sup>  | 5,33±2,55 <sup>a</sup>    |
| <b>En az -En çok</b> | <b>4,67-5,89</b>        | <b>5,67-7,78</b>        | <b>5,33-7,33</b>          |
| Örnek Kodu           | Lezzet                  | Ağızda bıraktığı his    | Genel Kabul Edilebilirlik |
| K                    | 7,56±0,53 <sup>a</sup>  | 7,00±0,50 <sup>a</sup>  | 7,56±1,33 <sup>a</sup>    |
| C                    | 5,67±2,06 <sup>ab</sup> | 5,78±2,17 <sup>a</sup>  | 5,56±2,19 <sup>ab</sup>   |
| Ki                   | 6,67±1,23 <sup>ab</sup> | 7,00±1,32 <sup>a</sup>  | 7,22±0,83 <sup>a</sup>    |
| CKi                  | 5,11±1,83 <sup>b</sup>  | 4,89±2,09 <sup>a</sup>  | 4,78±2,44 <sup>b</sup>    |
| <b>En az -En çok</b> | <b>5,11-7,56</b>        | <b>4,89-7,00</b>        | <b>4,78-7,56</b>          |

Sonuçlar aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Farklı örneklerin aynı parametresi için farklı harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. K: Geleneksel boza (kontrol); C: Chia katkılı boza, Ki: Kinoa katkılı boza, CKi: Chia ve Kinoa katkılı boza

Tez kapsamında üretilen boza örnekleri 6 gün boyunca +4°C’de depolandıktan sonra gerçekleştirilen duyuusal değerlendirme sonuçlarına göre, boza örneklerinin koku, kıvam ve ağızda bıraktığı his özellikleri arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Renk özelliği açısından soğuk depolama 6. gün duyuusal değerlendirme sonuçları incelendiğinde 36. saat sonrasında elde edilen duyuusal değerlendirme sonuçlarına benzer bir sonuç elde edilmiştir ( $p<0,05$ ). Sonuçlara göre renk ve lezzet özelliği açısından en çok tercih edilen boza örneği 6. gün sonunda K örneği olarak bulunmuştur. Renk ve lezzet özelliğinde K örneğini tercih bakımından Ki, C, CKi örnekleri takip etmiştir. C örneği ile Ki örneğinin duyuusal değerlendirme renk ve lezzet sonuçları arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Genel kabul edilebilirlik açısından 6. gün depolama sonunda boza örnekleri incelendiğinde K ve Ki örnekleri en yüksek skoru alarak en tercih edilen boza örnekleri olmuştur ( $p>0,05$ ). Bu örnekleri, genel kabul edilebilirlik açısından 6. gün depolama sonunda C örneği ve sonrasında da CKi örneği takip etmiştir ( $p<0,05$ ).



**Şekil 4.3.** Boza örneklerinin soğuk depolama (+4°C) 6. gün duyusal analiz sonuçlarının örümcek ağı grafiğinde gösterimi

Altı günlük soğuk depolama sonunda panelistler tarafından chialı boza örneğinde, aroma tadı, çok koyu/katı kıvam, yapışkanlık, koyu renk, yoğun maya tadı, buruk tat; kinoalı boza örneğinde, fazla akışkanlık, ekşi tat, yapışkanlık, tahıl aroması; chia ve kinoa katkılı boza örneğinde, pütürlülük, tahıl aroması, koyu renkli, çok koyu/katı kıvam gibi farklı duyusal özellikler algılanmıştır. Ham maddenin çeşidi soğuk depolama sırasında bozanın akışkanlığının artmasına veya daha kıvamlı bir hal almasına etki eden bir parametredir (Anlı ve Şanlıbaba, 2019). Ham maddenin içerisindeki nişasta, selüloz, protein (glutenin ve gliadin) ve lipid içeriği, nişastanın jelleşme ve çirşlenme özellikleri, mikrobiyotanın EPS üretme potansiyeli soğukta depolanan bozaların koku, lezzet ve kıvamındaki değişimde etkisi olan parametreler olabilmektedir (Altay vd., 2013; Berktaş, 2011; Ertaş, N., Aslan, M., Yağcılar, 2019; Heperkan vd., 2014).

Boza içerisinde canlı ve kompleks bir mikrobiyotayı barındıran farklı ham maddelerden üretilen fermente bir tahıl içeceğidir. Boza örneklerinin soğukta depolama aşamasında duyusal özelliklerinde değişimler meydana gelmiştir. Bunun sebebi soğukta depolama sırasında bozada bulunan mikroorganizmaların faaliyeti sonucunda fermantasyonun yavaş bir hızda da olsa devam ediyor olması olarak açıklanabilmektedir (Ertaş vd., 2019; Levent ve Algan Cavuldak, 2017; Sağlam vd., 2018). Bu nedenle 36

saat fermente edilmiş boza örneklerinin duyuşal özellikleri ile 6. gün soğukta depolanmış boza örneklerinin duyuşal özelliklerinin birbirlerinden farklı olduğu gözlenmiştir.

## 4.2. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

### 4.2.1. Toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayımı

Tez kapsamında üretilen boza örneklerine ait fermentasyon ve soğuk depolama boyunca TAMB sayımı sonuçları Çizelge 4.3 ve Şekil 4.4'te verilmiştir.

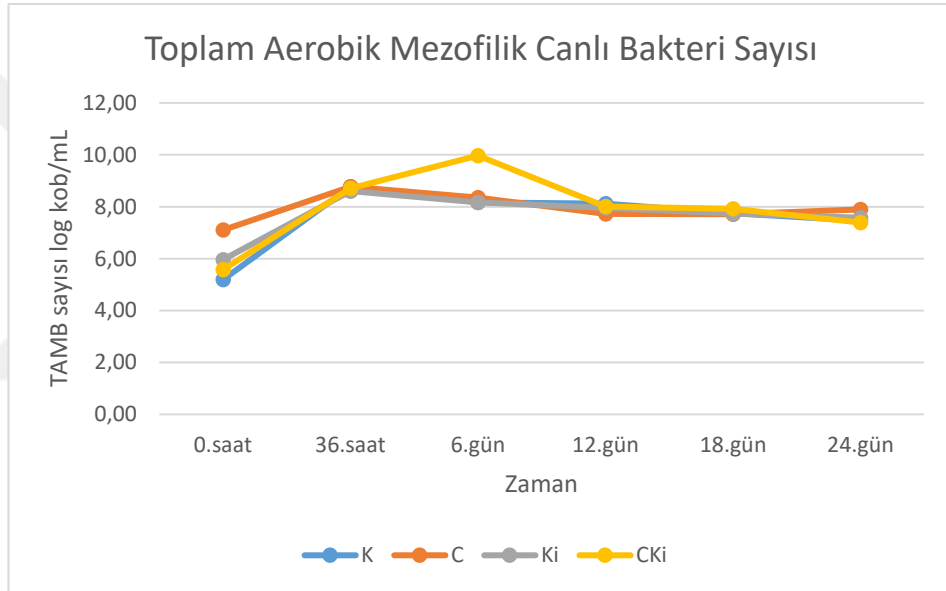
**Çizelge 4.3.** Boza örneklerinin toplam aerobik mezofilik canlı bakteri sayım sonuçları

| Örnek<br>Adı | TAMB (log kob/mL)       |                         |                         |                         |                         |                         |
|--------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|              | 0. saat                 | 36. saat                | 6. gün                  | 12. gün                 | 18. gün                 | 24. gün                 |
| K            | 5,20±0,06 <sup>dE</sup> | 8,77±0,06 <sup>aA</sup> | 8,16±0,06 <sup>cB</sup> | 8,12±0,03 <sup>aB</sup> | 7,74±0,02 <sup>aC</sup> | 7,46±0,00 <sup>bD</sup> |
| C            | 7,10±0,03 <sup>aD</sup> | 8,77±0,05 <sup>aA</sup> | 8,36±0,05 <sup>bB</sup> | 7,72±0,03 <sup>bC</sup> | 7,72±0,09 <sup>aC</sup> | 7,90±0,05 <sup>aC</sup> |
| Ki           | 5,96±0,01 <sup>bD</sup> | 8,60±0,08 <sup>aA</sup> | 8,16±0,05 <sup>bC</sup> | 7,96±0,05 <sup>aB</sup> | 7,73±0,05 <sup>aC</sup> | 7,58±0,05 <sup>bC</sup> |
| CKi          | 5,57±0,10 <sup>cE</sup> | 8,70±0,05 <sup>aB</sup> | 9,97±0,02 <sup>aA</sup> | 8,01±0,08 <sup>aC</sup> | 7,92±0,12 <sup>aC</sup> | 7,39±0,06 <sup>bD</sup> |

Sonuçlar aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütunda farklı küçük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. Aynı satırda farklı büyük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. TAMB: toplam aerobik mezofilik canlı bakteri; kob/mL: koloni oluşturan birim/mililitre; K: Geleneksel boza (kontrol); C: Chia katkılı boza, Ki: Kinoa katkılı boza, CKi: Chia ve Kinoa katkılı boza

Fermentasyon başlangıcında mikroorganizma yükü en fazla olan örnek C örneği (7,10±0,03 log kob/mL) ve en az olan örnek ise K örneği (5,20±0,06 log kob/ mL) olarak bulunmuştur. Boza örneklerinin başlangıç TAMB sayısı arasında anlamlı bir farklılık görölmüştür ( $p<0,05$ ). Fermentasyonla birlikte boza örneklerinin TAMB sayısında önemli bir artış gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). Fermentasyon sonrasında (36. Saatte) boza örneklerinin (K, C, Ki, CKi) TAMB sayısı sonuçları 8,60±0,08 log kob/mL ile 8,77±0,06 log kob/mL arasında değişiklik göstermiştir ( $p>0,05$ ). Soğukta (+4°C) depolamanın 6. gününde K, C, Ki, örneklerinin TAMB sayılarında anlamlı bir azalış, CKi örneğinde ise anlamlı bir artış gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). Boza örneklerinin soğukta (+4°C) depolama 6.gününde TAMB sayısı sonuçları 8,16±0,05 log kob/mL ile 9,97±0,02 log kob/mL arasında tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Boza örneklerinin soğukta (+4°C) depolama 12.gün sonuçları incelendiğinde K ve Ki örneklerinde 6.güne göre

TAMB sayısının değişmediği ( $p>0,05$ ), buna karşılık C örneğinde yaklaşık 0,6 log kob/mL ve CKi örneğinde ise yaklaşık 2 log kob/mL azalma olduğu görülmüştür ( $p<0,05$ ). Soğukta depolamanın 18.gününde C ve CKi örneklerinde 12.güne göre TAMB sayısının değişmediği görülmüştür ( $p>0,05$ ) ancak K ve Ki örneklerinde bir miktar azalış olduğu tespit edilmiştir. Soğukta depolamanın sonunda (24.gün) C ve Ki örneklerinde 18.güne göre TAMB sayısının değişmemiş ( $p>0,05$ ), K ve CKi örneklerinde ise bir miktar azalış olduğu gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). Fermantasyondan sonra raf ömrü boyunca (24 gün) boza örneklerinin hiçbirinde TAMB sayısı 7,39 log kob/mL'nin altına düşmemiştir.



**Şekil 4.4.** Boza örneklerinin fermantasyon ve soğuk depolama (+4°C) boyunca TAMB sayısı değişimi

TAMB sayısı gıdalarda mikrobiyolojik kalitenin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan bir indikatör analiz olarak bilinmektedir. Birçok gıdada TAMB sayısının yüksek olması patojen bakterilerin de gıdada bulunabileceğinin göstergesi olarak kabul edilmektedir. Ancak fermente gıdalarda ortamda hakim olan bir mikroorganizma grubu bulunmaktadır ve bu analiz ortama hakim olan mikroorganizma grubunun yanı sıra ortamda bulunabilecek diğer mikroorganizmalar hakkında bir fikir vermektedir (Erkmen, 2011). Tez kapsamında üretilen boza örneklerinde fermantasyon başlangıcında TAMB sayısının örnekler arasında değişiklik göstermiş olması (C

örneğinde  $7,10 \pm 0,03$  log kob/mL iken K örneğinde  $5,20 \pm 0,06$  log kob/mL) bozaların üretilmiş oldukları ham maddelerin mikrobiyal kalite farklılığından kaynaklanmaktadır (Berктаş, 2011; Borcaklı vd., 2018). Tez kapsamında üretilen bozalar doğal fermantasyon ile üretilmiş ve herhangi bir starter kültür kullanılmamıştır. Dolayısıyla ham maddelerin doğal mikrobiyotalarının farklılıkları 0. saatteki örneklerin TAMB sayısına yansımıştır.

Boza içerisinde LAB ve mayaların da yer aldığı oldukça kompleks bir mikrobiyotaya sahip bir fermente tahıl içeceğidir (Altay vd., 2013; Tamer, 2004). Fermantasyonla birlikte boza örneklerinde (K, C, Ki ve CKi) TAMB sayısında artış görülmesi ortamdaki LAB ve mayaların faaliyetinin bir göstergesi olmaktadır. Fermantasyon sırasında ve raf ömrü boyunca tez kapsamında üretilen bozaların TAMB sayıları literatürde yapılmış çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. Tuncer vd., (2008), Türkiye’de yerel marketlerden aldıkları bozalarda yaptıkları çalışmada bozaların TAMB sayılarının  $7,38-8,51$  log kob/mL arasında bulmuşlardır. Yapılan bir diğer çalışmada laboratuvar koşullarında üretilen bozalarda TAMB sayısı  $4,18-7,77$  log kob/mL arasında tespit edilmiştir (Uysal vd., 2009). Göncü vd., (2023), ham madde olarak chia, kinoa, pirinç ve mısır kullanarak üç farklı formülasyonda (kinoalı, chialı, kinoa-chia karışık) 24 saatlik fermantasyon ile çeşitli bozalar üretmişlerdir. Çalışma kapsamında üretilen bozalardaki TAMB sayılarını kinoalı bozada  $5,54$  log kob/mL, chialı bozada  $5,57$  log kob/mL ve kinoa-chia karışık bozada  $5,56$  log kob/mL bulunmuştur. Bu sonuçların tez kapsamında elde ettiğimiz sonuçlardan daha düşük olduğu görülmektedir. Bunun sebebinin çalışmalardaki boza üretim parametrelerinin farklılıklarından olabileceği düşünülmüştür. Tez kapsamında üretilen bozanın fermantasyon süresi 36 saat iken Göncü vd. (2023)’ün çalışmasında fermantasyon süresi 24 saat olarak belirlenmiştir. Ayrıca tez kapsamında üretilen bozalarda ham madde olarak chia, kinoa ve mısırın yanı sıra darı kullanılırken, çalışmada pirinç kullanılmıştır.

#### **4.2.2. Toplam maya sayımı**

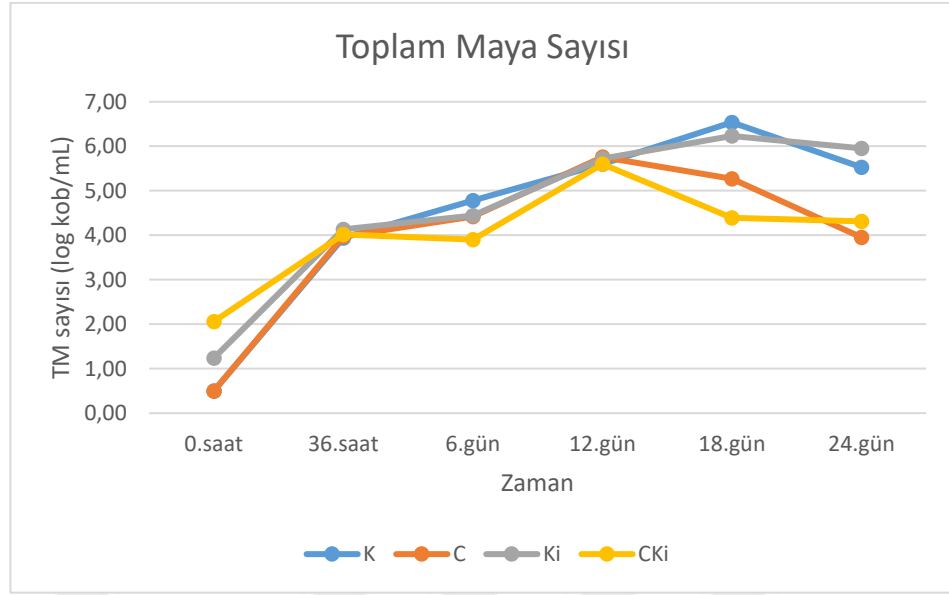
Tez kapsamında üretilen boza örneklerine ait fermantasyon ve soğuk depolama boyunca TM sayımı sonuçları Çizelge 4.4 ve Şekil 4.5’te verilmiştir.

**Çizelge 4.4.** Boza örneklerinin toplam maya sayımı sonuçları

| Örnek Adı  | TM sayımı (log kob/mL)  |                         |                          |                          |                          |                          |
|------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|            | 0. saat                 | 36. saat                | 6. gün                   | 12. gün                  | 18. gün                  | 24. gün                  |
| <b>K</b>   | 0,50±0,7 <sup>aD</sup>  | 3,94±0,08 <sup>aC</sup> | 4,78±0,01 <sup>aBC</sup> | 5,60±0,01 <sup>aAB</sup> | 6,54±0,00 <sup>aA</sup>  | 5,53±0,03 <sup>aAB</sup> |
| <b>C</b>   | 0,50±0,7 <sup>aD</sup>  | 3,97±0,07 <sup>aC</sup> | 4,42±0,03 <sup>bBC</sup> | 5,76±0,17 <sup>aA</sup>  | 5,27±0,06 <sup>bAB</sup> | 3,95±0,00 <sup>bC</sup>  |
| <b>Ki</b>  | 1,24±0,34 <sup>aC</sup> | 4,13±0,02 <sup>aB</sup> | 4,44±0,03 <sup>bB</sup>  | 5,72±0,02 <sup>aA</sup>  | 6,23±0,00 <sup>aA</sup>  | 5,95±0,03 <sup>aA</sup>  |
| <b>CKi</b> | 2,06±0,03 <sup>aC</sup> | 4,02±0,15 <sup>aB</sup> | 3,90±0,08 <sup>cB</sup>  | 5,60±0,05 <sup>aA</sup>  | 4,39±0,44 <sup>bB</sup>  | 4,31±0,23 <sup>bB</sup>  |

Sonuçlar aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütunda farklı küçük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. Aynı satırda farklı büyük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. TM: toplam maya; kob/mL: koloni oluşturan birim/mililitre; K: Geleneksel boza (kontrol); C: Chia katkılı boza, Ki: Kinoa katkılı boza, CKi: Chia ve Kinoa katkılı boza

Boza örneklerinin fermantasyon başlangıcında (0. saat) TM sayısı 0,50-2,06 log kob/mL arasında değişmiştir. Fermantasyonun etkisiyle TM sayısı 36 saatte tüm örneklerde yaklaşık 2-3 log kob/mL artışla 3,94-4,13 log kob/mL arasında değişiklik göstermiştir. TM sayısının artışının en çok gözlemlendiği örnekler C ve K boza örnekleri olmuştur ( $p<0,05$ ). Boza örneklerinin 6 gün soğukta depolanması sırasında örneklerin TM sayısında gerçekleşen artış ve azalışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Soğuk depolamanın 12. gününde tüm örneklerde TM sayısında yaklaşık 1 log kob/mL artış görülmüştür ( $p<0,05$ ) ve örneklerin TM sayıları 5,60-5,72 log kob/mL arasında değişiklik göstermiştir ( $p>0,05$ ). Boza örneklerinden K ve Ki'nin TM sayıları 18. günde bir miktar artmıştır ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Boza örneklerinden C ve CKi'nin TM sayılarında ise 18. günde bir miktar azalma görülmüştür ancak yalnızca CKi örneğindeki azalma miktarı (1,3 log kob/mL) anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Soğuk depolamanın 24. gününde yalnızca C örneğinin TM sayısında azalma (yaklaşık 1,3 log kob/mL) meydana gelmiştir ( $p<0,05$ ) ve diğer örneklerin TM sayısında anlamlı bir değişim görülmemiştir ( $p>0,05$ ). Raf ömrünün sonunda (soğukta depolamanın 24. günü) boza örneklerinin TM sayıları 3,95-5,95 log kob/mL arasında değişmiştir. Boza örneklerinin TM sayıları incelendiğinde en yüksek değere K örneği 18. günde 6,54±0,00 log kob/mL ile ulaşabilmiştir. Tez kapsamında üretilen bozaların hiçbirinde fermantasyon öncesi (0. saat), sonrası (36. saat) ve raf ömrü boyunca (6. gün, 12. gün, 18. gün ve 24. gün) küf gelişimi gözlenmemiştir.



**Şekil 4.5.** Boza örneklerinin fermantasyon ve soğuk depolama (+4°C) boyunca TM sayısındaki değişim

Bozanın fermantasyonundan sorumlu olan mikroorganizmalar oldukça çeşitli olmasına rağmen laktik asit bakterileri ve mayalar ortamda hakim olan mikrobiyotayı oluşturmaktadır (Altay vd., 2013; Basbülbul vd., 2015; Hancıoğlu ve Karapınar, 1997; Sağlam vd., 2018). Mayalar boza üretiminde alkol fermantasyonundan sorumludur. Boza üretiminde mayalar tarafından gerçekleştirilen alkol fermantasyonu sayesinde bozanın ferahlatıcı etkisini sağlayan CO<sub>2</sub> açığa çıkmakta ve ürünün hacim artışı sağlanmaktadır (Anlı ve Şanlıbaba, 2019). Tez kapsamında üretilen boza örneklerinde fermantasyon başlangıcında TM sayısının örnekler arasında değişiklik göstermiş olması bozaların üretilmiş oldukları ham maddelerin farklılığından kaynaklanmaktadır (Berkeş, 2011; Borcaklı vd., 2018). Tez kapsamında üretilen bozalarda 0. saatte K ve C örneklerinde TM sayısı 0,50±0,7 log kob/mL, Ki örneğinde 1,24±0,34 log kob/mL ve CKi örneğinde 2,06±0,03 log kob/mL bulunmuştur. Bu sonuçlar kinoanın maya yükünün diğer ham maddelere göre daha fazla olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle kinoa içeren bozalarda fermantasyon başlangıcında (0. saat) TM miktarı daha fazladır.

Fermantasyonun başlamasıyla birlikte boza örneklerinin TM sayısında bir artış görülmektedir (Şekil 4.5). Bu artış, boza örneklerinden C ve CKi'de soğukta depolamanın 12. gününe kadar, K ve Ki'de ise 18. güne kadar devam etmiştir. Yapılan

bir çalışmada, ham madde olarak buğday, darı ve mısır kullanılarak 3 farklı formülasyonda boza üretimi gerçekleştirilmiştir. Buğday, darı ve mısır karışımından üretilen bozanın TM sayısı 0. saatte  $<1$  log kob/mL, 16. saatte 3,47 log kob/mL, 12°C’de depolamanın 1. haftasında 2,88 log kob/mL ve 2. haftasında 4,39 log kob/mL bulunmuştur. Mısır ve buğday karışımından üretilen bozanın TM sayısı 0. saatte  $<1$  log kob/mL, 16. saatte  $<1$  log kob/mL, 12°C’de depolamanın 1. haftasında 2,71 log kob/mL ve 2. haftasında 3,66 log kob/mL olarak tespit edilmiştir. Yalnızca darıdan üretilen bozanın TM sayısı 0. saatte  $<1$  log kob/mL, 16. saatte 1,69 log kob/mL, 12°C’de depolamanın 1. haftasında 1,69 log kob/mL ve 2. haftasında 6,47 log kob/mL olarak belirlenmiştir (Borcaklı vd., 2018). Bu çalışmada üretilen bozaların TM sayısının zamana göre değişimi tez kapsamında üretilen bozaların TM sayılarının zamanla değişimine benzerlik göstermektedir. Hancıoğlu ve Karapınar, (1997), laboratuvar koşullarında mısır, buğday ve pirinç kullanarak üretmiş oldukları bozanın fermentasyon başlangıcında (0. saatte) TM sayısını 5,35 log kob/mL, fermentasyon sonrasında (24. saatte) ise 6,91 log kob/mL olarak bulmuşlardır. Tuncer vd., (2008), Isparta, Antalya, İstanbul ve Ankara illerinden temin ettikleri 15 adet boza örneğinin TM sayılarının 5,67-6,73 log kob/mL arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Ham madde olarak chia, kinoa, pirinç ve mısır kullanarak üç farklı formülasyonda (kinoalı, chialı, kinoa-chia karışık) 24 saatlik fermentasyon ile çeşitli bozalar üretilen bir çalışmada TM sayıları kinoalı bozada 6,72 log kob/mL, chialı bozada 5,93 log kob/mL ve kinoa-chia karışımından üretilen bozada 6,03 log kob/mL bulunmuştur. Literatürdeki bilgiler ile tez kapsamında üretilen bozaların TM sayıları kıyaslandığında benzer sonuçlar elde edildiği görülmektedir.

#### **4.2.3. Toplam fekal koliform bakteri sayısı**

Tez kapsamında üretilen boza örneklerine ait fermentasyon ve soğuk depolama boyunca TFKB sayımı sonuçları Çizelge 4.5’te verilmiştir.

**Çizelge 4.5.** Boza örneklerinin toplam fekal koliform bakteri sayım sonuçları

| Örnek<br>Adı | TFKB (log kob/mL)       |          |        |         |         |         |
|--------------|-------------------------|----------|--------|---------|---------|---------|
|              | 0. saat                 | 36. saat | 6. gün | 12. gün | 18. gün | 24. gün |
| <b>K</b>     | 2,14±0,20 <sup>c</sup>  | <1       | <1     | <1      | <1      | <1      |
| <b>C</b>     | 4,03±0,00 <sup>a</sup>  | <1       | <1     | <1      | <1      | <1      |
| <b>Ki</b>    | 3,71±0,04 <sup>ab</sup> | <1       | <1     | <1      | <1      | <1      |
| <b>CKi</b>   | 3,49±0,05 <sup>b</sup>  | <1       | <1     | <1      | <1      | <1      |

Sonuçlar aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütunda farklı küçük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. TFKB: toplam fekal koliform bakteri; kob/mL: koloni oluşturan birim/mililitre; K: Geleneksel boza (kontrol); C: Chia katkılı boza, Ki: Kinoa katkılı boza, CKi: Chia ve Kinoa katkılı boza

Boza örneklerinin fermantasyon başlangıcında TFKB sayısı 2,14-4,03 log kob/mL arasında bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Fermantasyonun etkisiyle boza örneklerinde % laktik asit miktarı artmış, pH düşmüş ve bu nedenle başlangıçta görülen TFKB sayısı 1 log kob/mL'nin altına düşmüştür. Raf ömrü boyunca (soğuk depolamanın 6., 12., 18. ve 24. günlerinde) hiçbir örnekte TFKB sayısı 1 log kob/mL'nin üzerine çıkmamıştır.

**Çizelge 4.6.** TS 9778 Boza Standardı'na göre bozanın mikrobiyolojik özellikleri

| Özellik                       | Sınır |   |                 |                 |
|-------------------------------|-------|---|-----------------|-----------------|
|                               | n     | c | m               | M               |
| <b>Küf</b>                    | 5     | 2 | 10 <sup>1</sup> | 10 <sup>2</sup> |
| <b>Koliform bakteri</b>       | 5     | 2 | 9               | 95              |
| <b><i>Bacillus cereus</i></b> | 5     | 1 | 10 <sup>1</sup> | 10 <sup>2</sup> |

n: analize alınacak numune sayısı, c: "M" değeri taşıyabilecek en fazla numune sayısı, m: (n-c) sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla değer, M: "c" sayıdaki numunede bulunabilecek en fazla değer

Koliform bakteri, Gram negatif, spor oluşturmeyen, 37°C'de laktozu 48 saat içerisinde fermente eden ve gaz oluşturan bakteri grubudur (Erkmen, 2011). Gıda güvenliği indikatörü olarak bilinen bu grup bakterilerin çoğu gıdada belirlenen limitlerin altında olması beklenmektedir. TS 9778 Boza Standardı'na göre bozada bulunabilecek koliform bakteri sayısı Çizelge 4.6.'da verilmiştir. Bu standarda göre analize alınacak 5 boza örneğinin en fazla 2 tanesinde koliform bakteri miktarı 95 kob/mL ve 3 tanesinde de koliform bakteri miktarı en fazla 9 kob/mL olabilmektedir. Tez kapsamında üretilen boza örneklerimiz (K, C, Ki ve CKi) fermantasyon sonrasında raf ömrü boyunca (soğuk

depolamanın 6, 12, 18 ve 24.günlerinde) TS 9778 standardına uygunluk göstermiştir. Tuncer vd., (2008), Isparta, Antalya, İstanbul ve Ankara illerinden temin ettikleri 15 adet boza örneğinin toplam koliform bakteri sayılarının 14 örnekte <1 kob/mL, 1 örnekte ise 2,04 log kob/mL olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuca göre analiz ettikleri 14 örnek tez kapsamında üretilen örneklerde olduğu gibi TS 9778 standardına uygunluk göstermiştir.

#### 4.2.4. Laktik asit bakterisi sayımı

Tez kapsamında üretilen boza örneklerine ait fermentasyon ve soğuk depolama boyunca LAB sayımı sonuçları Çizelge 4.7, Çizelge 4.8, Çizelge 4.9, Şekil 4.6, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8’de verilmiştir.

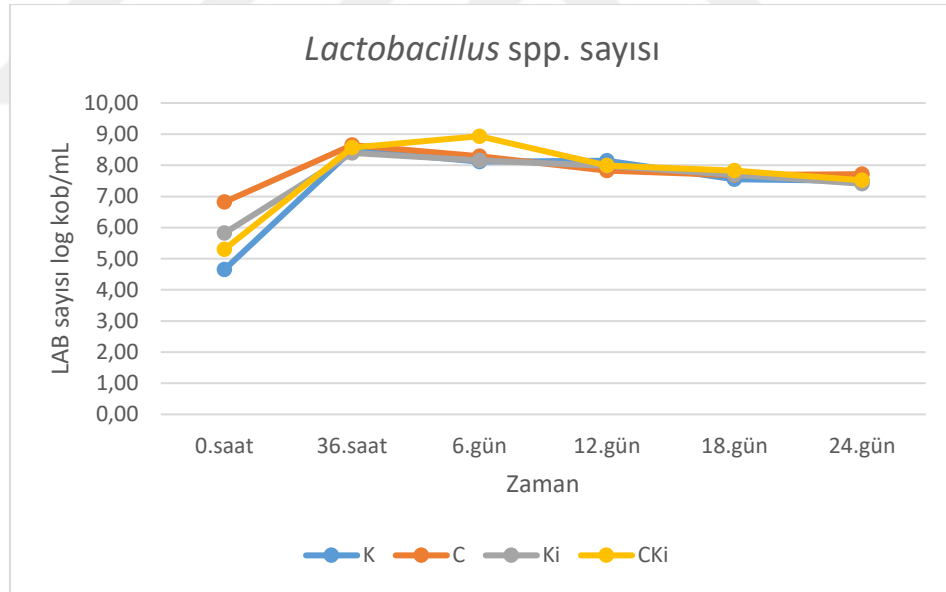
**Çizelge 4.7.** Boza örneklerinin *Lactobacillus* spp. sayımı sonuçları

| Örnek<br>Adı | <i>Lactobacillus</i> spp. (log kob/mL) |                         |                          |                         |                          |                          |
|--------------|----------------------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
|              | 0. saat                                | 36. saat                | 6. gün                   | 12. gün                 | 18. gün                  | 24. gün                  |
| K            | 4,65±0,07 <sup>dD</sup>                | 8,49±0,03 <sup>aA</sup> | 8,12±0,01 <sup>bB</sup>  | 8,14±0,02 <sup>aB</sup> | 7,55±0,05 <sup>bC</sup>  | 7,50±0,70 <sup>abC</sup> |
| C            | 6,82±0,07 <sup>aD</sup>                | 8,64±0,11 <sup>aA</sup> | 8,29±0,07 <sup>bB</sup>  | 7,83±0,01 <sup>cC</sup> | 7,69±0,05 <sup>abC</sup> | 7,72±0,03 <sup>aC</sup>  |
| Ki           | 5,82±0,05 <sup>bE</sup>                | 8,40±0,13 <sup>aA</sup> | 8,16±0,03 <sup>bAB</sup> | 7,98±0,02 <sup>bB</sup> | 7,70±0,01 <sup>abC</sup> | 7,41±0,10 <sup>bD</sup>  |
| CKi          | 5,30±0,00 <sup>cE</sup>                | 8,57±0,07 <sup>aB</sup> | 8,93±0,17 <sup>aA</sup>  | 7,99±0,04 <sup>bC</sup> | 7,83±0,05 <sup>aCD</sup> | 7,53±0,01 <sup>abD</sup> |

Sonuçlar aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütunda farklı küçük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. Aynı satırda farklı büyük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. kob/mL: koloni oluşturan birim/mililitre; K: Geleneksel boza (kontrol); C: Chia katkılı boza, Ki: Kinoa katkılı boza, CKi: Chia ve Kinoa katkılı boza

Boza örneklerinin fermentasyon başlangıcında (0. saat) MRSA besiyerinden elde edilen LAB sayım sonuçlarına göre *Lactobacillus* spp. sayısı 4,65-6,82 log kob/mL arasında bulunmuştur. Örneklerin başlangıç mikroorganizma yükleri birbirlerinden istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Bu farklılık ham maddelerdeki başlangıç mikrobiyotasının farklı olmasından kaynaklanmaktadır (Berктаş, 2011; Heperkan vd., 2014). *Lactobacillus* spp. sayısı fermentasyonla birlikte 36 saatin sonunda örneklerde 8,40-8,64 log kob/mL arasında bulunmuştur. Fermentasyon ile tüm örneklerde *Lactobacillus* spp. sayısında anlamlı bir artış gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). Bu artış CKi örneğinde soğuk depolamanın 6. gününde devam ederken ( $p<0,05$ ), diğer örneklerde (K, C, Ki) yaklaşık 0,4 log kob/mL azalma meydana gelmiştir ( $p<0,05$ ). Soğukta

depolamanın 12. gününde K örneğinin *Lactobacillus* spp. sayısı aynı kalmış, Ki örneğinde görülen azalma istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır. C ve CKi örneklerinde ise *Lactobacillus* spp. sayısında istatistiksel olarak önemli bir azalma (0,4 log kob/mL ve 1 log kob/mL, sırasıyla) olmuştur ( $p<0,05$ ). Boza örneklerinin tamamında (K, C, Ki ve CKi) 12. gün ile kıyaslandığında soğukta depolamanın 18. gününde *Lactobacillus* spp. sayısında azalma tespit edilmiştir. Bu örneklerden C ve CKi'de görülen azalma istatistiksel açıdan önemli bulunmamış ( $p>0,05$ ), K ve Ki örneklerindeki azalma ise istatistiksel açıdan önemli olmuştur ( $p<0,05$ ). Soğukta depolamanın son gününde (24. gün) K, C ve CKi örneklerinin *Lactobacillus* spp. sayısında önemli bir değişiklik gözlenmemiş ( $p>0,05$ ), Ki örneğinde 0,3 log kob/mL önemli bir azalma görülmüştür ( $p<0,05$ ). Raf ömrünün sonunda örneklerin *Lactobacillus* spp. sayısı 7,41-7,72 log kob/mL arasında değişmiştir. Boza örneklerinin fermentasyon sonrasında raf ömrü boyunca (+4°C'de 24 gün) *Lactobacillus* spp. sayısı 7,41 log kob/mL'nin altına düşmemiştir.



**Şekil 4.6.** Boza örneklerinin fermentasyon ve soğuk depolama (+4°C) boyunca *Lactobacillus* spp. sayısındaki (MRSA) değişim

Boza örneklerinin *Lactococcus* spp. sayısı 0. saatte 4,50-6,99 log kob/mL arasında tespit edilmiştir ve başlangıçta en yüksek *Lactococcus* spp. sayısı C örneğinde tespit edilmiştir (Çizelge 4.8). Fermentasyon sonunda (36. saat) örneklerdeki *Lactococcus* spp. sayıları

raf ömrü boyunca da en yüksek seviye olan 8,50-8,81 log kob/mL düzeyine ulaşmıştır. *Lactococcus* spp. sayıları soğukta depolamanın 6. gününde tüm örneklerde yaklaşık 0,5 log kob/mL azalmıştır ( $p<0,05$ ). Soğukta depolamanın 12. gününde K ve CKi örneklerinin *Lactococcus* spp. sayıları önemli bir değişiklik göstermezken ( $p>0,05$ ), C ve Ki örneklerin *Lactococcus* spp. sayılarındaki azalma devam etmiştir ( $p<0,05$ ). Boza örneklerinin tamamında 18. günde *Lactococcus* spp. sayılarında azalma görülmüştür ancak yalnızca Ki örneğindeki azalma istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Soğukta depolamanın son gününde (24. gün) Ki ve CKi örneklerinde *Lactococcus* spp. sayılarında istatistiksel açıdan önemli bir azalma görülmüştür ( $p<0,05$ ). Buna karşılık K örneğinin *Lactococcus* spp. sayısında görülen azalma ve C örneğinin *Lactococcus* spp. sayısında görülen artış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Raf ömrünün sonunda örneklerin *Lactococcus* spp. sayısı 7,35-7,73 log kob/mL arasında değişmiştir. Boza örneklerinin fermantasyon sonrasında raf ömrü boyunca (+4°C’de 24 gün) *Lactococcus* spp. sayısı en az 7,35 log kob/mL ile CKi örneğinde tespit edilmiştir.

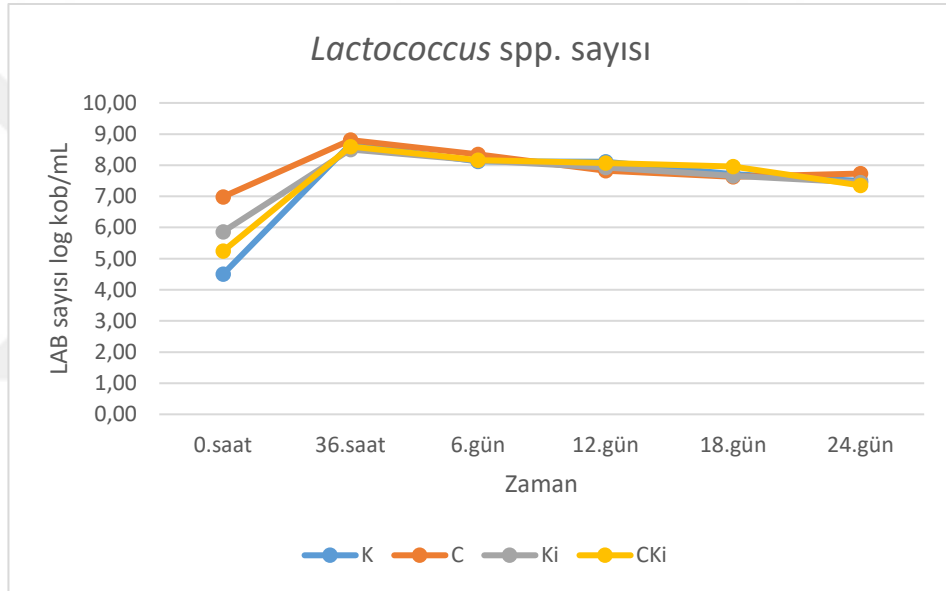
**Çizelge 4.8.** Boza örneklerinin *Lactococcus* spp. sayımı sonuçları

| Örnek<br>Adı | <i>Lactococcus</i> spp. (log kob/mL) |                          |                          |                          |                           |                          |
|--------------|--------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
|              | 0.saat                               | 36.saat                  | 6.gün                    | 12.gün                   | 18.gün                    | 24.gün                   |
| <b>K</b>     | 4,50±0,28 <sup>cd</sup>              | 8,68±0,06 <sup>abA</sup> | 8,12±0,07 <sup>bb</sup>  | 8,11±0,03 <sup>aB</sup>  | 7,71±0,09 <sup>abBC</sup> | 7,49±0,04 <sup>abC</sup> |
| <b>C</b>     | 6,99±0,04 <sup>ad</sup>              | 8,81±0,00 <sup>aA</sup>  | 8,35±0,01 <sup>aB</sup>  | 7,82±0,01 <sup>bC</sup>  | 7,63±0,07 <sup>bC</sup>   | 7,73±0,11 <sup>aC</sup>  |
| <b>Ki</b>    | 5,87±0,05 <sup>bf</sup>              | 8,50±0,04 <sup>ba</sup>  | 8,16±0,03 <sup>bb</sup>  | 7,92±0,03 <sup>bC</sup>  | 7,65±0,07 <sup>bd</sup>   | 7,44±0,07 <sup>be</sup>  |
| <b>CKi</b>   | 5,24±0,34 <sup>bcd</sup>             | 8,60±0,06 <sup>ba</sup>  | 8,16±0,03 <sup>baB</sup> | 8,07±0,04 <sup>aAB</sup> | 7,95±0,04 <sup>aB</sup>   | 7,35±0,01 <sup>bC</sup>  |

Sonuçlar aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütunda farklı küçük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. Aynı satırda farklı büyük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. kob/mL: koloni oluşturan birim/mililitre; K: Geleneksel boza (kontrol); C: Chia katkılı boza, Ki: Kinoa katkılı boza, CKi: Chia ve Kinoa katkılı boza

Boza örneklerinin (K, C, Ki, CKi) başlangıç *Enterococcus* spp. sayısı 3,00-3,79 log kob/mL olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.9). Fermantasyon ile *Enterococcus* spp. sayısında en çok artış CKi örneğinde (1,18 log kob/mL) görülmüştür. C ve Ki örneklerinde fermantasyon ile *Enterococcus* spp. sayısında anlamlı bir artış gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Soğukta depolamanın 6.gününde C, Ki ve CKi örneklerinin *Enterococcus* spp. sayılarında yaklaşık 1 log kob/mL artış görülürken ( $p<0,05$ ), K örneğinde 0,56 log kob/mL azalma tespit edilmiştir ( $p>0,05$ ). *Enterococcus* spp.

sayılarında soğukta depolamanın 12. gününde K, C ve Ki örneklerinde yaklaşık 2 log kob/mL artış tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Yalnızca CKi örneğinin *Enterococcus* spp. sayısında 6. güne kıyasla yaklaşık 0,3 log kob/mL azalma meydana gelmiştir ( $p<0,05$ ). Boza örneklerinin tamamında *Enterococcus* spp. sayılarında 18 gün soğukta depolama sonrasında 12.güne kıyasla artış gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). Soğukta depolamanın 24.gününde K örneğinin *Enterococcus* spp. sayısında bir değişim görülmezken ( $p>0,05$ ), C, Ki ve CKi örneklerinde sırasıyla 1,5 log kob/mL, 0,1 log kob/mL ve 0,5 log kob/mL azalma görülmüştür ( $p<0,05$ ). Raf ömrünün sonunda (24. gün) örneklerin *Enterococcus* spp. sayısı 5,15-6,88 log kob/mL arasında değişmiştir.



**Şekil 4.7.** Boza örneklerinin fermantasyon ve soğuk depolama (+4°C) boyunca *Lactococcus* spp. (M17A) sayısındaki değişim

Boza üretiminde gerçekleşen fermantasyonlardan bir diğeri LAB'lerinin gerçekleştirdiği laktik asit fermantasyonudur (Arici ve Daglioglu, 2002; Borcakli vd., 2018; Levent ve Algan Cavuldak, 2017). Boza homofermantatif ve heterofermantatif LAB'lerini bir arada barındıran bir gıdadır. LAB'leri, bozanın üretildiği ham maddelerdeki karbonhidrat kaynağını kullanarak laktik aside ve çeşitli yan ürünlere (organik asitler, etil alkol, CO<sub>2</sub> gibi) çevirmekte ve bozanın karakteristik tadının, kokusunun ve aromasının oluşmasında rol oynamaktadırlar (Erkmen, 2011; Anlı ve Şanlıbaba, 2019). Yapılan çalışmalar bozadan çoğunlukla *Lactobacillus* spp. cinsi LAB'nin izole

edildiğini, *Lactobacillus* spp. kıyasla daha az miktarda da olsa *Lactococcus* spp. ve *Enterococcus* spp.'ların da bozadan izole edilebildiğini göstermektedir (R. Cholakov vd., 2014; Doğan ve Özpınar, 2017; Heperkan vd., 2014; Osimani vd., 2015; Teneva vd., 2017; S. D. Todorov ve Dicks, 2007; Ucak vd., 2022). Bu nedenle tez kapsamında üç farklı besiyerinde LAB'lerinin sayımı alınmış ve fermantasyon ve soğukta depolama boyunca LAB sayısındaki değişim incelenmiştir.

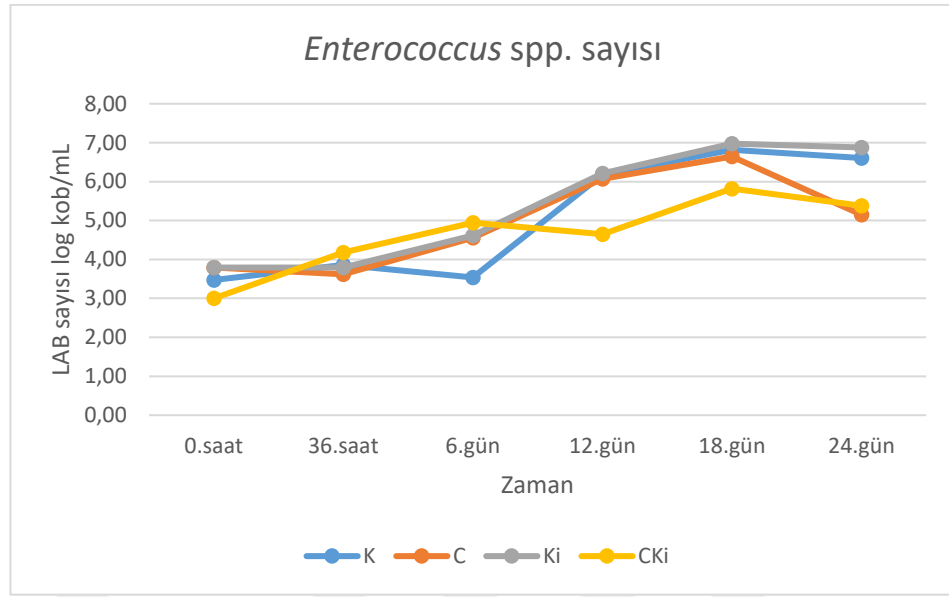
**Çizelge 4.9.** Boza örneklerinin *Enterococcus* spp. sayımı sonuçları

| Örnek<br>Adı | <i>Enterococcus</i> spp. (log kob/mL) |                          |                          |                         |                         |                         |
|--------------|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|              | 0. saat                               | 36. saat                 | 6. gün                   | 12. gün                 | 18. gün                 | 24. gün                 |
| <b>K</b>     | 3,47±0,18 <sup>aD</sup>               | 3,86±0,09 <sup>bC</sup>  | 3,53±0,08 <sup>bCD</sup> | 6,18±0,04 <sup>aB</sup> | 6,82±0,01 <sup>bA</sup> | 6,60±0,02 <sup>bA</sup> |
| <b>C</b>     | 3,79±0,13 <sup>aE</sup>               | 3,62±0,01 <sup>cE</sup>  | 4,56±0,20 <sup>aD</sup>  | 6,07±0,10 <sup>aB</sup> | 6,64±0,00 <sup>cA</sup> | 5,15±0,01 <sup>dC</sup> |
| <b>Ki</b>    | 3,79±0,00 <sup>aE</sup>               | 3,79±0,00 <sup>bCE</sup> | 4,62±0,04 <sup>aD</sup>  | 6,21±0,01 <sup>aC</sup> | 6,98±0,01 <sup>aA</sup> | 6,88±0,01 <sup>aB</sup> |
| <b>CKi</b>   | 3,00±0,00 <sup>bF</sup>               | 4,18±0,02 <sup>aE</sup>  | 4,94±0,18 <sup>aC</sup>  | 4,65±0,07 <sup>bD</sup> | 5,82±0,00 <sup>dA</sup> | 5,38±0,02 <sup>cB</sup> |

Sonuçlar aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütunda farklı küçük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. Aynı satırda farklı büyük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. kob/mL: koloni oluşturan birim/mililitre; K: Geleneksel boza (kontrol); C: Chia katkılı boza, Ki: Kinoa katkılı boza, CKi: Chia ve Kinoa katkılı boza

Tez kapsamında üretilen boza örneklerinde yapılan LAB sayımı analizlerinde *Lactobacillus* spp. ve *Lactococcus* spp. sayılarının fermantasyon ve soğukta depolama boyunca zamanla değişimi birbirine benzerlik göstermektedir. Boza örneklerinde fermantasyon başlangıcında yaklaşık ortalama 5,65 log kob/mL *Lactobacillus* spp. ve *Lactococcus* spp. bulunmuş ve bu sayı fermantasyonla birlikte yaklaşık ortalama 8,53 log kob/mL sayılarına ulaşmıştır. Hancıoğlu ve Karapınar, (1997), laboratuvar koşullarında darı, mısır ve pirinçten üretmiş oldukları bozadan MRSA besiyerine ekim yapmış ve 0.saatte 6,88 log kob/mL, 24.saatte ise 8,66 log kob/mL LAB bulmuşlardır. Botes vd., (2007) üç farklı boza örneğinde MRSA besiyerinden yaptıkları ekimde ortalama 7,70 log kob/mL LAB tespit etmişlerdir. Osimani vd., (2015), Bulgaristan'da yerel bir marketten aldıkları üç farklı bozadaki LAB miktarını tespit etmek için MRSA'ya ekim yapmışlardır ve bozalarda 6,40 log kob/mL, 5,9 log kob/mL ve 6,5 log kob/mL LAB bulmuşlardır. Yapılan bir çalışmada, ham madde olarak buğday, darı ve mısır kullanılarak 3 farklı formülasyonda boza üretimi gerçekleştirilmiştir. Buğday, darı ve mısır karışımından üretilen bozanın LAB sayısı 0.saatte 7,11 log kob/mL, 16. saatte

7,41 log kob/mL, 12°C’de depolamanın 1. haftasında 6,20 log kob/mL ve 2. haftasında 5,54 log kob/mL bulunmuştur. Mısır ve buğday karışımından üretilen bozanın LAB sayısı 0. saatte 3,30 log kob/mL, 16. saatte 6,96 log kob/mL, 12°C’de depolamanın 1. haftasında 6,96 log kob/mL ve 2. haftasında 5,30 log kob/mL olarak tespit edilmiştir. Yalnızca darıdan üretilen bozanın LAB sayısı 0. saatte 3,47 log kob/mL, 16. saatte 8,41 log kob/mL, 12°C’de depolamanın 1. haftasında 5,30 log kob/mL ve 2. haftasında 3,69 log kob/mL olarak belirlenmiştir (Borcakli vd., 2018). Isparta, Antalya, İstanbul ve Ankara illerindeki yerel marketlerden temin edilen 15 adet boza örneğinin mikrobiyolojik özelliklerinin belirlendiği bir çalışmada örneklerin LAB sayılarının 7,32-8,46 log kob/mL arasında değiştiği tespit edilmiştir (Tuncer vd., 2008). Bir diğer çalışmada boza üretiminde tez kapsamında üretilen bozalara benzer bir şekilde ham madde olarak chia, kinoa, pirinç ve mısır kullanılmıştır. Bozaların 24 saat fermantasyonu sonrasında LAB sayıları kinoalı bozada 9,03 log kob/mL, chialı bozada 8,80 log kob/mL ve kinoa-chia karışımından üretilen bozada 8,77 log kob/mL bulunmuştur. Yapılan çalışmalardan da görüldüğü üzere bozada LAB sayıları fermantasyon sonrasında ortalama 8 log kob/mL civarında görülmektedir. Boza içerisindeki LAB türleri sebebiyle probiyotik potansiyeli olan bir fermente gıdadır (R. Cholakov vd., 2014; Kancabaş ve Karakaya, 2013; Petrova vd., 2010; Ucak vd., 2022). Tez kapsamında elde edilen veriler ışığında boza örneklerinin raf ömrünün sonuna kadar LAB sayılarının ortalama 6 log kob/mL’nin altına düşmemiş olması üretilen bozaların potansiyel probiyotik özellikte olabileceğini de göstermiştir.



**Şekil 4.8.** Boza örneklerinin fermentasyon ve soğuk depolama (+4°C) boyunca *Enterococcus* spp. sayısındaki (KAA) değişim

Tez kapsamında üretilen boza örneklerinde yapılan LAB sayımı analizlerinde *Enterococcus* spp. sayısında fermentasyon sonrasında ve özellikle soğukta depolamanın 6. gününde bir artış gözlenmiştir. Bunun sebebi boza fermentasyonunda başlangıçta *Lactobacillus* ve *Lactococcus* cinslerinin etkili olması, fermentasyonun sonlarına doğru ise ortama mayaların ve *Enterococcus* türlerinin hakim olmasıyla açıklanabilmektedir (Ucak vd., 2022; Uysal vd, 2009). Daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde bozada MRSA besiyeri kullanılarak *Lactobacillus* cinsi ve M17A besiyerleri kullanılarak *Lactococcus* cinsi LAB sayımı gerçekleştirilmiştir (Borcakli vd., 2018; Botes vd., 2007; Göncü vd., 2023; Hancıoğlu ve Karapınar, 1997; Milanovic vd., 2020; Tuncer vd., 2008). Ancak literatür araştırması yapıldığında KAA besiyeri kullanılarak bozalarda *Enterococcus* sayımının gerçekleştirilmediği, genellikle moleküler analiz teknikleri kullanılarak bozadan *Enterococcus* cinsi varlığı araştırılmış ve izolasyonlar yapılmıştır (Heperkan vd., 2014; Kavruk vd., 2021; S. D. Todorov vd., 2008; Ucak vd., 2022; Uysal vd., 2009; Valledor vd., 2020).

### 4.3. Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları

#### 4.3.1. pH ve titrasyon asitliği sonuçları

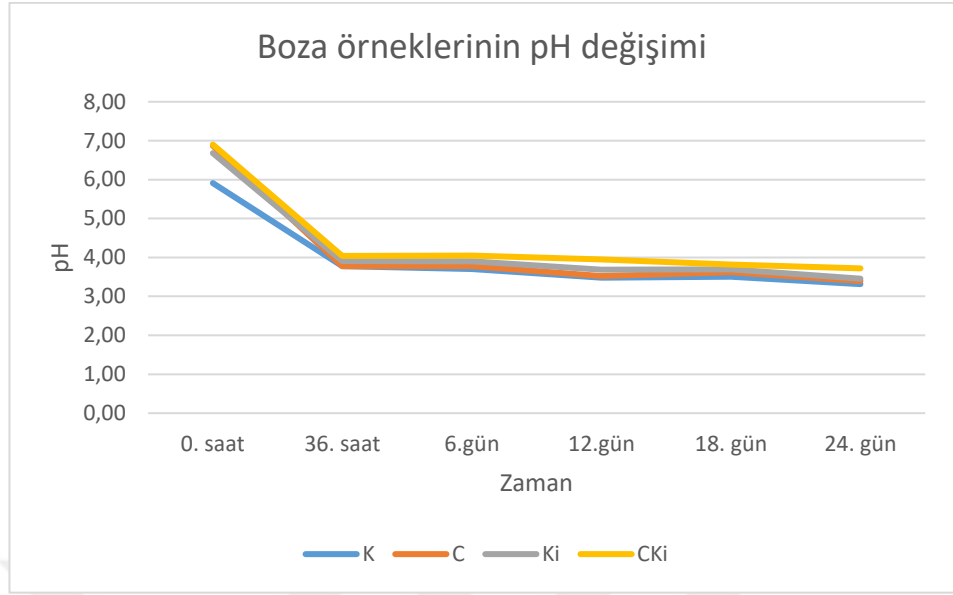
Tez kapsamında üretilen boza örneklerinin pH değerleri ve % laktik asit cinsinden titrasyon asitliği ölçümleri Bölüm 3.4.1’de belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Boza örneklerinin fermantasyon ve +4°C’de soğuk depolama sırasındaki pH değişimi Çizelge 4.10 ve Şekil 4.9’de verilmiştir.

**Çizelge 4.10.** Boza örneklerinin fermantasyon ve soğuk depolama (+4°C) sırasındaki pH değişimi

| Örnek | pH                      |                         |                         |                         |                         |                         |
|-------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|       | 0. saat                 | 36. saat                | 6. gün                  | 12. gün                 | 18. gün                 | 24. gün                 |
| K     | 7,04±0,02 <sup>aA</sup> | 3,78±0,08 <sup>aB</sup> | 3,71±0,09 <sup>aB</sup> | 3,48±0,33 <sup>aB</sup> | 3,51±0,21 <sup>aB</sup> | 3,32±0,32 <sup>aB</sup> |
| C     | 6,87±0,10 <sup>aA</sup> | 3,78±0,17 <sup>aB</sup> | 3,78±0,17 <sup>aB</sup> | 3,52±0,45 <sup>aB</sup> | 3,62±0,23 <sup>aB</sup> | 3,40±0,43 <sup>aB</sup> |
| Ki    | 6,68±0,23 <sup>aA</sup> | 3,91±0,02 <sup>aB</sup> | 3,90±0,03 <sup>aB</sup> | 3,69±0,18 <sup>aB</sup> | 3,70±0,06 <sup>aB</sup> | 3,46±0,28 <sup>aB</sup> |
| CKi   | 6,90±0,00 <sup>aA</sup> | 4,04±0,01 <sup>aC</sup> | 4,05±0,02 <sup>aB</sup> | 3,95±0,01 <sup>aD</sup> | 3,82±0,10 <sup>aE</sup> | 3,72±0,05 <sup>aF</sup> |

Sonuçlar aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütunda farklı küçük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. Aynı satırda farklı büyük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. K: Geleneksel boza (kontrol); C: Chia katkılı boza, Ki: Kinoa katkılı boza, CKi: Chia ve Kinoa katkılı boza

Geleneksel boza, chialı boza, kinoalı boza ve chialı ve kinoalı boza örneklerinin pH değişimi başlangıç anından fermantasyon sonrası ve soğuk depolama süresince benzer bir davranış göstermiştir. Fermantasyon başlangıcında (0. saat) boza örneklerinin pH değerleri 6,68-7,04 arasında değişiklik göstermiştir ( $p>0,05$ ). Fermantasyonla birlikte pH değeri tüm boza örneklerinde düşmüş ve en fazla düşüş 36. saat sonrasında geleneksel boza örneğinde (3,78±0,08) görülmüştür ( $p<0,05$ ). C ve Ki örneklerinin 36. saat pH değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). CKi örneğinin 36. saat sonrası pH değeri (4,04±0,01) diğer boza örneklerinin pH değerlerinden daha yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). K, C, Ki ve CKi örneklerinde soğuk depolamanın 6., 12., 18. ve 24. günlerinde pH yaklaşık 3,32-4,05 arasında değişmiş ve örneklerin farklı günlerdeki pH değerleri aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). CKi örneğinin fermantasyon sonrasında itibaren farklı günlerdeki pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ( $p<0,05$ ).



**Şekil 4.9.** Boza örneklerinin fermentasyon ve soğuk depolama (+4°C) boyunca pH değişimi

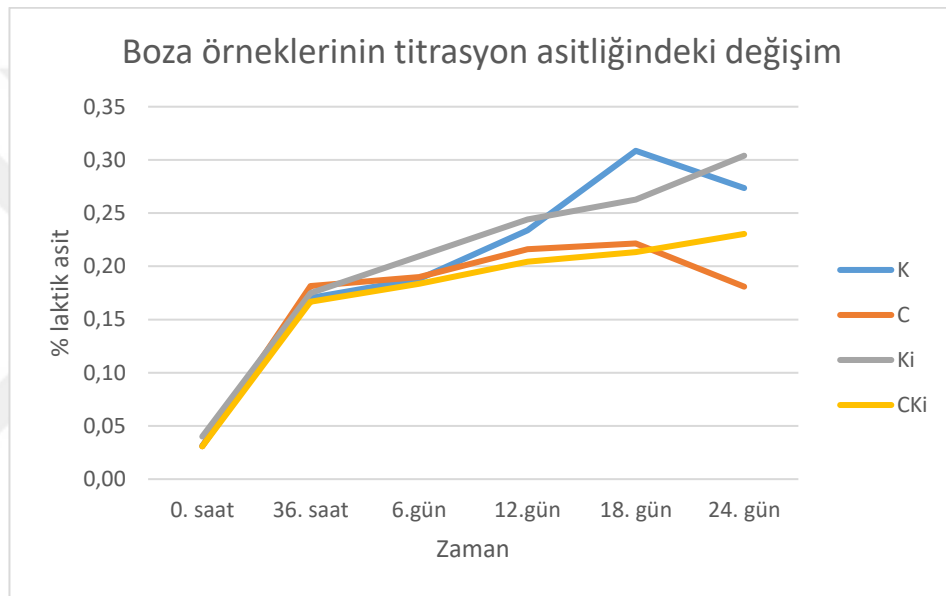
Boza örneklerinin fermentasyon ve +4°C’de raf ömrü boyunca titrasyon asitliğindeki değişim ayrıntılı olarak Çizelge 4.11 ve Şekil 4.10’da verilmiştir. Fermentasyonla birlikte pH değerlerindeki düşüş, titrasyon asitliğinde artış olarak görülmüştür.

**Çizelge 4.11.** Boza örneklerinin fermentasyon ve soğuk depolama (+4°C) sırasındaki titrasyon asitliğindeki değişim

| Örnek Kodu           | Titrasyon Asitliği (% Laktik asit) |                          |                           |
|----------------------|------------------------------------|--------------------------|---------------------------|
|                      | 0. saat                            | 36. saat                 | 6. gün                    |
| K                    | 0,03±0,01 <sup>aD</sup>            | 0,17±0,01 <sup>aC</sup>  | 0,19±0,00 <sup>aC</sup>   |
| C                    | 0,03±0,01 <sup>aC</sup>            | 0,18±0,00 <sup>aB</sup>  | 0,19±0,00 <sup>aB</sup>   |
| Ki                   | 0,04±0,01 <sup>aE</sup>            | 0,17±0,00 <sup>aD</sup>  | 0,21±0,02 <sup>aCD</sup>  |
| CKi                  | 0,03±0,01 <sup>aC</sup>            | 0,17±0,01 <sup>aB</sup>  | 0,18±0,00 <sup>aAB</sup>  |
| <b>En az -En çok</b> | <b>0,03-0,04</b>                   | <b>0,17-0,18</b>         | <b>0,18-0,21</b>          |
| Örnek Kodu           | 12. gün                            | 18. gün                  | 24. gün                   |
|                      |                                    |                          |                           |
| K                    | 0,23±0,01 <sup>abB</sup>           | 0,31±0,03 <sup>aA</sup>  | 0,27±0,00 <sup>abAB</sup> |
| C                    | 0,22±0,01 <sup>abA</sup>           | 0,22±0,00 <sup>bA</sup>  | 0,18±0,01 <sup>cB</sup>   |
| Ki                   | 0,24±0,01 <sup>aBC</sup>           | 0,26±0,00 <sup>abB</sup> | 0,30±0,01 <sup>aA</sup>   |
| CKi                  | 0,20±0,01 <sup>bAB</sup>           | 0,21±0,01 <sup>bAB</sup> | 0,23±0,03 <sup>bcA</sup>  |
| <b>En az -En çok</b> | <b>0,20-0,24</b>                   | <b>0,21-0,31</b>         | <b>0,18-0,30</b>          |

Sonuçlar aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Farklı örneklerin aynı zamandaki farklı küçük harfler ile gösterilen değerleri arasında istatistiksel olarak fark ( $p < 0,05$ ) vardır. Aynı örneğin farklı zamanlardaki farklı büyük harfler ile gösterilen değerleri arasında istatistiksel olarak fark ( $p < 0,05$ ) vardır. K: Geleneksel boza (kontrol); C: Chia katkılı boza, Ki: Kinoa katkılı boza, CKi: Chia ve Kinoa katkılı boza

Başlangıçta (0. saat) boza örneklerinin laktik asit cinsinden titrasyon asitliği %0,03-0,04 olarak bulunmuştur ( $p>0,05$ ). Boza örneklerinin fermentasyon sonrası (36. saat) titrasyon asitliği değerleri laktik asit cinsinden %0,17-0,18 olarak belirlenmiştir ( $p>0,05$ ). Soğukta depolama boyunca boza örneklerindeki fermentasyon devam ettiği için örneklerdeki laktik asit miktarında da artış gözlenmiştir (Şekil 4.10). K, C, Ki ve CKi örneklerinde soğuk depolamanın 6., 12., 18. ve 24. günlerinde % laktik asit miktarı yaklaşık 0,18'den 0,31'e kadar artış göstermiş ve örneklerin farklı günlerdeki pH değerleri aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır ( $p<0,05$ ).



**Şekil 4.10.** Boza örneklerinin fermentasyon ve soğuk depolama (+4°C) boyunca titrasyon asitliğindeki değişim

Tez çalışmasında üretilen boza örneklerinden elde edilen verilere göre ortamda LAB sayılarının artmasıyla bozanın pH değerleri düşmüş, ortamdaki % laktik asit miktarı artış göstermiştir. Dolayısıyla bozada laktik asit fermentasyonunun gerçekleştiği veriler ile de desteklenmiştir. Fermentasyon başlangıcında boza örneklerinin pH değerlerindeki farklılığın sebebi örneklerin üretiminde kullanılan ham maddelerin çeşitlerinin ve oranlarının farklı olması olarak açıklanabilmektedir. Laktik asit fermentasyonunun gerçekleşmesi ile ortamda konsantrasyonu artan laktik asit ve diğer oluşan yan ürünler (organik asitler, asetik asit, CO<sub>2</sub>, etil alkol gibi) boza örneklerinin pH değerlerinin düşmesini sağlamakta ve ürünün düşük pH'lara direnç gösteremeyen zararlı

mikroorganizmalardan korunmasını sağlamaktadır (Duran Balkan, 2011; Hancıoğlu ve Karapınar, 1997). Nitekim tez kapsamında üretilen bozalarda başlangıçta (0. saat) görülen fekal koliform bakteriler LAB sayısının artması sonrasında pH değerlerinin düşmesi ve % laktik asit miktarının artmasıyla 36. saat ve sonrasında ortamda inaktif hale gelmiştir.

Boza ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde pH ve titrasyon asitliği değerlerinin genel olarak boza üretiminde kullanılan ham maddelerin çeşidi, ham maddelerin karışım oranları, kullanılan starter kültür, fermantasyon tipi, fermantasyon süresi ve sıcaklığı gibi parametrelerden etkilendiği ve bu nedenle bozaların pH ve titrasyon asitliği değerlerinin çeşitlilik gösterdiği belirtilmiştir (Arici ve Daglioglu, 2002; Duran Balkan, 2011; Levent ve Algan Cavuldak, 2017; S. D. Todorov vd., 2008). Hancıoğlu ve Karapınar (1997) yaptıkları çalışmada laboratuvar koşullarında ürettikleri bozanın pH ve titrasyon asitliğinin fermantasyon ile değişimini incelemişlerdir. Boza örneğinin 0. saatte pH değerini 6,13 ve % laktik asit miktarını 0,02; fermantasyon sonrasında (24. saatte) ise pH değerini 3,48 ve % laktik asit miktarını 0,27 olarak belirlemişlerdir. Uylaşer vd. (1998), Bursa'daki çeşitli yerel marketlerden aldıkları 10 farklı boza ile yaptıkları çalışmada örneklerin % laktik asit miktarının 0,18-0,34 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada darı, mısır, buğday ve pirinçten üretilen boza örneklerinin fermantasyon başlangıcında (0. saatte) pH değerlerinin 3,8-5,1 arasında, fermantasyon sonrasında (24. saatte) 3,3-3,8 ve soğukta depolamanın 8. gününde 3,2-3,5 arasında değiştiği görülmüştür. Boza örneklerinin % laktik asit miktarları ise 0. saatte 0,05-0,26 arasında, 24. saatte 0,32-0,61 arasında ve 8. günde 0,68-0,87 arasında değiştiği bulunmuştur (Akpınar-Bayizit vd., 2010). Yapılan bir diğer çalışmada çeşitli oranlarda keçiyoynuzu içeren boza üretimi gerçekleştirilmiş ve bozaların ortalama pH değeri fermantasyon sonrasında 3,63 olarak bulunmuştur (Duran Balkan, 2011). Bir başka çalışmada starter kültür olarak *Lb. casei* Shirota içeren bir kültür karışımı kullanılarak üretilen boza örneğinin raf ömrü boyunca (10 gün) pH ve titrasyon asitliğindeki değişim incelenmiştir. Boza örneklerinin 8°C'deki ortalama pH değeri 0. günde 3,61, 5. günde 3,3 ve 10. günde 3,18 olarak ve ortalama % laktik asit miktarları 0. günde 0,54, 5. günde 0,68, 10. günde 0,85 olarak bulunmuştur (I. Öztürk vd., 2013). Türkiye'de farklı illerdeki yerel marketlerden alınan ya da laboratuvar koşullarında

üretileen bozalar ile ilgili yapılan çalışmaların özetlendiği bir makalede ise genel olarak fermantasyondan sonra bozaların pH değerlerinin 2,93-4,63 arasında, % laktik asit miktarlarının 0,13-0,92 arasında değiştiği bildirilmiştir (Levent ve Algan Cavuldak, 2017). Kefir kültürü ve maya kullanılarak fermente edilen, zenginleştirmek için turuncu ve siyah havuç tozu ilave edilerek hazırlanan bozalar ile ilgili bir çalışmada örneklerin pH değerlerinin 3,32-3,84 arasında değiştiği gösterilmiştir. Yapılan çalışmalardan da görüldüğü üzere tez çalışmasında üretilen boza örneklerinin fermantasyon ve soğukta depolama süresi boyunca pH ve titrasyon asitliğindeki değişim literatür ile benzerlik göstermektedir. TS 9778 standardına göre tez kapsamında üretilen boza örnekleri tatlı boza (titre edilebilir asitlik oranı laktik asit %0,20-0,50 olan boza) kategorisinde değerlendirilmektedir.

#### 4.3.2. Kuru madde, su aktivitesi, gluten, EPS tayini ve Briks lm sonuçları

Boza rneklerinin kuru madde, su aktivitesi, gluten ve EPS analizleri Bölüm 3.4.2’de anlatıldığı şekilde yalnızca fermantasyon sonrası (36. saatte) boza örneklerine uygulanmış ve sonuçlar izelge 4.12’de verilmiştir.

Tez çalışmasında üretilen boza rneklerinin % KM değerleri 15,59-18,69 arasında değişiklik göstermekle birlikte aralarında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Literatür incelendiğinde bozanın % KM değerinin 14,49-28,03 değerleri arasında değişiklik gösterdiği görülmüştür. Bozanın % KM değerlerindeki bu farklılık üretiminde kullanılan ham maddelerin farklılığından ve bozaya ilave edilen şeker miktarının değişiklik göstermesinden kaynaklanabilmektedir (Arici ve Daglioglu, 2002; Bayram, 2004; Ertaş vd., 2019; Göncü vd., 2023).

**Çizelge 4.12.** Boza rneklerinin kuru madde, su aktivitesi, EPS analizi sonuçları

| rnek | %KM        | $a_w$     | EPS (g EPS/kg boza)     |
|-------|------------|-----------|-------------------------|
| K     | 18,69±0,99 | 0,93±0,03 | 12,19±0,57 <sup>a</sup> |
| C     | 17,61±3,02 | 0,93±0,03 | 9,57±0,13 <sup>b</sup>  |
| Ki    | 17,55±1,33 | 0,93±0,02 | 9,28±0,21 <sup>b</sup>  |
| CKi   | 15,59±0,20 | 0,90±0,00 | 9,76±0,25 <sup>b</sup>  |

Su aktivitesi, bir gıdadaki kullanılabilir suyun göstergesidir ve mikrobiyal gelişmeyi kısıtlayabilen veya teşvik edebilen önemli bir parametredir. Çoğu mikroorganizma yüksek su aktivitesi değerlerinde optimum gelişme göstermektedir (Erkmen, 2011). Boza, nispeten yüksek su aktivitesi değerlerine sahip fermente bir gıdadır. Besin içeriği ve yüksek su aktivitesi değerleriyle boza hem yararlı hem de zararlı (gıda bozulmasına yol açan ve/veya patojen) mikroorganizmaların gelişmesi için uygun bir ortam olabilmektedir (Kıvanç vd., 2011; I. Öztürk vd., 2013). Tez kapsamında üretilen boza örneklerinin su aktivitesi değerleri 0,90-0,93 arasında bulunmuş ve aralarında istatistiksel bir fark tespit edilmemiştir ( $p>0,05$ ). Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde boza örneklerinin su aktivitesi değerlerinin genel olarak 0,90 ve üzerinde olduğu görülmüştür. Mısır, buğday, bulgur, patates ve pirinç kullanılarak üretilen boza örneklerinin çeşitli özelliklerinin incelendiği bir çalışmada örneklerin su aktivitesi değerleri 0,99 olarak rapor edilmiştir (Caputo vd., 2012). Yapılan bir çalışmada ham madde olarak mısır, buğday ve pirinç, starter kültür olarak *L.casei* Shirota içeren kültür kullanılarak üretilen boza örneklerinin su aktivitesi değerleri 0,96-0,97 arasında olduğu bildirilmiştir (I. Öztürk vd., 2013). Bir diğer çalışmada 3 farklı marka bozanın su aktivitesi değerleri ölçülmüş ve su aktivitesi değerleri 0,94, 0,91 ve 0,92 olarak tespit edilmiştir (Bayram, 2004).

Gluten, bazı bireylerin tolere edemediği, suda ve 0,5 M NaCl çözeltisinde çözünmeyen; buğday, arpa, yulaf, çavdar veya bunların melezlerinde ve türevlerinde bulunan protein fraksiyonu olarak tanımlanmaktadır (İşleroğlu vd., 2009). Türk Gıda Kodeksi Gluten İntoleransı Olan Bireylere Uygun Gıdalar (Tebliğ No: 2012/4) Tebliği'ne göre “son tüketiciye sunulmak üzere gluten intoleransı olan bireyler için üretilen, melez çeşitleri de dahil olmak üzere buğday, arpa, yulaf veya çavdarın yerini tutan bir veya daha fazla bileşen içeren veya bunlardan oluşan gıdada gluten miktarı 20 mg/kg'yi aşamaz.” ibaresi yer almaktadır. Ayrıca tebliğde bu ürünlerin etiketlenmesinde, reklamında ve tanıtımında “glutensiz” ibaresi kullanılacağı yazmaktadır. Tez çalışmasında yapılan gluten analiz sonuçlarına göre darı, mısır, chia ve kinoa kullanılarak üretilen boza örneklerinin (K, C, Ki, CKi) tamamı tebliğde yer alan glutensiz ürün tanımına uygun bulunmuştur.

EPS, mikroorganizmalar tarafından salgılanan ve hücre dışında bulunan, tekrarlanan şeker veya şeker türevlerinden oluşan uzun zincirli, yüksek moleküler ağırlıklı polisakkaritlerdir. EPS, mikroorganizmaların çevresel koşullara adaptasyonunda önemli rol oynamakta ve biyofilm oluşumunda, hücreler arası iletişimde, stres koşullarından (susuzluk, antimikrobiyal maddeler, toksik bileşenler gibi) korunmada, su tutma kapasitesinin artırılmasında ve patojenlere (özellikle faj saldırıları ve fagositoza karşı) karşı korumada etkili olmaktadır (Flemming ve Wingender, 2010). Mikroorganizmalar ürettikleri EPS'yi enerji kaynağı olarak kullanmazlar (Bayram, 2004). Bazı laktik asit bakterileri (*Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* ve *Leuconostoc*) tarafından sentezlenen EPS, GRAS statüsündedir ve EPS üreticisi bu bakteriler probiyotik özelliklere sahip olabilmektedir (Heperkan vd., 2014).

EPS'nin sağlık üzerine çeşitli olumlu etkileri bulunmaktadır. Bunlardan bazıları prebiyotik , immün modülasyon, antioksidan ve antikanser aktivitelerdir. EPS, bağırsak mikrobiyotasını olumlu yönde etkileyerek prebiyotik özellikler gösterebilmektedir. Bazı laktik asit bakterileri tarafından üretilen EPS, bağırsak mikrobiyotasını dengelemekte ve patojen mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyebilmektedir (Coda vd., 2017; De Vuyst ve Degeest, 1999; Palomba vd., 2012; Ruas-Madiedo vd., 2002). EPS, bağışıklık sistemi üzerinde modülatör etkiler gösterebilmektedir. Çeşitli çalışmalar, bazı EPS türlerinin makrofaj aktivitesini artırarak ve sitokin üretimini düzenleyerek immün yanıtı güçlendirdiğini göstermektedir (Dertli vd., 2016; Torino vd., 2015). EPS, serbest radikallerle reaksiyona girerek antioksidan aktivite gösterebilmektedir. Bu özellik, hücre hasarını azaltarak oksidatif stresin neden olduğu kronik hastalıkların önlenmesinde yardımcı olabilmektedir (Fels vd., 2018; Waldherr vd., 2010; Wolter vd., 2014). Bazı EPS türleri, kanser hücrelerinin çoğalmasını engelleyebilmekte ve apoptozisi (programlanmış hücre ölümü) indükleyebilmektedir. Bu, özellikle kolon kanseri hücrelerinde yapılan *in vitro* çalışmalarla desteklenmiştir (Ruas-Madiedo vd., 2002; Soyucok vd., 2016).

EPS, gıdalarda kıvam artırıcı ve jelleştirici ajan olarak kullanılabilir. Özellikle süt ürünlerinde (kefir, yoğurt ve peynir) EPS, ürünün tekstürünü iyileştirir ve ağızda daha hoş bir his bırakmaktadır (Düven vd., 2021; Grobbsen vd., 1998). EPS, gıdaların su

tutma kapasitesini artırarak kuruma ve bayatlama sürecini yavaşlatmakta ve bu da ürünlerin raf ömrünü uzatmaktadır (De Vuyst ve Degeest, 1999). EPS'ler gıdaların su tutma kapasitesini artırarak serum ayrılmasını önlemek için kullanılabilir. Bu özelliklerinin boza üretiminde de olumlu etkilerinin olacağı düşünülmektedir (Bayram, 2004).

Tez çalışmasında üretilen boza örneklerinde EPS miktarları K örneğinde  $12,19 \pm 0,57$  g EPS/kg boza, C örneğinde  $9,57 \pm 0,13$  g EPS/kg boza, Ki örneğinde  $9,28 \pm 0,21$  g EPS/kg boza ve CKi örneğinde  $9,76 \pm 0,25$  g EPS/kg boza bulunmuştur. Örneklerin (K örneği hariç) EPS miktarları arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır. K örneği diğer örneklerden farklı olarak formülasyonunda daha fazla mısır (9 birim) içermektedir. Bu durumun mikrobiyotanın ve dolayısıyla EPS üretim miktarının değişmesine sebep olabileceği düşünülmüştür.

Literatür incelendiğinde boza örneklerindeki EPS miktarına ilişkin bir çalışma sonucuna rastlanmamıştır ancak bozadan izole edilen LAB ve bunların üretmiş oldukları EPS miktarlarına ilişkin çalışmalar görülmüştür (Allaith vd., 2022; Bayram, 2004; Borcaklı vd., 2018; Bozdemir vd., 2022; Heperkan vd., 2014).

**Çizelge 4.13.** Boza örneklerinin fermentasyon ve soğukta depolama (+4°C) boyunca Briks (°Bx) değerlerindeki değişim

| Örnek Kodu           | °Bx                    |                        |                       |
|----------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|
|                      | 0. saat                | 36. saat               | 6. gün                |
| K                    | $6,30 \pm 0,42^{aB}$   | $18,05 \pm 1,77^{aA}$  | $17,50 \pm 2,12^{aA}$ |
| C                    | $5,15 \pm 0,21^{bB}$   | $15,50 \pm 0,71^{aA}$  | $16,15 \pm 2,62^{aA}$ |
| Ki                   | $6,10 \pm 0,14^{abB}$  | $17,65 \pm 3,32^{aB}$  | $17,10 \pm 2,69^{aA}$ |
| CKi                  | $5,40 \pm 0,20^{abF}$  | $15,10 \pm 0,50^{aA}$  | $14,00 \pm 0,00^{aD}$ |
| <b>En az -En çok</b> | <b>5,15-6,30</b>       | <b>15,10-18,05</b>     | <b>14,00-17,50</b>    |
| Örnek Kodu           |                        |                        |                       |
|                      | 12. gün                | 18. gün                | 24. gün               |
| K                    | $17,15 \pm 1,63^{aA}$  | $17,20 \pm 1,70^{aA}$  | $16,95 \pm 2,33^{aA}$ |
| C                    | $15,75 \pm 2,47^{aA}$  | $15,35 \pm 3,32^{aA}$  | $16,00 \pm 2,83^{aA}$ |
| Ki                   | $16,40 \pm 2,97^{aAB}$ | $16,45 \pm 3,18^{aAB}$ | $17,10 \pm 2,69^{aA}$ |
| CKi                  | $14,10 \pm 0,10^{aC}$  | $13,30 \pm 0,01^{aE}$  | $14,10 \pm 0,03^{aB}$ |
| <b>En az -En çok</b> | <b>14,10-17,15</b>     | <b>13,30-17,20</b>     | <b>14,10-17,10</b>    |

Sonuçlar aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Farklı örneklerin aynı zamandaki farklı küçük harfler ile gösterilen değerleri arasında istatistiksel olarak fark ( $p < 0,05$ ) vardır. Aynı örneğin farklı zamanlardaki farklı büyük harfler ile gösterilen değerleri arasında istatistiksel olarak fark ( $p < 0,05$ ) vardır. K: Geleneksel boza (kontrol); C: Chia katkılı boza, Ki: Kinoa katkılı boza, CKi: Chia ve Kinoa katkılı boza

Boza örneklerinin Briks ölçümü Bölüm 3.4.2’de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiş ve fermentasyon ve +4°C’de soğukta depolama boyunca Briks değerlerindeki değişim Çizelge 4.13’te verilmiştir. Boza örneklerinin Briks değerleri 0. saatte 5,15-6,30 arasında değişmektedir. Tüm örneklerde fermentasyon sonrasında (36. saatte) Briks değerlerinde artış görülmüştür ( $p<0,05$ ). K ve C örneklerinde soğukta depolama boyunca (24 gün) Briks değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Ki örneğinin soğukta depolamanın 6. gününde Briks değerinde azalma meydana gelmiştir ( $p<0,05$ ), bu durum pH değerindeki düşüş ve %laktik asit miktarındaki artışa paralel olarak gerçekleşmiştir. CKi örneğinde ise soğukta depolamanın 18. gününde Briks değerinde azalma ve 24. gününde artış görülmüştür ( $p<0,05$ ). Briks değeri bir gıdanın suda çözünen kuru madde içeriği hakkında bilgi veren bir parametredir (Cemeroğlu, 2013). Bozada gerçekleşen fermentasyon sırasında mikrobiyotada bulunan mikroorganizmalar ortamdaki suda çözünen şekerleri kullanarak laktik aside dönüştürmektedir (Bayram, 2004; Caputo vd., 2012; Ertaş vd., 2019; Heperkan vd., 2014; Pulatsu vd., 2024). Fermentasyonun tamamlandığı 36. saatte Briks değerinde artış olmasının sebebi boza üretiminde şeker ilavesinin fermentasyondan sonra yapılmış olması ve şeker ilavesi yapıldıktan sonra son üründe Briks ölçümü gerçekleştirilmiş olmasıdır. Fermentasyondan sonra soğukta depolama boyunca Briks değerlerindeki düşmenin ve sonrasında da bir miktar artmasının sebebi mikroorganizmaların ortamdaki suda çözünen şekerleri kullanarak laktik aside dönüştürüyor olması ile açıklanabilmektedir. Bu görüşü tez kapsamında üretilen bozalardan elde edilen verilerde görülen pH değerlerindeki düşüş ve laktik asit miktarındaki artış da desteklemektedir. Boza ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde bozanın Briks değerlerinin 12,7-21,9 arasında değişiklik gösterebildiğini ve bunun sebebinin üretiminde kullanılan ham maddelerin farklılığından, bozaya ilave edilen şeker miktarının değişiklik göstermesinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Arici ve Daglioglu, 2002; Bayram, 2004; Ertaş vd., 2019; Göncü vd., 2023; I. Öztürk vd., 2013; Pulatsu vd., 2024).

#### 4.3.3. Renk tayini ve viskozite ölçümü sonuçları

Boza örneklerinde renk tayini Bölüm 3.4.3'te anlatıldığı şekilde yalnızca fermantasyon sonrasında (36. saatte) gerçekleştirilmiş ve  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri kaydedilmiş ve bu değerlerden toplam renk farkı ( $\Delta E$ ) değeri hesaplanmıştır. Boza örneklerinde renk tayini sonuçları Çizelge 4.14'te gösterilmiştir.

**Çizelge 4.14.** Boza örneklerinin renk tayini sonuçları

| Örnek | $L^*$                    | $a^*$                   | $b^*$                    | $\Delta E$              |
|-------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
| K     | 55,20±2,70 <sup>a</sup>  | -4,07±0,56 <sup>b</sup> | 10,75±2,24 <sup>ab</sup> | -                       |
| C     | 51,88±2,27 <sup>b</sup>  | -2,63±0,09 <sup>a</sup> | 10,71±0,65 <sup>ab</sup> | 15,90±4,43 <sup>a</sup> |
| Ki    | 54,29±3,31 <sup>ab</sup> | -3,06±0,06 <sup>a</sup> | 9,68±2,71 <sup>b</sup>   | 5,05±6,67 <sup>b</sup>  |
| CKi   | 55,59±0,05 <sup>a</sup>  | -3,10±0,04 <sup>a</sup> | 12,10±0,03 <sup>a</sup>  | 14,22±7,25 <sup>a</sup> |

Sonuçlar aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütunda farklı küçük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. K: Geleneksel boza (kontrol); C: Chia katkılı boza, Ki: Kinoa katkılı boza, CKi: Chia ve Kinoa katkılı boza.  $L^*$ :aydınlık eksen;  $a^*$ :kırmızı-yeşil eksen;  $b^*$ :sarı-mavi eksen;  $\Delta E$ : toplam renk farkı;  $\Delta E$  hesaplamasında geleneksel boza örneği (K) kontrol örneği olarak kullanılmıştır.

Renk tayininde boza örneklerinin  $L^*$  değerleri arasında istatistiksel açıdan fark bulunmuş ve en yüksek L değerine sahip örnekler CKi ( $L^*=55,59$ ) ve K ( $L^*=55,20$ ) örnekleri olmuştur ( $p<0,05$ ). C örneği ise en düşük L değerine sahip örnek ( $L^*=51,88$ ) olarak bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Tez çalışmasında üretilen boza örneklerinde siyah chia tohumu kullanıldığı için, chia ilavesi bozanın renginin daha esmer görünmesine sebep olmuş, bu durum renk tayini sonuçları ile de desteklenmiştir. Buna karşılık üretimde beyaz kinoa tohumu kullanıldığı için kinoa içeren örneklerin rengi daha açık olmuştur. Boza örneklerinin  $a^*$  değerleri en yüksek K örneğinde ( $-4,07\pm0,56$ ) bulunmuş ( $p<0,05$ ), diğer boza örneklerinin  $a^*$  değerleri arasında önemli bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Örneklerin  $b^*$  değerleri en yüksek CKi örneğinde, sonra sırasıyla K, C ve Ki örneklerinde ölçülmüştür ( $p<0,05$ ). CKi, K ve C örneklerinin formülasyonlarında mısır oranı daha fazla olduğu için bu örneklerin sarılığının Ki örneğine kıyasla daha fazla olduğu düşünülmektedir. Göncü vd. (2023)'ün chia, kinoa, mısır ve pirinç kullanarak ürettikleri boza örnekleri ile yapılan bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmada, chialı boza örneğinin aydınlık ekseninde siyaha en yakın değerde olduğu ( $L^*=44,23$ ), onu sırasıyla kinoa chia karışık boza ( $L^*=51,96$ ) ve kinoalı boza

örneklerinin ( $L^*=58,69$ ) takip ettiği bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda boza örneklerinin  $L^*$  (32,88 - 82,88),  $a^*$  (-7,93 - 4,01) ve  $b^*$  (14,45 - 35,76) değerlerinin oldukça değişken olduğu ve bu değişimin kullanılan ham maddelerden (bulgur, pirinç, chia, kinoa, darı, mısır, buğday gibi) ve bozaların içerisine ilave edilen ingredientlerden (kakao, keçiyoynuzu tozu, meyve gibi) kaynaklı olduğu düşünülmüştür (Berktaş, 2011; Cakir vd., 2024; Duran Balkan, 2011; Göncü vd., 2023; Pulatsu vd., 2024; Sağlam vd., 2018; Tamer, 2004; Tortum, 2018).

Boza örneklerinde viskozite ölçümü Bölüm 3.4.3'te anlatıldığı şekilde yapılmış, fermentasyon ve +4°C'de soğukta depolama boyunca boza örneklerinin viskozite değerlerindeki değişim Çizelge 4.15'te ve Şekil 4.11'da verilmiştir.

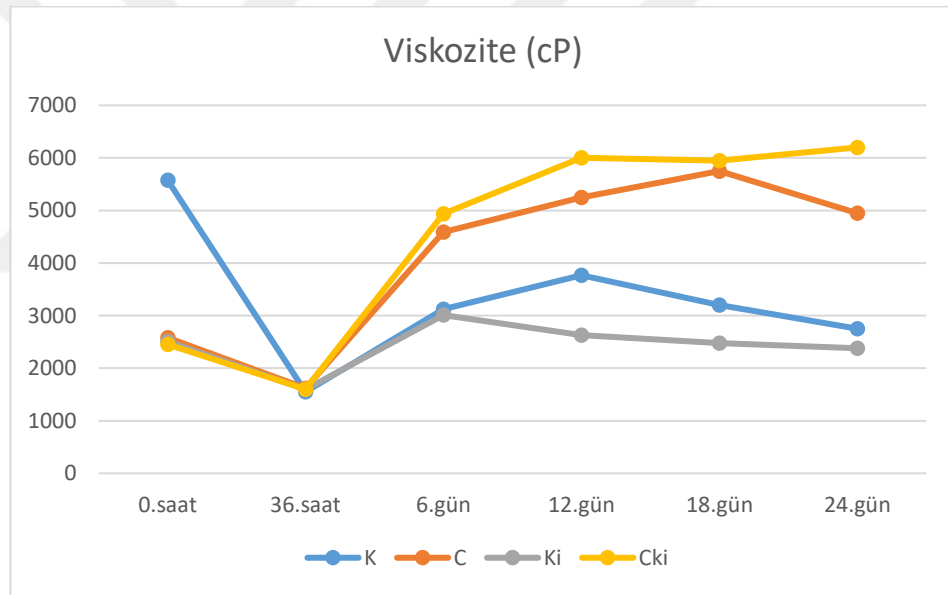
**Çizelge 4.15.** Boza örneklerinin viskozite ölçümü sonuçları

| Örnek Kodu           | Viskozite (cP)              |                             |                              |
|----------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
|                      | 0. saat                     | 36. saat                    | 6. gün                       |
| <b>K</b>             | 5575,00±35,40 <sup>aA</sup> | 1550,00±70,70 <sup>aE</sup> | 3125,00±177,00 <sup>bC</sup> |
| <b>C</b>             | 2580,00±28,30 <sup>bE</sup> | 1620,00±70,80 <sup>aF</sup> | 4590,00±7,10 <sup>aD</sup>   |
| <b>Ki</b>            | 2505,00±7,10 <sup>bcA</sup> | 1595,00±7,10 <sup>aB</sup>  | 3010,00±14,10 <sup>bA</sup>  |
| <b>CKİ</b>           | 2450,00±0,00 <sup>cE</sup>  | 1600,00±0,00 <sup>aF</sup>  | 4940,00±0,00 <sup>aD</sup>   |
| <b>En az -En çok</b> | <b>2450-5575</b>            | <b>1550-1620</b>            | <b>3010-4940</b>             |
| Örnek Kodu           | Viskozite (cP)              |                             |                              |
|                      | 12. gün                     | 18. gün                     | 24. gün                      |
| <b>K</b>             | 3770,00±42,40 <sup>cB</sup> | 3202,5±3,50 <sup>bC</sup>   | 2750,00±70,70 <sup>cD</sup>  |
| <b>C</b>             | 5250,00±70,70 <sup>bB</sup> | 5750,0±70,70 <sup>aA</sup>  | 4950,00±50,60 <sup>bC</sup>  |
| <b>Ki</b>            | 2630,99±99,00 <sup>dA</sup> | 2475,0±460,00 <sup>bA</sup> | 2380,00±27,30 <sup>dA</sup>  |
| <b>CKİ</b>           | 6000,00±0,00 <sup>aB</sup>  | 5950,0±0,10 <sup>aC</sup>   | 6200,00±0,20 <sup>aA</sup>   |
| <b>En az -En çok</b> | <b>2630,99-6000</b>         | <b>2475-5959</b>            | <b>2380-6200</b>             |

Sonuçlar aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Farklı örneklerin aynı zamandaki farklı küçük harfler ile gösterilen değerleri arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. Aynı örneğin farklı zamanlardaki farklı büyük harfler ile gösterilen değerleri arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. K: Geleneksel boza (kontrol); C: Chia katkılı boza, Ki: Kinoa katkılı boza, CKİ: Chia ve Kinoa katkılı boza

Boza örneklerinin fermentasyon başlangıcında (0. saatte) viskozite değerleri 2450-5575 cP arasında bulunmuştur. Başlangıçta viskozite değeri en yüksek boza örneği K, en düşük örnek ise CKİ olarak tespit edilmiştir. Fermentasyonla birlikte tüm boza örneklerinin viskozitesi 0. saate kıyasla önemli ölçüde azalmıştır ( $p<0,05$ ). Boza örneklerinin 36. saatte viskoziteleri arasında istatistiksel açıdan farklılık gözlenmemiş ve 1550-1620 cP arasında ölçülmüştür ( $p>0,05$ ). Soğukta depolamanın 6. gününde tüm boza örneklerinin viskoziteleri artmış ve en çok artış chia içeren örneklerde (C ve CKİ) görülmüştür. Bunun sebebi chianın diğer ham maddelere kıyasla daha yüksek su tutma

kapasitesine sahip olması ve soğuyan bozada jelleşmenin de etkisiyle viskozitede artışa sebep olmasıyla açıklanabilmektedir (Alfredo vd., 2009; Costa vd., 2022; Göncü vd., 2023; Ullah vd., 2016). Soğuk depolama sırasında Ki örneğinin viskozitesinde 6. günden 24. günün sonuna kadar olan süre boyunca bir miktar azalma olsa da istatistiksel açıdan önemli bir değişme görülmemiştir ( $p>0,05$ ). K örneğinin viskozitesi 12. güne kadar artışına devam etmiş ancak 12. günden itibaren viskozite azalmıştır ( $p<0,05$ ). C örneğinin viskozitesi ise 18. güne kadar artış göstermiş ve 18. günden sonra azalmaya başlamıştır ( $p<0,05$ ). CKi örneğinin viskozitesi diğer boza örneklerinden farklı olarak 12. güne kadar artış gösterdikten sonra 18. günde istatistiksel açıdan önemli bir azalma görülmüş ( $p<0,05$ ), soğukta depolamanın 24. gününde ise yeniden artarak en yüksek değerine (6200 cP) ulaşmıştır ( $p<0,05$ ).



**Şekil 4.11.** Boza örneklerinin fermentasyon ve soğukta depolama (+4°C) boyunca viskozite değerlerindeki değişim

Viskozite; bir gıdanın akışa karşı gösterdiği direnç olarak tanımlanmaktadır (Saldamlı, 2007). Gıdaların viskozite değerlerini etkileyen birçok etken bulunmaktadır. Bozanın viskozitesini etkileyen başlıca parametreler; ham maddenin tipi ve hangi oranlarda kullanıldıkları, ham maddedeki nişastanın özellikleri, pişirme süresi, ortamdaki mikroorganizmaların cinsi, türü ve oranları, fermentasyon sıcaklığı ve süresi, raf ömrü

boyunca depolandığı ortamın sıcaklığı olarak sayılabilmektedir (Altay vd., 2013; Bayram, 2004; Ertaş vd., 2019; Genç vd., 2002; Heperkan ., 2014; Pulatsu vd., 2024).

Boza üretimi sırasında ham maddelerin kaynar suda pişirilmesi aşamasında ham maddede bulunan nişasta su alarak şişmekte ve yüksek sıcaklığın etkisi ile jelatinizasyona uğramaktadır. Pişme süresince sıcaklığın etkisiyle nişasta granülleri çözünmekte ve viskozitede artışa neden olmaktadır. Eğer boza üretiminde pişirme esnasında çok fazla karıştırma uygulanırsa bozanın viskozitenin düşmesine (shear thinning) neden olabilmektedir. Bu durum nişastanın çözünürlük özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Ham boza elde edildikten sonra soğutulduğunda ham bozadaki nişasta jelleşmekte ve retrogradasyona uğramaktadır (Saldamlı, 2007). Fermantasyon sırasında oluşan laktik asit ortamdaki proteinlerin denatüre olmasına neden olmakta, alkol fermantasyonu ile oluşan CO<sub>2</sub> ise ortamdaki basıncı artırmakta ve fermantasyon ile nişasta jelinin yapısında meydana değişimler nedeniyle viskozitede artışa veya düşüşe neden olabilmektedir (Duran Balkan, 2011; Genç vd., 2002; Göncü vd., 2023; I. Öztürk vd., 2013). Yapılan çalışmalar bozanın pseudo plastik akış tipinde non-Newtonian bir sıvı olduğunu göstermektedir. Bozanın üretimi esnasında gerçekleşen karıştırma, soğutma, soğukta depolama aşamaları sırasında viskozitesindeki değişimlerin başlıca nedeni bozanın akış tipi ve içerdiği ham maddelerdeki nişastanın özellikleri olmaktadır (Alfredo vd., 2009; Genç vd., 2002; Göncü vd., 2023; I. Öztürk vd., 2013).

Göncü vd. (2023) yaptıkları çalışmada chia, kinoa, darı ve pirinç kullanarak ürettikleri bozalarda kullanılan ham maddenin çeşidinin bozanın reolojik özelliklerini tamamen etkilediğini ve en viskoz örneğin chialı boza örnekleri olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca chiada bulunan müsilaj yapısının da bozanın daha kıvamlı bir hale gelmesine neden olduğunu belirtmişlerdir. I. Öztürk vd. (2013), fermantasyon ile bozadaki şeker konsantrasyonunun azalmasına bağlı olarak viskozitenin düşebileceğini bildirmiştir. Literatürdeki bilgiler tez kapsamında elde edilen veriler ile paralellik göstermekte ve chia içerdiği yüksek su tutma kapasitesine sahip müsilaj yapısı sayesinde depolama sırasında bozanın daha yüksek viskozite değerlerine ulaşmasına neden olmaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalardan da görüldüğü üzere tez çalışmasında üretilen bozalarda

olduğu gibi fermantasyon ile viskozitenin düşebildiği, soğukta depolama ile viskozitenin yeniden artabileceği ve bunun sebebinin bozanın pseudoplastik akış tipine sahip olması olarak değerlendirilmektedir (Duran Balkan, 2011; Ertaş vd., 2019; Genç vd., 2002; Göncü vd., 2023; Heperkan vd., 2014; I. Öztürk vd., 2013; Pulatsu vd., 2024; Zorba vd., 2003).

#### 4.3.4. Farklı ham maddeler ile üretilen boza örneklerinin GABA miktarları

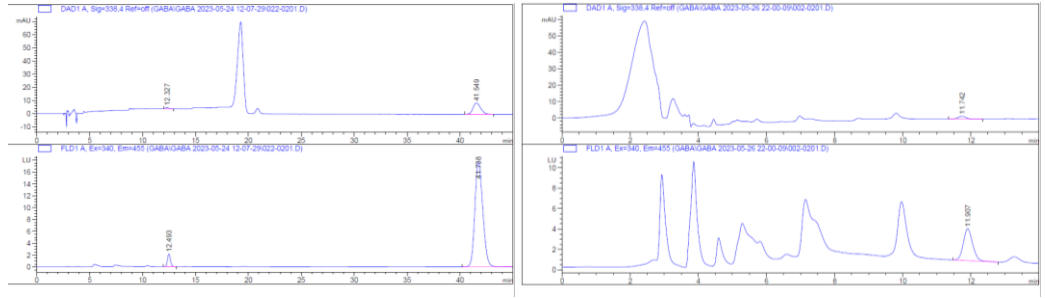
Boza örneklerinde HPLC ile GABA miktarı tayini Bölüm 3.4.4'te anlatıldığı şekilde yalnızca fermantasyon sonrasında (36. saatte) gerçekleştirilmiştir ve sonuçlar Çizelge 4.16'da gösterilmiştir.

**Çizelge 4.16.** Boza örneklerinin HPLC ile GABA miktarı tayini sonuçları

| Örnek | GABA (µg/g) (FLD)       | GABA (µg/g) (DAD)        |
|-------|-------------------------|--------------------------|
| K     | 26,34±0,99 <sup>b</sup> | 26,82±1,46 <sup>b</sup>  |
| C     | 31,41±1,83 <sup>a</sup> | 30,63±1,79 <sup>ab</sup> |
| Ki    | 32,20±1,95 <sup>a</sup> | 32,44±3,03 <sup>a</sup>  |
| CKi   | 31,04±0,56 <sup>a</sup> | 30,97±0,11 <sup>ab</sup> |

Sonuçlar aritmetik ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütunda farklı küçük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. Aynı satırda farklı büyük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. K: Geleneksel boza (kontrol); C: Chia katkılı boza, Ki: Kinoa katkılı boza, CKi: Chia ve Kinoa katkılı boza; FLD: floresans dedektör; DAD:diode array dedektör

Farklı ham maddeler ile üretilen boza örneklerinin GABA miktarlarının floresans dedektör ile 26,34-32,20 arasında değiştiği, DAD dedektörle ise 26,82-32,44 arasında değiştiği belirlenmiştir. Her iki dedektörle ölçüm sonucunda da en az GABA içeriğine sahip boza örneği K, en çok GABA içeren boza örneği ise Ki örneği olmuştur ( $p<0,05$ ). Kinoalı boza örneğinin HPLC sonucu ve standart 5 ppm GABA HPLC sonucu Şekil 12'da verilmiştir.



**Şekil 4.12.** GABA standardı (5 ppm) HPLC sonucu (solda) ve kinoa katkılı boza örneği GABA analizi HPLC kromatogramı (sağda)

GABA, ana işleviyle insan korteksinde inhibitör bir nörotransmitter olarak bilinmektedir ve nöronal uyarılabilirliği düzenlemek için çalışmaktadır (Chua vd., 2018). GABA'nın 2,01-26,4 mg dozda vücuda alındığında stresi azaltma ve/veya stresten koruma, 100-300 mg arasında 1-4 hafta alındığında uyku kalitesini iyileştirme, 10-120 mg arasında 4-12 hafta alındığında yüksek kan basıncını düşürme, günde 2-15 mg/100g arasında 6-7 hafta alındığında yüksek kan glikozunu düşürme gibi sağlık etkileri bulunduğu bildirilmiştir (Lee vd., 2023). Tez kapsamında üretilen bozaların GABA içerikleri 1 porsiyon bozaya (yaklaşık 300g) göre hesaplandığında, K örneğinde yaklaşık 7,90 mg GABA/1 porsiyon boza, C örneğinde yaklaşık 9,42 mg GABA/1 porsiyon boza, Ki örneğinde yaklaşık 9,66 GABA mg/1 porsiyon boza ve CKi örneğinde yaklaşık 9,31 mg GABA/1 porsiyon boza olarak bulunmuştur. Buna göre tez kapsamında üretilen boza örneklerinin 1 porsiyonunun literatürde bahsi geçen sağlık etkilerini (uyku kalitesini iyileştirme hariç) karşılama potansiyeline sahip olduğu düşünülmüştür.

Yapılan çalışmalarda, peynirde 0,26-391 mg/kg (Siragusa vd., 2007), *kimchi*'de 1,9-12,9 mg/100g, *mukeunjee*'de 18,2-99,0 mg/100g (Cho vd., 2011), çeşitli fermente sebze ürünleri, fermente hayvansal gıdalar, fermente soya bazlı ürünler ve fermente deniz ürünlerinde 0,15-99,13 ppm (Le vd., 2020), *tempeh*'te 168,58 ppm, *oncom*'da 136,92 ppm, yakult'da 186,92 ppm, *keju*'da 193,50 ppm, karışık meyveli yoğurtta 257,63 ppm, *tauco*'da 220,96 ppm ve yaban mersinli yoğurtta 193,50 ppm GABA olduğu (Herawati vd., 2021) bildirilmiştir. Literatürdeki çeşitli çalışmalar incelendiğinde tez kapsamında üretilen boza örneklerinin birçok fermente gıda örneğine (fermantasyon koşulları

GABA üretimini artırmak üzere optimize edilmemiş) göre yüksek GABA içeriğinin olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada optimize edilmiş koşullarda (GABA üreticisi starter kültür kullanımı, fermentasyon koşullarının GABA üretimini artırıcı şekilde yeniden düzenlenmesi vb.), chia ve kinoa kullanılarak boza üretimi yapıldığında daha yüksek GABA içeriklerine ulaşılabileceği görülmüştür. Ayrıca chia ve kinoa kullanımının bozanın GABA içeriğini artırdığı tespit edilmiştir.

#### 4.4. Boza Örneklerinden LAB ve Maya İzolasyonu

Farklı ham maddeler ile üretilen boza örneklerinden LAB ve maya izolasyonu Bölüm 3.5'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. İzole edilen LAB'lerine önce Gram boyama uygulanmış ve sonrasında izolatların mikroskopik morfolojileri incelenmiştir. Gram pozitif ve saf kültür halinde olduğu belirlenen izolatlar katalaz testi uygulanmıştır. Katalaz testi negatif sonuç veren izolatlar gliserol stoğa alınmış ve -18°C'de muhafaza edilmiştir.

**Çizelge 4.17.** Farklı boza örneklerinden izole edilerek stoğa alınan LAB ve maya izolat sayıları

| Örnek      | İzole edildiği besiyeri | İzolat sayısı | Stok izolat Sayısı |
|------------|-------------------------|---------------|--------------------|
| <b>K</b>   | MRSA                    | 47            | 29                 |
|            | M17A                    | 44            | 36                 |
|            | KAA                     | 10            | 10                 |
|            | DRBCA                   | 25            | 10                 |
| <b>C</b>   | MRSA                    | 23            | 19                 |
|            | M17A                    | 23            | 16                 |
|            | KAA                     | 6             | 6                  |
|            | DRBCA                   | 14            | 10                 |
| <b>Ki</b>  | MRSA                    | 23            | 13                 |
|            | M17A                    | 23            | 16                 |
|            | KAA                     | 6             | 6                  |
|            | DRBCA                   | 18            | 13                 |
| <b>CKi</b> | MRSA                    | 18            | 12                 |
|            | M17A                    | 13            | 12                 |
|            | KAA                     | 6             | 6                  |
|            | DRBCA                   | 20            | 20                 |

K: geleneksel boza (kontrol örneği); C: chia katkılı boza; Ki: kinoa katkılı boza; CKi: chia ve kinoa katkılı boza; MRSA: De Man Rogosa Sharpe Agar; M17A: M17 Agar; KAA: Kanamisin Esculin Azide Agar; DRBCA: Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar

Farklı boza örneklerinden (K, C, Ki ve CKi) izole edilerek stoğa alınan LAB ve maya izolatlarının sayıları, izole edildikleri besiyerleri, izolatları geliştirmek için kullanılan besiyerleri ve inkübasyon koşulları Çizelge 4.17 ve Çizelge 4.18’de verilmiştir. Buna göre K örneğinde MRSA besiyerinden 47 adet LAB izole edilmiş, 29 adeti gliserol stoğa alınmış; M17A besiyerinden 44 adet LAB izole edilmiş, 36 adeti gliserol stoğa alınmış; KAA besiyerinden 10 adet LAB izole edilmiş, tamamı gliserol stoğa alınmış ve DRBCA besiyerinden 25 adet maya izole edilmiş, 10 adeti gliserol stoğa alınmıştır. C örneğinde MRSA besiyerinden 23 adet LAB izole edilmiş, 19 adeti gliserol stoğa alınmış; M17A besiyerinden 23 adet LAB izole edilmiş, 16 adeti gliserol stoğa alınmış; KAA besiyerinden 6 adet LAB izole edilmiş, tamamı gliserol stoğa alınmış ve DRBCA besiyerinden 14 adet maya izole edilmiş, 10 adeti gliserol stoğa alınmıştır. Ki örneğinde MRSA besiyerinden 23 adet LAB izole edilmiş, 13 adeti gliserol stoğa alınmış; M17A besiyerinden 23 adet LAB izole edilmiş, 16 adeti gliserol stoğa alınmış; KAA besiyerinden 6 adet LAB izole edilmiş, tamamı gliserol stoğa alınmış ve DRBCA besiyerinden 18 adet maya izole edilmiş, 13 adeti gliserol stoğa alınmıştır. CKi örneğinde MRSA besiyerinden 18 adet LAB izole edilmiş, 12 adeti gliserol stoğa alınmış; M17A besiyerinden 13 adet LAB izole edilmiş, 12 adeti gliserol stoğa alınmış; KAA besiyerinden 6 adet LAB ve DRBCA besiyerinden 20 adet maya izole edilmiş, tamamı gliserol stoğa alınmıştır.

**Çizelge 4.18.** Gliserol stoğa alınan LAB ve maya izolatlarının sayısı, izole edildikleri besiyerleri ve inkübasyon koşulları

| İzolatın alındığı besiyeri | İnkübasyon Koşulları | Toplam İzolat Sayısı | Stoğa alınan izolat sayısı |
|----------------------------|----------------------|----------------------|----------------------------|
| <b>MRSA</b>                | 30°C’de 24 saat      | 111                  | 73                         |
| <b>M17A</b>                | 30°C’de 24 saat      | 103                  | 80                         |
| <b>KAA</b>                 | 37°C’de 24 saat      | 28                   | 28                         |
| <b>DRBCA</b>               | 25°C’de 3-5 gün      | 77                   | 53                         |
| <b>TOPLAM</b>              |                      | <b>309</b>           | <b>234</b>                 |

Boza örneklerinde MRSA besiyerinden toplamda 111 LAB izole edilmiş, bunlardan 73 tanesi; M17A besiyerinden toplamda 103 LAB izole edilmiş, bunlardan 80 tanesi; KAA besiyerinden toplamda 28 LAB izole edilmiş ve tamamı saf kültür halinde, Gram pozitif

ve katalaz negatif özelliklere sahip bulunmuş ve gliserol stoğa alınmıştır. Ayrıca çalışmada toplam 77 adet maya izole edilmiş mikroskop morfolojilerinin incelenmesi sonucu bunlardan 53 tanesi gliserol stoğa alınmıştır. Tez çalışması kapsamında toplamda 309 adet mikroorganizma izole edilmiş ve bunlardan 234 tanesi gliserol stoğa alınmıştır.

**Çizelge 4.19.** Geleneksel boza (K) örneğinden izole edilen LAB izolatlarının Gram boyama ve katalaz testi sonuçları ile mikroskobik morfolojileri

| No                                                            | Kod      | Gr | Kt | MM                | No | Kod     | Gr | Kt | MM           |
|---------------------------------------------------------------|----------|----|----|-------------------|----|---------|----|----|--------------|
| 1                                                             | 0K-1K    | +  | -  | Kok, uzun zincir  | 38 | 21MR    | +  | -  | Streptobasil |
| 2                                                             | 0K-2K    | +  | -  | Kok               | 39 | 23MR    | +  | -  | Kısa çubuk   |
| 3                                                             | 0K-3K    | +  | -  | Kok               | 40 | 24K-1m  | +  | -  | Streptokok   |
| 4                                                             | 24K-1K   | +  | -  | Streptokok        | 41 | 24K-3m  | +  | -  | Kok          |
| 5                                                             | 24K-2K   | +  | -  | Kok               | 42 | 24K-4m  | +  | -  | Streptokok   |
| 6                                                             | 49K      | +  | -  | Kok               | 43 | 24K-5m  | +  | -  | Streptokok   |
| 7                                                             | 50K      | +  | -  | Kok               | 44 | 24K-6m  | +  | -  | Kok          |
| 8                                                             | 51K      | +  | -  | Kok               | 45 | 24K-8m  | +  | -  | Kok          |
| 9                                                             | 53K      | +  | -  | Kok               | 46 | 24K-9m  | +  | -  | Streptokok   |
| 10                                                            | 54K      | +  | -  | Kok               | 47 | 24K-10m | +  | -  | Kok          |
| 11                                                            | 24K-4MR  | +  | -  | Streptokok        | 48 | K-1m    | +  | -  | Kok          |
| 12                                                            | 24K-5MR  | +  | -  | Streptokok        | 49 | K-2m    | +  | -  | Kokobasil    |
| 13                                                            | 24K-6MR  | +  | -  | Diplobasil        | 50 | K-3m    | +  | -  | Kısa çubuk   |
| 14                                                            | 24K-7MR  | +  | -  | Kısa çubuk        | 51 | K-4m    | +  | -  | Kok          |
| 15                                                            | 24K-8MR  | +  | -  | Diplobasil        | 52 | K-5m    | +  | -  | Kok          |
| 16                                                            | 24K-9MR  | +  | -  | Kokobasil, zincir | 53 | K-7m    | +  | -  | Kokobasil    |
| 17                                                            | 24K-10MR | +  | -  | Kokobasil, zincir | 54 | K-8m    | +  | -  | Kokobasil    |
| 18                                                            | 0K-2MR   | +  | -  | Streptobasil      | 55 | 25m     | +  | -  | Kokobasil    |
| 19                                                            | 0K-3MR   | +  | -  | Streptobasil      | 56 | 26m     | +  | -  | Kısa çubuk   |
| 20                                                            | K-1MR    | +  | -  | Kısa çubuk        | 57 | 27m     | +  | -  | Streptokok   |
| 21                                                            | K-2MR    | +  | -  | Kısa çubuk        | 58 | 28m     | +  | -  | Kokobasil    |
| 22                                                            | K-5MR    | +  | -  | Kısa çubuk        | 59 | 29m     | +  | -  | Kok          |
| 23                                                            | K-6MR    | +  | -  | Kısa çubuk        | 60 | 30m     | +  | -  | Kok          |
| 24                                                            | K-7MR    | +  | -  | Kokobasil         | 61 | 31m     | +  | -  | Kokobasil    |
| 25                                                            | K-8MR    | +  | -  | Kokobasil         | 62 | 32m     | +  | -  | Kok          |
| 26                                                            | K-9MR    | +  | -  | Kokobasil         | 63 | 33m     | +  | -  | Çubuk        |
| 27                                                            | 4MR      | +  | -  | Kısa çubuk        | 64 | 34m     | +  | -  | Kokobasil    |
| 28                                                            | 5MR      | +  | -  | Kısa çubuk        | 65 | 35m     | +  | -  | Kokobasil    |
| 29                                                            | 9MR      | +  | -  | Kokobasil         | 66 | 36m     | +  | -  | Kısa çubuk   |
| 30                                                            | 10MR     | +  | -  | Kok               | 67 | 37m     | +  | -  | Kok          |
| 31                                                            | 11MR     | +  | -  | Kısa çubuk        | 68 | 38m     | +  | -  | Kok          |
| 32                                                            | 12MR     | +  | -  | Kısa çubuk        | 69 | 39m     | +  | -  | Kokobasil    |
| 33                                                            | 13MR     | +  | -  | Kok               | 70 | 40m     | +  | -  | Streptokok   |
| 34                                                            | 15MR     | +  | -  | Kok               | 71 | 41m     | +  | -  | Kokobasil    |
| 35                                                            | 18MR     | +  | -  | Kokobasil         | 72 | 42m     | +  | -  | Kokobasil    |
| 36                                                            | 19MR     | +  | -  | Kısa çubuk        | 73 | 43m     | +  | -  | Diplokok     |
| 37                                                            | 20MR     | +  | -  | Streptobasil      | 74 | 44m     | +  | -  | Kok          |
| Gr: Gram Boyama, Kt: Katalaz testi; MM: mikroskobik morfoloji |          |    |    |                   | 75 | 45m     | +  | -  | Kok          |

Gliserol stoğa alınan LAB izolatlarının Gram boyama ve katalaz testi sonuçları ile mikroskopik morfolojileri Çizelge 4.19, Çizelge 4.20, Çizelge 4.21 ve Çizelge 4.22’de verilmiştir. Farklı boza örneklerinden (K, C, Ki, CKi) çeşitli mikroskopik morfolojilerde (kok, diplokok, streptokok, basil, diplobasil, streptobasil, kokobasil gibi) LAB izolatları elde edilmiştir. Farklı boza örneklerinden (K, C, Ki, CKi) izole edilerek gliserol stoğa alınan maya izolatlarının kodları Çizelge 4.23’te verilmiştir.

**Çizelge 4.20.** Chialı boza (C) örneğinden izole edilen LAB izolatlarının Gram boyama ve katalaz testi sonuçları ile mikroskopik morfolojileri

| No | Kod     | Gr | Kt | MM              | No | Kod      | Gr | Kt | MM               |
|----|---------|----|----|-----------------|----|----------|----|----|------------------|
| 1  | 0C-1K   | +  | -  | Kok             | 22 | 24C-10MR | +  | -  | Kokobasil        |
| 2  | 0C-2K   | +  | -  | Streptokok      | 23 | 0C-1MR   | +  | -  | Kok              |
| 3  | 0C-3K   | +  | -  | Kok             | 24 | 0C-2MR   | +  | -  | Kok              |
| 4  | 24C-1K  | +  | -  | Kok             | 25 | 0C-3MR   | +  | -  | Kok, uzun zincir |
| 5  | 24C-2K  | +  | -  | Streptokok      | 26 | C-3m     | +  | -  | Kok              |
| 6  | 24C-3K  | +  | -  | Kok             | 27 | C-6m     | +  | -  | Kok              |
| 7  | C-1MR   | +  | -  | Kokobasil       | 28 | C-7m     | +  | -  | Kok              |
| 8  | C-2MR   | +  | -  | Kokobasil       | 29 | C-8m     | +  | -  | Kokobasil        |
| 9  | C-3MR   | +  | -  | Kokobasil       | 30 | C-9m     | +  | -  | Kok              |
| 10 | C-4MR   | +  | -  | Çubuk           | 31 | C-10m    | +  | -  | Streptokok       |
| 11 | C-5MR   | +  | -  | Kokobasil       | 32 | 24C-1m   | +  | -  | Diplokok         |
| 12 | C-6MR   | +  | -  | Kokobasil       | 33 | 24C-2m   | +  | -  | Kok              |
| 13 | C-7MR   | +  | -  | Kokobasil       | 34 | 24C-3m   | +  | -  | Diplokok         |
| 14 | C-8MR   | +  | -  | Streptokok      | 35 | 24C-4m   | +  | -  | Diplokok         |
| 15 | C-9MR   | +  | -  | Çubuk           | 36 | 24C-5m   | +  | -  | Diplokok         |
| 16 | C10MR   | +  | -  | Kokobasil       | 37 | 24C-6m   | +  | -  | Diplokok         |
| 17 | 24C-2MR | +  | -  | Çubuk, granüllü | 38 | 24C-7m   | +  | -  | Diplokok         |
| 18 | 24C-3MR | +  | -  | Kısa çubuk      | 39 | 24C-8m   | +  | -  | Kok              |
| 19 | 24C-6MR | +  | -  | Çubuk, granüllü | 40 | 24C-9m   | +  | -  | Streptokok       |
| 20 | 24C-7MR | +  | -  | Kısa çubuk      | 41 | 24C-10m  | +  | -  | Streptokok       |
| 21 | 24C-9MR | +  | -  | Streptokok      | 42 | 0C-3m    | +  | -  | Kok              |

Gr: Gram Boyama, Kt: Katalaz testi; MM: mikroskopik morfoloji

Farklı besiyerlerinden izole edilen bazı LAB ve maya izolatlarının ışık mikroskobu görüntüleri Şekil 4.13’te verilmiştir.

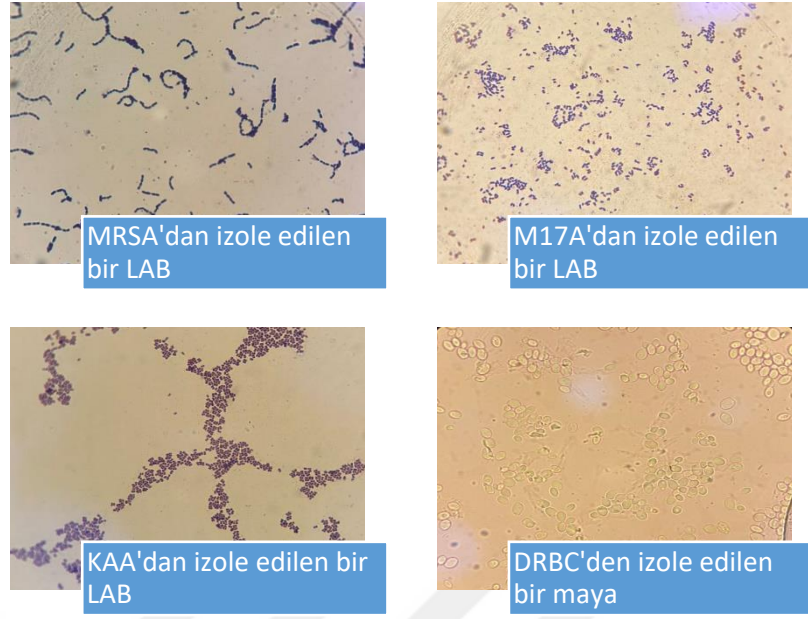
**Çizelge 4.21.** Kinoalı boza (Ki) örneğinden izole edilen LAB izolatlarının Gram boyama ve katalaz testi sonuçları ile mikroskopik morfolojileri

| No                                                            | Kod      | Gr | Kt | MM                | No | Kod      | Gr | Kt | MM         |
|---------------------------------------------------------------|----------|----|----|-------------------|----|----------|----|----|------------|
| 1                                                             | 24Ki-1K  | +  | -  | Kok               | 18 | Ki-9MR   | +  | -  | Kısa çubuk |
| 2                                                             | 24Ki-2K  | +  | -  | Streptokok        | 19 | Ki-10MR  | +  | -  | Kısa çubuk |
| 3                                                             | 24Ki-3K  | +  | -  | Kok               | 20 | Ki-1m    | +  | -  | Diplokok   |
| 4                                                             | 0Ki-1K   | +  | -  | Streptokok        | 21 | Ki-2m    | +  | -  | Kok        |
| 5                                                             | 0Ki-2K   | +  | -  | Kok               | 22 | Ki-3m    | +  | -  | Kok        |
| 6                                                             | 0Ki-3K   | +  | -  | Kok               | 23 | Ki-5m    | +  | -  | Streptokok |
| 7                                                             | 24Ki-3MR | +  | -  | Streptokok        | 24 | Ki-6m    | +  | -  | Streptokok |
| 8                                                             | 24Ki-6MR | +  | -  | Diplokok          | 25 | Ki-7m    | +  | -  | Kokobasil  |
| 9                                                             | 24Ki-8MR | +  | -  | Diplobasil        | 26 | Ki-8m    | +  | -  | Kokobasil  |
| 10                                                            | 0Ki-1MR  | +  | -  | Kokobasil, zincir | 27 | Ki-9m    | +  | -  | Kokobasil  |
| 11                                                            | Ki-1MR   | +  | -  | Diplobasil        | 28 | 24Ki-1m  | +  | -  | Streptokok |
| 12                                                            | Ki-2MR   | +  | -  | Kokobasil, zincir | 29 | 24Ki-2m  | +  | -  | Streptokok |
| 13                                                            | Ki-3MR   | +  | -  | Kokobasil, zincir | 30 | 24Ki-3m  | +  | -  | Streptokok |
| 14                                                            | Ki-4MR   | +  | -  | Kısa çubuk        | 31 | 24Ki-5m  | +  | -  | Kok        |
| 15                                                            | Ki-5MR   | +  | -  | Kokobasil         | 32 | 24Ki-6m  | +  | -  | Kok        |
| 16                                                            | Ki-7MR   | +  | -  | Kokobasil, zincir | 33 | 24Ki-7m  | +  | -  | Diplokok   |
| 17                                                            | Ki-8MR   | +  | -  | Kokobasil, zincir | 34 | 24Ki-9m  | +  | -  | Streptokok |
| Gr: Gram Boyama, Kt: Katalaz testi; MM: mikroskopik morfoloji |          |    |    |                   | 35 | 24Ki-10m | +  | -  | Streptokok |

**Çizelge 4.22.** Chia ve kinoalı boza (CKi) örneğinden izole edilen LAB izolatlarının Gram boyama ve katalaz testi sonuçları ile mikroskopik morfolojileri

| No | Kod        | Gr | Kt | MM               | No | Kod       | Gr | Kt | MM         |
|----|------------|----|----|------------------|----|-----------|----|----|------------|
| 1  | 0CKi-1K    | +  | -  | Kok, uzun zincir | 16 | 6CKi-3MR  | +  | -  | Kok, tekli |
| 2  | 0CKi-2K    | +  | -  | Kok, uzun zincir | 17 | 6CKi-4MR  | +  | -  | Kok, ikili |
| 3  | 0CKi-3K    | +  | -  | Kok, uzun zincir | 18 | 6CKi-5MR  | +  | -  | Kok, ikili |
| 4  | 24CKi-1K   | +  | -  | Kok              | 19 | 0CKi-1m   | +  | -  | Kısa çubuk |
| 5  | 24CKi-2K   | +  | -  | Kok, uzun zincir | 20 | 0CKi-2m   | +  | -  | Kısa çubuk |
| 6  | 24CKi-3K   | +  | -  | Kok              | 21 | 24CKi-1m  | +  | -  | Streptokok |
| 7  | 24CKi-2MR  | +  | -  | Kısa çubuk       | 22 | 24CKi-2m  | +  | -  | Kok        |
| 8  | 24CKi-3MR  | +  | -  | Diplobasil       | 23 | 24CKi-3m  | +  | -  | Kok        |
| 9  | 24CKi-4MR  | +  | -  | Streptokok       | 24 | 24CKi-4m  | +  | -  | Streptokok |
| 10 | 24CKi-6MR  | +  | -  | Diplobasil       | 25 | 24CKi-5m  | +  | -  | Streptokok |
| 11 | 24CKi-8MR  | +  | -  | Diplobasil       | 26 | 24CKi-6m  | +  | -  | Streptokok |
| 12 | 24CKi-9MR  | +  | -  | Diplobasil       | 27 | 24CKi-7m  | +  | -  | Kok        |
| 13 | 24CKi-10MR | +  | -  | Diplobasil       | 28 | 24CKi-8m  | +  | -  | Diplokok   |
| 14 | 6CKi-1MR   | +  | -  | Diplobasil       | 29 | 24CKi-9m  | +  | -  | Diplokok   |
| 15 | 6CKi-2MR   | +  | -  | Streptobasil     | 30 | 24CKi-10m | +  | -  | Diplokok   |

Gr: Gram Boyama, Kt: Katalaz testi; MM: mikroskopik morfoloji



**Şekil 4.13.** Boza örneklerinden izole edilen LAB ve mayaların ışık mikroskobu görüntüleri

Boza, birçok farklı mikroorganizmayı barındıran fermente bir tahıl içeceğidir (Çizelge 2.1 ve Çizelge 2.2). Başlıca homofermantatif LAB, heterofermantatif LAB ve mayalar boza fermentasyonundan sorumludur. Bozada fermentasyonda rol alan bakterilerin ve mayaların sayısı ve çeşidi, kullanılan ham maddenin çeşidine ve hangi oranda kullanıldığına göre de oldukça değişkenlik göstermektedir (Altay vd., 2013; R Cholakov vd, 2014; S. D. Todorov vd., 2008).

Yapılan çalışmalarda ticari olarak satılan Bulgar bozasından amilolitik *Lb. plantarum*, *Lb. pentosus* (Petrova vd., 2010), Türkiye’de satılan 4 farklı firmanın bozasından *Candida*, *Clavispora*, *Cryptococcus*, *Cystofilobasidium*, *Geotrichum*, *Coniochaete*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Torulaspora* ve *Trichosporan* cinslerine ait maya (Caputo vd., 2012), doğal fermente Bulgar bozasından *Leu. lactis* (R. Cholakov vd., 2017), Trakya bölgesindeki 5 farklı firmaya ait bozalardan *Gluconacetobacter liquefaciens*, *Lb. fermentum*, *Glu. tumulicola*, *Lb. plantarum*, *Gluconbacter albidus*, *Gluconobacter cerinus*, *Lb. pentosus*, *Lb. brevis*, *Lb. paracasei*, *Leu. lactis*, *Lc. lactic*, *Micrococcus yunnanensis* (Tortum, 2018), Bulgar bozasından bakteriyosin üreticisi *Enterococcus faecium* (Valledor vd., 2020), Isparta’da yerel bir üreticiden alınan

bozadan *Leu. lactis*, *Leu. palmae*, *L. raffinolactis* ve *Lactococcus* spp. (Kavruk vd., 2021) izole edildiği bildirilmiştir. Bunların haricinde bozadan izole edilen çok çeşitli cins ve türde LAB ve maya olduğu yapılan birçok çalışmada da rapor edilmiştir (Allaith vd., 2022; Basbülbul vd., 2015; Bayram, 2004; Botes vd., 2007; Bozdemir vd., 2022; Gök Charyyev vd., 2019; Hancıoğlu ve Karapınar, 1997; Heperkan vd., 2014; Kıvanç vd., 2011; Osimani vd., 2015; Queiroz vd., 2023; S. D. Todorov vd., 2008; S. D. Todorov ve Dicks, 2007; Tuncer vd., 2008; Ucak vd., 2022; Uysal vd., 2009; Zorba vd., 2003).

**Çizelge 4.23.** Farklı boza örneklerinden elde edilen maya izolatlarının kodları

| No | Kod     | Boza | No | Kod      | Boza | No | Kod       | Boza |
|----|---------|------|----|----------|------|----|-----------|------|
| 1  | 24K-1d  | K    | 19 | 24Ki-9d  | Ki   | 37 | 0CKi-4d   | CKi  |
| 2  | 24K-2d  | K    | 20 | 24Ki-10d | Ki   | 38 | 0CKi-5d   | CKi  |
| 3  | 24K-3d  | K    | 21 | 0Ki-1d   | Ki   | 39 | 0CKi-6d   | CKi  |
| 4  | 24K-4d  | K    | 22 | 0Ki-2d   | Ki   | 40 | 0CKi-7d   | CKi  |
| 5  | 24K-5d  | K    | 23 | 0Ki-3d   | Ki   | 41 | 0CKi-8d   | CKi  |
| 6  | 24K-6d  | K    | 24 | 24C-1d   | C    | 42 | 0CKi-9d   | CKi  |
| 7  | 24K-7d  | K    | 25 | 24C-2d   | C    | 43 | 0CKi-10d  | CKi  |
| 8  | 24K-8d  | K    | 26 | 24C-3d   | C    | 44 | 24CKi-1d  | CKi  |
| 9  | 24K-9d  | K    | 27 | 24C-4d   | C    | 45 | 24CKi-2d  | CKi  |
| 10 | 24K-10d | K    | 28 | 24C-5d   | C    | 46 | 24CKi-3d  | CKi  |
| 11 | 24Ki-1d | Ki   | 29 | 24C-6d   | C    | 47 | 24CKi-4d  | CKi  |
| 12 | 24Ki-2d | Ki   | 30 | 24C-7d   | C    | 48 | 24CKi-5d  | CKi  |
| 13 | 24Ki-3d | Ki   | 31 | 24C-8d   | C    | 49 | 24CKi-6d  | CKi  |
| 14 | 24Ki-4d | Ki   | 32 | 24C-9d   | C    | 50 | 24CKi-7d  | CKi  |
| 15 | 24Ki-5d | Ki   | 33 | 24C-10d  | C    | 51 | 24CKi-8d  | CKi  |
| 16 | 24Ki-6d | Ki   | 34 | 0CKi-1d  | CKi  | 52 | 24CKi-9d  | CKi  |
| 17 | 24Ki-7d | Ki   | 35 | 0CKi-2d  | CKi  | 53 | 24CKi-10d | CKi  |
| 18 | 24Ki-8d | Ki   | 36 | 0CKi-3d  | CKi  |    |           |      |

K: geleneksel boza (kontrol örneği); C: chia katkılı boza; Ki: kinoa katkılı boza; CKi: chia ve kinoa katkılı boza.

Tez kapsamında farklı besiyerleri kullanılarak ve farklı koloni morfolojilerine sahip kolonilerden seçimler yapılarak çeşitli LAB ve maya türlerinin izole edilmesi hedeflenmiştir. İzolatların mikroskopik morfolojilerinden elde edilen verilere göre farklı cins ve türlerde LAB ve maya izolatları elde edildiği düşünülmüştür. Gram pozitif ve katalaz negatif olduğu belirlenen 234 adet saf kültür halindeki izolat bir sonraki aşamada GABA üretim potansiyelleri açısından değerlendirilmiştir.

#### 4.5. Boza Örneklerinden İzole Edilen LAB ve Mayaların PIM Yöntemi ile GABA Üretim Potansiyellerinin Belirlenmesi

Gram pozitif ve katalaz negatif olduğu belirlenen LAB ve maya izolatlarının GABA üretim yeteneklerini tespit etmek amacıyla izolatlara Bölüm 3.6’da anlatılan pH indikatör yöntemi (PIM) uygulanmıştır. Analiz sonucu son aşamada süpernatantta oluşan renge göre değerlendirilmiştir. Morumsu-kırmızıdan yeşile bir renk dönüşümü GABA üretimi göstergesi olarak belirlenmiştir (Diana, Rafecas, vd., 2014; Yang vd., 2006). Yöntem ile GABA üretim potansiyeli pozitif bulunan izolatlara ait görüntüler Şekil 4.14’te verilmiştir.



**Şekil 4.14.** Boza örneklerinden izole edilen LAB ve mayaların PIM ile GABA üretim potansiyellerinin belirlenmesi

Yöntem ile tez kapsamında izole edilen toplam 234 adet izolatın GABA üretim potansiyeli incelenmiş, LAB’lerinden 105 tanesinin ve mayalardan ise 32 tanesinin yöntemle göre GABA üretim potansiyeli olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.24). GABA üretim potansiyeli pozitif olarak bulunan 137 adet izolatın probiyotik potansiyellerinin belirlenmesi aşamasına geçilmiş ve ilk olarak çeşitli mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir.

**Çizelge 4.24.** Farklı boza örneklerinden GABA üretim potansiyeli pozitif bulunan LAB ve maya izolat sayıları

| <b>Örnek</b>  | <b>LAB</b> | <b>Maya</b> | <b>Toplam</b> |
|---------------|------------|-------------|---------------|
| <b>K</b>      | 49         | 9           | <b>58</b>     |
| <b>C</b>      | 18         | 9           | <b>27</b>     |
| <b>Ki</b>     | 25         | 6           | <b>31</b>     |
| <b>CKi</b>    | 13         | 8           | <b>21</b>     |
| <b>Toplam</b> | <b>105</b> | <b>32</b>   | <b>137</b>    |

LAB ve mayaların GABA üretim potansiyellerinin ve GABA üretim miktarlarının tespit edilebilmesi amacıyla literatürde çeşitli yöntemler (gaz kromatografisi, HPLC, kalın tabaka kromatografisi, amino asit analizörü, kağıt kromatografisi, ELISA gibi) kullanılmaktadır (Chua vd., 2018; Hudec vd., 2015; D. H. Kim vd., 2018; S. Li vd., 2022; Perpetuini vd., 2020). Çalışmada PIM yönteminin tercih edilmesinin nedeni boza örneklerinden izole edilen LAB ve maya izolatlarının GABA üretim potansiyellerinin hızlı, kolay, pratik, düşük maliyetli ve az ekipman ile tekrar edilebilir bir şekilde tespit edilebilmesini sağlaması olarak açıklanabilmektedir. Yöntemde test edilmek istenilen mikroorganizmanın glutamat dekarboksilaz (GAD) enzim faaliyetinin varlığı ortamın pH değişiminin tespiti ilkesine dayanarak gerçekleştirilmektedir. Yöntemin prensibine göre, test edilmek istenen mikroorganizma, pH'sı ve substrat miktarı önceden ayarlanmış bir ortama ilave edilmekte ve mikroorganizmanın substratı kullanarak ortamın pH'sını değiştirme durumu gözlenmekte ve ortama ilave edilen pH indikatörü sayesinde renk değişmesi söz konusu olduğunda enzim varlığı pozitif olarak kaydedilmektedir (Diana, Rafecas, vd., 2014; Yang vd., 2006).

LAB ve mayaların bir ortamdaki substrattan (monosodyum glutamat, glutamik asit, glutamat gibi) GABA üretimi sırasında GAD enziminin aktivitesinde birçok faktör (substrat miktarı, sıcaklık, başlangıç mikroorganizma sayısı, pH sıcaklık, O/R potansiyeli, ortamdaki diğer bileşenler gibi) rol oynamaktadır. Bu faktörler arasında en önemlilerinin başlangıç substrat miktarı, pH ve sıcaklık olduğu bildirilmiştir (Diana, Quílez, vd., 2014; H. Li ve Cao, 2010; Quílez ve Diana, 2017). Yapılan çalışmalarda GAD enzim aktivitesi için optimum pH aralığının 3,8 ile 5,0 arasında olduğu ve

mikroorganizmanın çeşidine bağlı olarak GAD enzim aktivitesi için optimum pH'nın değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca ortamdaki glutamik asitin GABA'ya dönüştüğü pH'nın çoğu mikroorganizmada 4,7 olduğu belirlenmiştir (Yang vd., 2006). GAD enziminin en aktif olduğu sıcaklık ise yapılan çalışmalarda 30-37°C olarak verilmiştir (H. Li ve Cao, 2010; Ribeiro vd., 2018; Sahab vd., 2020; Song vd., 2021).

Literatür incelendiğinde farklı gıdalardan GABA üreticisi LAB ve maya izolasyonu konusunda çalışmalar görülmüş ve bu çalışmaların bazıları Çizelge 2.5 ve 2.6'da gösterilmiştir. Buna karşılık, bu tez çalışması literatürde farklı ham maddelerden üretilmiş bozalardan izole edilen LAB ve mayaların GABA üretme yeteneğini inceleyen ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır.

#### **4.6. Boza örneklerinden İzole Edilen GABA Üreticisi İzolatların Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi**

##### **4.6.1. İzolatların antimikrobiyal aktiviteleri**

Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak nitelendirilebilmesi için belirli özellikleri taşıyor olması gerekmektedir. Bu kriterlerden birisi de patojen mikroorganizmalara karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktivitedir (Ray ve Bhunia, 2007). Bu nedenle tez kapsamında GABA üreticisi olduğu tespit edilen LAB ve maya izolatlarının probiyotik özellik taşıyıp taşımadığının belirlenebilmesi için ilk olarak antimikrobiyal aktivite özellikleri incelenmiştir.

Antimikrobiyal aktivite, mikroorganizmanın üretmiş olduğu organik asit (laktik asit, asetik asit, propiyonik asit, formik asit gibi), CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, diasetil ve bakteriyosinler gibi inhibitör maddeler ile karşılaştığı potansiyel tehlikeli mikroorganizmanın kendisini veya ürettiği metabolitleri inhibe edebilme yeteneği olarak tanımlanmaktadır (Cotter vd., 2005; Gänzle, 2015). Literatürde bu alanda yapılmış birçok çalışmada farklı türdeki mikroorganizmaların farklı tipte ve etkinlikte antimikrobiyal maddeler ürettiklerini bildirilmiştir (Bağcı, 2012; Cotter vd., 2005; Dertli, 2015; Gänzle, 2015; Klingberg vd., 2005; Thakur ve Tariq, 2019). Probiyotik LAB'leri, özellikle bağırsakta üretmiş oldukları antimikrobiyal maddeler ile patojenlerin neden olduğu bağırsak hastalıklarına

karşı koruyucu etki gösterebilmekte, bağırsakta patojenlerin neden olduğu enfeksiyon sırasında patojen mikroorganizmayla savaşabilmektedir (Cotter vd., 2005; Dahiya ve Nigam, 2022; Möckl vd., 2020; Ogunbanwo vd., 2003; Ren vd., 2018; Stiemsma vd., 2020).

Çalışmada, GABA üretim potansiyeli bulunan 137 adet izolatın öncelikle Bölüm 3.7.1’de anlatılan agar damlatma testine göre antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Sonuçlar, Şekil 4.15, Çizelge 4.25, Çizelge 4.26, Çizelge 4.27 ve Çizelge 4.28 ve Çizelge 4.29’da verilmiştir.

**Çizelge 4.25.** Geleneksel boza (K) örneğinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının agar damlatma testi yöntemine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları

| No | Kod      | 1   | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   | 7   | 8   |
|----|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 1  | 0K-2K    | -   |     | +   | +   | -   | -   | -   | -   |
| 2  | 0K-3K    | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| 3  | 24K-1K   | -   | +   | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| 4  | 24K-2K   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| 5  | 49K      | +++ | ++  | +++ | +++ | +++ | ++  | ++  | +++ |
| 6  | 50K      | +++ | -   | +++ | +++ | +++ | ++  | +++ | +++ |
| 7  | 51K      | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 8  | 53K      | +++ | +++ | ++  | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 9  | 54K      | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++  | +++ | +++ |
| 10 | 24K-5MR  | +++ | +++ | ++  | +++ | +++ | +++ | +++ | ++  |
| 11 | 24K-6MR  | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 12 | 24K-10MR | +++ | ++  | ++  | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 13 | 4MR      | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 14 | 5MR      | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 15 | 9MR      | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 16 | 11MR     | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 17 | 13MR     | ++  | +++ | +++ | +++ | ++  | +++ | +++ | +++ |
| 18 | 15MR     | +++ | +++ | ++  | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 19 | 23MR     | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 20 | 24K-1m   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| 21 | 24K-3m   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| 22 | 24K-4m   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| 23 | 24K-6m   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| 24 | 24K-8m   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| 25 | 24K-9m   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| 26 | 24K-10m  | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| 27 | K-2m     | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| 28 | K-4m     | -   | -   | -   | -   | -   | +   | -   | -   |
| 29 | 25m      | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| 30 | 26m      | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| 31 | 27m      | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   |
| 32 | 28m      | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   | -   |

**Çizelge 4.25.** Geleneksel boza (K) örneğinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının agar damlatma testi yöntemine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları (devamı)

| No         | Kod | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     |
|------------|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 33         | 29m | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 34         | 30m | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 35         | 31m | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 36         | 32m | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 37         | 33m | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 38         | 34m | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 39         | 35m | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 40         | 36m | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 41         | 37m | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 42         | 38m | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 43         | 39m | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 44         | 40m | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 45         | 41m | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 46         | 42m | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 47         | 43m | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 48         | 44m | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| 49         | 45m | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     | -     |
| % aktivite |     | 30,61 | 32,65 | 32,65 | 32,65 | 30,61 | 30,61 | 30,61 | 30,61 |

+: 0,4-1cm inhibisyon zon çapı, ++: 1-2 cm inhibisyon zon çapı, +++: 2-4 cm inhibisyon zon çapı, +++≥: ≥4 cm inhibisyon zon çapı, -: antimikrobiyal aktivite yok. 1: *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, 2: *E. coli* ATCC 25922, 3: *Str. mutans*, 4: *S. aureus* ATCC 6538, 5: *E. feacalis* ATCC 29212; 6: *E. faecium* M74; 7: *L. innocua* ATCC 33090; 8: *L. monocytogenes* ATCC 7644; % aktivite: antimikrobiyal aktivite gösteren izolatların tüm izolatlara oranı

Agar damlatma testi yöntemine göre, K örneğinden elde edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının %32,65'inin ise *E. coli* ATCC 25922, *Str. mutans*, *S. aureus* ATCC 6538'e, %30,61'inin *S. Typhimurium* ATCC 14028, *E. feacalis* ATCC 29212, *E. faecium* M74, *L. innocua* ATCC 33090, *L. monocytogenes* ATCC 7644'e karşı antimikrobiyal aktivitesi olduğu belirlenmiştir. İzolatlardan 24K-5MR, 24K-6MR, 24K-10MR, 4MR, 5MR, 9MR, 11MR, 13MR, 15MR, 23MR, 49K, 50K (*E. coli* ATCC 25922'ye karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir), 51K, 53K ve 54K kodlu LAB izolatları test kültürlerinin tamamına karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

**Çizelge 4.26.** Chialı boza (C) örneğinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının agar damlatma testi yöntemine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları

| No         | Kod     | 1     | 2     | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    |
|------------|---------|-------|-------|------|------|------|------|------|------|
| 1          | 0C-1K   | -     | +     | +    | +    | -    | -    | +    | -    |
| 2          | 0C-3K   | -     | +     | +    | -    | -    | -    | +    | -    |
| 3          | 24C-1K  | +     | +     | +    | +    | -    | -    | +    | -    |
| 4          | 24C-2K  | +     | ++    | +    | +    | -    | -    | +    | -    |
| 5          | 24C-3K  | +     | ++    | +    | +    | -    | -    | -    | -    |
| 6          | 0C-3MR  | +++   | +++   | -    | +++  | +++  | +++  | +++  | +++  |
| 7          | 24C-9MR | +++   | +++   | +++  | +++  | +++  | +++  | +++  | +++  |
| 8          | 0C-3m   | -     | -     | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 9          | C-6m    | -     | -     | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 10         | C-8m    | -     | -     | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 11         | C-10m   | -     | -     | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 12         | 24C-1m  | -     | -     | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 13         | 24C-2m  | -     | -     | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 14         | 24C-3m  | -     | -     | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 15         | 24C-4m  | -     | -     | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 16         | 24C-5m  | -     | -     | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 17         | 24C-6m  | -     | -     | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 18         | 24C-8m  | -     | -     | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| % aktivite |         | 27,78 | 38,89 | 33,3 | 33,3 | 11,1 | 11,1 | 33,3 | 11,1 |

+: 0,4-1cm inhibisyon zon çapı, ++: 1-2 cm inhibisyon zon çapı, +++: 2-4 cm inhibisyon zon çapı, +++≥: ≥4 cm inhibisyon zon çapı, -: antimikrobiyal aktivite yok. 1:*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, 2:*E.coli* ATCC 25922, 3: *Str. mutans*, 4: *S.aureus* ATCC 6538, 5: *E.feacalis* ATCC 29212; 6: *E. faecium* M74; 7: *L.innocua*; 8: *L.monocytogenes* ATCC 7644; % aktivite: antimikrobiyal aktivite gösteren izolatların tüm izolatlara oranı

Agar damlatma testi yöntemine göre, C örneğinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının %38,89'unun *E. coli* ATCC 25922'ye, %33,3'ünün *Str. mutans*, *S. aureus* ATCC 6538 ve *L. innocua* ATCC 33090'a, %27,78'inin *S. Typhimurium* ATCC 14028'ye ve %11,1'inin *E. feacalis* ATCC 29212, *E. faecium* M74, *L. monocytogenes* ATCC 7644'e karşı antimikrobiyal aktivitesi olduğu belirlenmiştir. İzolatlardan 0C-3MR kodlu izolat test bakterilerinden *Str. mutans* hariç tamamına ve 24C-9MR kodlu izolat test bakterilerinin tamamına karşı agar damlatma testi yöntemine göre antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

**Çizelge 4.27.** Kinoalı boza (Ki) örneğinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının agar damlatma testi yöntemine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları

| No         | Kod      | 1   | 2   | 3   | 4    | 5   | 6   | 7   | 8   |
|------------|----------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|
| 1          | 0Ki-1K   | +   | +   | -   | +    | -   | -   | +   | -   |
| 2          | 0Ki-2K   | -   | +   | +   | +    | -   | -   | +   | -   |
| 3          | 0Ki-3K   | +   | +   | -   | -    | -   | -   | +   | -   |
| 4          | 24Ki-1K  | +   | +   | +   | +    | -   | -   | -   | -   |
| 5          | 24Ki-2K  | -   | +   | +   | +    | -   | -   | -   | -   |
| 6          | 24Ki-3K  | +   | +   | +   | +    | -   | -   | +   | -   |
| 7          | 24Ki-3MR | +++ | +++ | +++ | +++≥ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 8          | Ki-1MR   | +++ | +++ | +++ | ++   | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 9          | Ki-5MR   | ++  | +++ | +++ | +++  | +++ | +++ | ++  | +++ |
| 10         | Ki-7MR   | ++  | +++ | +++ | +++  | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 11         | Ki-9MR   | ++  | ++  | +++ | +++  | +++ | ++  | ++  | ++  |
| 12         | Ki-10MR  | ++  | +++ | +++ | +++  | +++ | ++  | +++ | ++  |
| 13         | 24Ki-1m  | -   | -   | -   | -    | -   | -   | -   | -   |
| 14         | 24Ki-2m  | -   | -   | -   | -    | -   | -   | -   | -   |
| 15         | 24Ki-3m  | -   | -   | -   | -    | -   | -   | -   | ++  |
| 16         | 24Ki-5m  | -   | -   | -   | -    | -   | -   | -   | -   |
| 17         | 24Ki-6m  | -   | -   | -   | -    | +   | +   | -   | -   |
| 18         | 24Ki-7m  | -   | -   | -   | -    | +   | +   | -   | -   |
| 19         | 24Ki-9m  | -   | -   | -   | -    | -   | -   | -   | -   |
| 20         | 24Ki-10m | -   | -   | -   | -    | -   | -   | -   | -   |
| 21         | Ki-1m    | -   | -   | -   | -    | -   | -   | -   | -   |
| 22         | Ki-3m    | -   | -   | -   | -    | -   | -   | -   | -   |
| 23         | Ki-5m    | -   | -   | -   | -    | -   | -   | -   | -   |
| 24         | Ki-6m    | -   | -   | -   | -    | -   | -   | -   | -   |
| 25         | Ki-8m    | -   | -   | -   | -    | -   | -   | -   | -   |
| % aktivite |          | 40  | 48  | 40  | 44   | 32  | 32  | 40  | 28  |

+: 0,4-1cm inhibisyon zon çapı, ++: 1-2 cm inhibisyon zon çapı, +++: 2-4 cm inhibisyon zon çapı, +++≥: ≥4 cm inhibisyon zon çapı, -: antimikrobiyal aktivite yok. 1: *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, 2: *E.coli* ATCC 25922, 3: *Str. mutans*, 4: *S.aureus* ATCC 6538, 5: *E.feacalis* ATCC 29212; 6: *E. faecium* M74; 7: *L.innocua* ATCC 33090; 8: *L.monocytogenes* ATCC 7644; % aktivite: antimikrobiyal aktivite gösteren izolatların tüm izolatlara oranı

Agar damlatma testi yöntemine göre, Ki örneğinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının %48'inin *E. coli* ATCC 25922'ye, %44'ünün *S. aureus* ATCC 6538'e, %40'nın *S. Typhimurium* ATCC 14028, *Str. mutans* ve *L. innocua* ATCC 33090'a, %32'sinin ise *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecium* M74 ve %28'nin *L. monocytogenes* ATCC 7644'e karşı antimikrobiyal aktivitesi olduğu belirlenmiştir. İzolatlardan yalnızca 24Ki-3MR kodlu LAB izolatı diğer izolatlarla kıyasla agar damlatma testi yöntemine göre test bakterilerinin tamamına karşı güçlü bir antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

**Çizelge 4.28.** Chialı ve Kinoalı Boza (CKi) örneğinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının agar damlatma testi yöntemine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları

| No         | Kod       | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    |
|------------|-----------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 1          | 0CKi-1K   | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 2          | 0CKi-3K   | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 3          | 24CKi-1K  | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 4          | 24CKi-2K  | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 5          | 24CKi-3K  | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 6          | 24CKi-2MR | +++≥ | +++  | +++  | +++≥ | +++  | +++  | +++  | +++≥ |
| 7          | 24CKi-3MR | +++  | +++  | -    | +++  | +++  | +++  | ++   | +++  |
| 8          | 24CKi-4MR | +++  | +++  | +++  | +++  | +++  | +++  | +++  | +++  |
| 9          | 6CKi-2MR  | +++  | +++  | +++  | +++  | +++  | +++  | +++  | +++  |
| 10         | 0CKi-1m   | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 11         | 0CKi-2m   | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 12         | 24CKi-2m  | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 13         | 24CKi-6m  | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| % aktivite |           | 30,8 | 23,1 | 30,8 | 30,8 | 30,8 | 30,8 | 30,8 | 30,8 |

+: 0,4-1cm inhibisyon zon çapı, ++: 1-2 cm inhibisyon zon çapı, +++: 2-4 cm inhibisyon zon çapı, +++≥: ≥4 cm inhibisyon zon çapı, -: antimikrobiyal aktivite yok.  
1: *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, 2: *E.coli* ATCC 25922, 3: *Str. mutans*, 4: *S.aureus* ATCC 6538, 5: *E.feacalis* ATCC 29212; 6: *E. faecium* M74; 7: *L.innocua* ATCC 33090; 8: *L.monocytogenes* ATCC 7644; % aktivite: antimikrobiyal aktivite gösteren izolatların tüm izolatlara oranı

Agar damlatma testi yöntemine göre CKi örneğinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının %30,8'sinin *S. Typhimurium* ATCC 14028, *Str. mutans*, *S. aureus* ATCC 6538'e, *E. feacalis* ATCC 29212, *E. faecium* M74, *L. innocua* ATCC 33090 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644'e ve %23,1'inin *E. coli* ATCC 25922'ye karşı antimikrobiyal aktivitesi olduğu belirlenmiştir. İzolatlardan 24CKi-2MR, 24CKi-3MR (*Str. mutans*'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir), 24CKi-4MR, 24CKi-6MR, 6CKi-2MR test bakterilerinin tamamına karşı güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

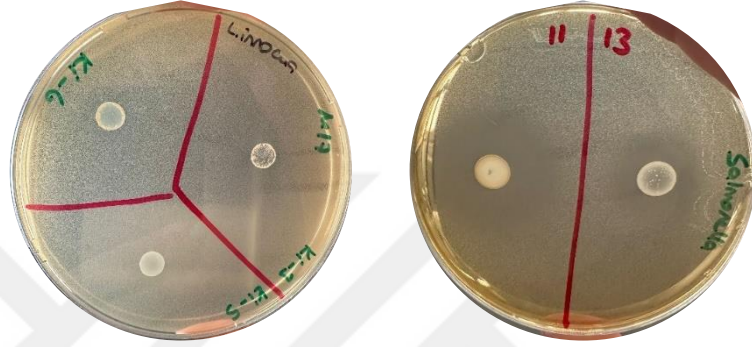
**Çizelge 4.29.** Boza örneklerinden elde edilen GABA üreticisi maya izolatlarının agar damlatma yöntemine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları

| No         | Kod       | 1    | 2  | 3  | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    |
|------------|-----------|------|----|----|------|------|------|------|------|
| 1          | 24CKi-1d  | -    | -  | -  | -    | -    | -    | -    | ++   |
| 2          | 24CKi-2d  | -    | -  | -  | -    | -    | -    | -    | -    |
| 3          | 24CKi-3d  | -    | -  | -  | -    | -    | -    | -    | -    |
| 4          | 24CKi-5d  | ++   | ++ | -  | ++   | ++   | -    | ++   | ++   |
| 5          | 24CKi-6d  | -    | -  | -  | -    | -    | -    | -    | -    |
| 6          | 24CKi-7d  | ++   | ++ | ++ | ++   | ++   | ++   | ++   | ++   |
| 7          | 24CKi-9d  | -    | -  | -  | -    | -    | -    | -    | -    |
| 8          | 24CKi-10d | -    | -  | -  | -    | -    | -    | -    | -    |
| 9          | 24C-1d    | -    | ++ | -  | ++   | ++   | ++   | ++   | ++   |
| 10         | 24C-2d    | ++   | ++ | ++ | ++   | ++   | ++   | ++   | ++   |
| 11         | 24C-3d    | -    | -  | ++ | ++   | ++   | -    | -    | +    |
| 12         | 24C-4d    | -    | +  | -  | +    | ++   | +    | -    | -    |
| 13         | 24C-6d    | -    | -  | -  | -    | -    | -    | -    | -    |
| 14         | 24C-7d    | -    | -  | -  | -    | -    | -    | -    | -    |
| 15         | 24C-8d    | -    | -  | -  | -    | -    | -    | -    | -    |
| 16         | 24C-9d    | ++   | -  | ++ | ++   | ++   | ++   | -    | ++   |
| 17         | 24C-10d   | -    | -  | -  | -    | -    | -    | -    | -    |
| 18         | 24Ki-1d   | -    | -  | -  | -    | -    | -    | -    | -    |
| 19         | 24Ki-2d   | -    | -  | -  | -    | -    | -    | -    | -    |
| 20         | 24Ki-6d   | +    | +  | +  | ++   | ++   | -    | -    | -    |
| 21         | 24Ki-7d   | -    | -  | -  | -    | -    | -    | -    | -    |
| 22         | 24Ki-8d   | -    | -  | -  | -    | -    | -    | -    | -    |
| 23         | 24Ki-9d   | -    | -  | -  | -    | -    | -    | -    | -    |
| 24         | 24Ki-10d  | -    | -  | -  | -    | -    | -    | -    | -    |
| 25         | 24K-3d    | -    | -  | -  | -    | -    | -    | -    | -    |
| 26         | 24K-4d    | -    | -  | -  | -    | -    | -    | -    | -    |
| 27         | 24K-5d    | ++   | -  | ++ | ++   | ++   | ++   | ++   | -    |
| 28         | 24K-6d    | -    | -  | +  | -    | -    | -    | -    | -    |
| 29         | 24K-7d    | -    | ++ | +  | ++   | ++   | ++   | +    | ++   |
| 30         | 24K-8d    | -    | -  | -  | -    | -    | -    | -    | -    |
| 31         | 24K-9d    | +    | -  | -  | ++   | ++   | ++   | -    | -    |
| 32         | 24K-10d   | -    | ++ | -  | ++   | ++   | ++   | -    | +    |
| % aktivite |           | 21,9 | 25 | 25 | 37,5 | 37,5 | 28,1 | 18,8 | 28,1 |

+: 0,4-1cm inhibisyon zon çapı, ++: 1-2 cm inhibisyon zon çapı, +++: 2-4 cm inhibisyon zon çapı, +++≥: ≥4 cm inhibisyon zon çapı, -: antimikrobiyal aktivite yok. 1: *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, 2: *E. coli* ATCC 25922, 3: *Str. mutans*, 4: *S. aureus* ATCC 6538, 5: *E. faecalis* ATCC 29212; 6: *E. faecium* M74; 7: *L. innocua* ATCC 33090; 8: *L. monocytogenes* ATCC 7644; % aktivite: antimikrobiyal aktivite gösteren izolatların tüm izolatlara oranı

Agar damlatma testi yöntemine göre GABA üreticisi maya izolatlarının %37,5'inin *S. aureus* ATCC 6538 ve *E. faecalis* ATCC 29212'e, %28,1'inin *E. faecium* M74 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644'e, %25'inin *E. coli* ATCC 25922 ve *Str. mutans*'a, %21,9'unun *S. Typhimurium* ATCC 14028'e ve %18,8'inin *L. innocua* ATCC 33090'a karşı antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiştir. İzolatlardan 24CKi-5d, 24CKi-7d, 24C-1d, 24C-2d, 24C-9d ve 24K-7d kodlu maya izolatlarının da test bakterilerinden birçoğuna antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak boza örneklerinden elde edilen LAB izolatlarının 23 tanesinde ve maya izolatlarının 6 tanesinde bazı Gram negatif bakterilerden *E. coli* ATCC 25922, *S. Typhimurium* ATCC 14028 ve Gram pozitif bakterilerden *S. aureus* ATCC 6538, *Str. mutans*, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecium* M74, *L. innocua* ATCC 33090 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644'e karşı antimikrobiyal aktiviteleri olduğu belirlenmiştir.



**Şekil 4.15.** LAB ve maya izolatlarından bazılarının agar damlatma yöntemine göre antimikrobiyal aktivite tayini görüntüleri

Agar damlatma testinde antimikrobiyal aktivite gösteren GABA üreticisi LAB ve maya izolatlarının antimikrobiyal aktiviteleri Bölüm 3.7.1'de anlatılan agar difüzyon testi yöntemine göre de test edilmiştir. Boza örneklerinden izole edilen GABA üreticisi LAB ve maya izolatlarının agar difüzyon testine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları Şekil 4.16'da ve Çizelge 4.30'da verilmiştir.

Agar difüzyon yöntemine göre, GABA üreticisi izolatların %58,6'sının *L. monocytogenes* ATCC 7644'e, %34,5'inin *E. faecium* M74'e, %27,6'sının *Str. mutans* ve *L. innocua* ATCC 33090'a, %24,1'inin *S. aureus* ATCC 6538, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922 ve *S. Typhimurium* ATCC 14028'e karşı antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiştir. Literatürde bakteriyosinlerin genellikle üretildikleri mikroorganizmanın özelliklerine sahip diğer mikroorganizmalara karşı daha etkili olduğuna dair kanıtlar mevcuttur. Agar difüzyon yöntemi sonuçlarına göre izolatların Gram pozitif karakterdeki test bakterilerine karşı daha fazla antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Bağcı, 2012; Diez-Gutiérrez vd., 2022; Perricone vd., 2014). Tez kapsamında elde edilen bu sonuç literatürdeki bu bilgiyi doğrulayan bir niteliktedir.

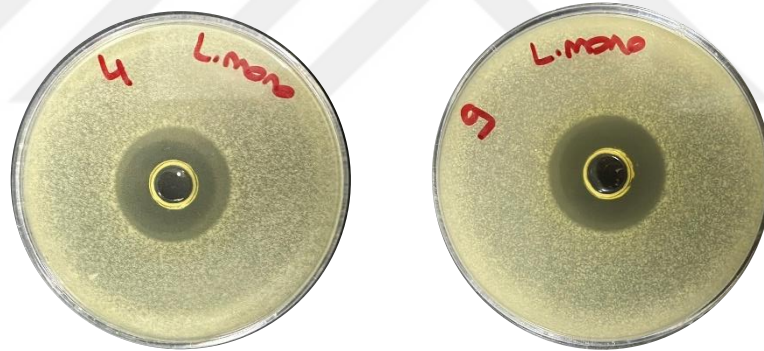
**Çizelge 4.30.** Boza örneklerinden elde edilen GABA üreticisi LAB ve maya izolatlarının agar difüzyon yöntemine göre antimikrobiyal aktivite sonuçları

| No         | Kod       | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    |
|------------|-----------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 1          | 24K-5MR   | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | ++   |
| 2          | 24K-6MR   | ++   | -    | ++   | ++   | ++   | +++  | ++   | +++  |
| 3          | 24K10MR   | -    | -    | +++  | +++  | -    | -    | -    | ++   |
| 4          | 4MR       | ++   | ++   | ++   | ++   | ++   | ++   | ++   | +++  |
| 5          | 5MR       | ++   | ++   | -    | -    | -    | ++   | ++   | ++   |
| 6          | 9MR       | ++   | ++   | ++   | ++   | ++   | ++   | ++   | +++  |
| 7          | 11MR      | ++   | ++   | ++   | ++   | ++   | ++   | ++   | +++  |
| 8          | 13MR      | -    | ++   | -    | -    | -    | -    | ++   | ++   |
| 9          | 15MR      | -    | -    | -    | -    | -    | ++   | -    | ++   |
| 10         | 23MR      | ++   | ++   | ++   | ++   | ++   | ++   | ++   | +++  |
| 11         | 49K       | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 12         | 50K       | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 13         | 51K       | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 14         | 53K       | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 15         | 54K       | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 16         | 0C-3MR    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | +++  |
| 17         | 24C-9MR   | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | ++   |
| 18         | 24Ki-3MR  | -    | -    | ++   | ++   | ++   | ++   | -    | +++  |
| 19         | 24CKi-2MR | -    | -    | -    | -    | -    | +++  | -    | ++   |
| 20         | 24CKi-3MR | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 21         | 24CKi-4MR | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | ++   |
| 22         | 24CKi-6MR | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | ++   |
| 23         | 6CKi-2MR  | ++   | +++  | ++   | -    | ++   | ++   | ++   | +++  |
| 24         | 24K-7d    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 25         | 24C-1d    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 26         | 24C-2d    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 27         | 24C-9d    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 28         | 24CKi-5d  | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| 29         | 24CKi-7d  | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    | -    |
| % aktivite |           | 24,1 | 24,1 | 27,6 | 24,1 | 24,1 | 34,5 | 27,6 | 58,6 |

+: 0,4-1cm inhibisyon zon çapı, ++: 1-2 cm inhibisyon zon çapı, +++: 2-4 cm inhibisyon zon çapı, +++≥: ≥4 cm inhibisyon zon çapı, -: antimikrobiyal aktivite yok.1:*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, 2:*E.coli* ATCC 25922, 3: *Str. mutans*, 4: *S.aureus* ATCC 6538, 5: *E.feacalis* ATCC 29212; 6: *E. faecium* M74; 7: *L.innocua* ATCC 33090; 8: *L.monocytogenes* ATCC 7644; -:zon oluşmamıştır. % aktivite: antimikrobiyal aktivite gösteren izolatların tüm izolatlara oranı

Her iki yöntem ile elde edilen antimikrobiyal aktivite tayini sonuçları incelendiğinde agar damlatma yönteminde daha fazla izolatın test bakterilerine karşı güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Agar difüzyon tekniğinde izolatların göstermiş oldukları antimikrobiyal aktivite diğer tekniğe göre daha sınırlı kalmıştır. Literatürdeki bilgiler incelendiğinde de buna benzer sonuçlar görülmektedir (Bağcı, 2012; Demirbaş vd., 2017; Dertli, 2015; Diez-Gutiérrez vd., 2022; Klingberg vd., 2005).

Agar damlatma ve agar difüzyon yöntemlerine göre toplam 17 adet LAB'nin test bakteri kültürlerine karşı güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdikleri görülmüş ve bu izolatların probiyotik özelliklerinin belirlenebilmesi için bir sonraki aşama olan antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi aşamasına geçilmiştir. Maya izolatlarının test bakteri kültürlerine karşı antimikrobiyal aktiviteleri yetersiz bulunduğu için maya izolatlarının probiyotik özelliklerinin belirlenmesinde bir sonraki aşamaya geçilememiştir. Literatürdeki çalışmalardan görüldüğü üzere, çalışmada agar damlatma ve agar difüzyon yöntemi ile izolatların antimikrobiyal aktivite özelliklerine dair bir fikir edinilmiş olsa da bu iki analiz antimikrobiyal aktivitenin gerçekten bakteriyosin üretiminden kaynaklanıp kaynaklanmadığının tespiti için yeterli değildir (Bağcı, 2012; Cotter vd., 2005; Dertli, 2015; Gök Charyyev vd., 2019; S. D. Todorov vd., 2008). Bu nedenle izolatlara ileride yapılacak olan çalışmalarda daha ileri analizlerin yapılması gerekliliği ortaya çıkmıştır.



**Şekil 4.16.** Boza örneklerinden izole edilen bazı LAB izolatlarının agar difüzyon yöntemi ile *L. monocytogenes* üzerindeki antimikrobiyal aktivite tayini görüntüsü

Literatür incelendiğinde çeşitli gıdalardan izole edilen LAB'lerinin antimikrobiyal aktivitelerine ait birçok çalışma görülmüştür. İskandinav tarzında üretilmiş 15 farklı fermente sucuktan izole edilen 22 tane LAB izolatının antimikrobiyal aktivite özelliklerinin incelendiği bir çalışmada izolatlardan 6 tanesi tüm test bakterilerine (bazı patojenik bakteriler ve insan bağırsak mikrobiyotası bakterileri) karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Klingberg vd., 2005). Türkiye'deki bozalardan izole edilen 45 adet LAB'nin antimikrobiyal etkisi agar spot test ve agar difüzyon metodu ile belirlenmiştir. Agar difüzyon yönteminden elde edilen sonuçlara göre 33 izolatın bir veya daha fazla

test bakterisine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Kıvanç vd., 2011). Anne sütünden izole edilen LAB'lerinin antimikrobiyal aktivitelerinin ve bakteriyosin oluşturma yeteneklerinin incelendiği bir çalışmada antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenen suşlardan 7 tanesinin bakteriyosin ürettiği tespit edilmiştir (Bağcı, 2012). Ekşi hamur ve yeni doğan dışkılarından izole edilen LAB'lerinin probiyotik potansiyellerinin araştırıldığı bir çalışmada genellikle suşların çoğu, analiz edilen patojenlere karşı etki gösterirken, *L. rhamnosus* C-9A ve *L. paracasei* WPS-11 suşları ise *Salmonella* Typhimurium'a karşı etki göstermemiştir (Kaya, 2020). Çeşitli fermente gıdalardan izole edilen LAB'lerinin probiyotik özelliklerinin incelendiği bir çalışmada 231 adet izolatın *Salmonella enterica*, *S. aureus*, *E. coli* ve *B. cereus*'a karşı antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Çalışmada çoğu suş tek patojene karşı aktivite gösterse de yedi suş geniş spektrumlu bakteriyostatik etki göstermiştir. Genel olarak, izole edilen suşların *S. aureus* ve *S. enterica* üzerindeki inhibitör etkisi *E. coli* ve *B. cereus* üzerindeki daha fazla bulunmuştur. Sonuçlar, üretilen antibakteriyel maddenin konsantrasyonunun ve türünün LAB izolatlarında farklı olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, farklı LAB izolatlarının farklı patojenler üzerine antimikrobiyal etkileri de farklı olmaktadır (Ren vd., 2018). Tez kapsamında elde edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları literatürdeki sonuçlar ile benzerlik göstermektedir.

#### 4.6.2. İzolatların antibiyotik dirençleri

Boza örneklerinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının 17 tanesi test bakterilerine karşı güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bu izolatların probiyotik olarak adlandırılabilmesi için bazı antibiyotiklere karşı hassasiyetlerinin de tespit edilmesi gerekmektedir (Ray ve Bhuina, 2007). Bu amaçla Bölüm 3.7.2'de anlatılan disk difüzyon yöntemi kullanılmış ve antibiyotik diskler etrafında oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek izolatların antibiyotiklere duyarlılık durumları standartlarla (Çizelge 3.5) karşılaştırılarak değerlendirilmiştir (CLSI, 2017). LAB izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarına ait sonuçlar Şekil 4.17 ve Çizelge 4.31'da verilmiştir.

Boza örneklerinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının %100'ü vankomisin'e, %23,5'i kloramfenikole, %17,7'si gentamisin ve streptomisine, %11,8'i

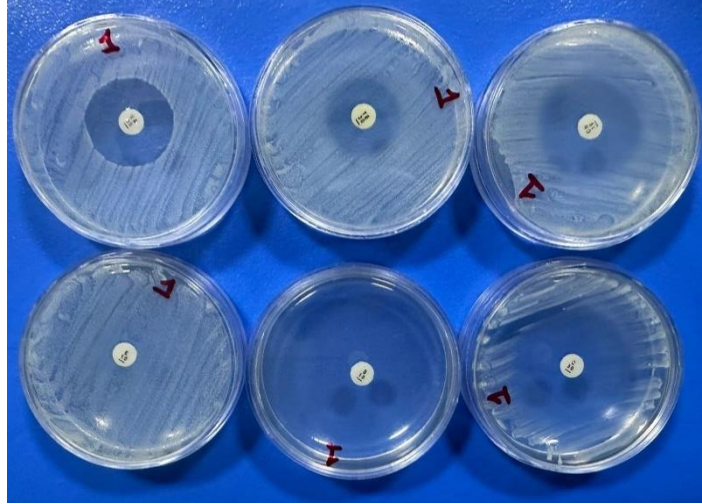
tetrasiklin ve eritromisine dirençli bulunmuştur. İzolatlardan 24CKi-2MR, 24CKi-6MR, 24C-9MR, 24Ki-3MR, 24K-10MR, 6CKi-2MR’de çoklu antibiyotik direnci olduğu görülmüştür.

**Çizelge 4.31.** Boza örneklerinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının antibiyotik direnç analizi sonuçları

| Kod       | VA-30  | TE-30            | E-10    | CN-10   | S-10              | C-30    |
|-----------|--------|------------------|---------|---------|-------------------|---------|
| 0C-3MR    | R      | S                | S       | S       | S                 | S       |
| 24CKi-2MR | R      | R                | S       | S       | R                 | S       |
| 24CKi-4MR | R      | S                | S       | S       | I                 | S       |
| 24CKi-6MR | R      | R                | S       | R       | R                 | S       |
| 24C-9MR   | R      | I                | S       | S       | R                 | R       |
| 24Ki-3MR  | R      | S                | S       | S       | S                 | R       |
| 24K-5MR   | R      | I                | S       | S       | S                 | S       |
| 24K-6MR   | R      | S                | S       | S       | S                 | S       |
| 24K-10MR  | R      | S                | R       | R       | S                 | R       |
| 6CKi-2MR  | R      | I                | R       | S       | I                 | R       |
| 4MR       | R      | S                | S       | S       | S                 | S       |
| 5MR       | R      | S                | S       | S       | S                 | S       |
| 9MR       | R      | S                | S       | S       | S                 | S       |
| 11MR      | R      | S                | S       | S       | S                 | S       |
| 13MR      | R      | S                | S       | S       | S                 | S       |
| 15MR      | R      | S                | S       | S       | S                 | S       |
| 23MR      | R      | S                | S       | R       | S                 | S       |
| % direnç  | 100(R) | 11,8(R), 17,7(I) | 11,8(R) | 17,7(R) | 17,7 (R), 11,8(I) | 23,5(R) |

R:dirençli, S: duyarlı, I:orta derecede dirençli/duyarlı; VA-30: vankomisin (30µg/disk), TE-30: tetrasiklin (30 µg/disk), E-10: eritromisin (10µg/disk), CN-10: gentamisin (10 µg/disk), S-10: streptomisin (10 µg/disk), C-30: kloramfenikol (30 µg/disk).

Antibiyotikler tıp, tarım, hayvancılık vb. alanlarda bakteriyel enfeksiyonları önleme ve tedavi amacıyla kullanılabilen, bakteriler tarafından üretilen maddelerdir. Antibiyotik direnci (AD), bakterinin maruz kaldığı antibiyotiklerin etkilerine karşı durabilme yeteneğidir. Bir başka deyişle; bir bakterinin bir antibiyotiğe direncinin olması, o antibiyotiğin o bakterinin çoğalmasına engel olamadığını ve bakteriyi herhangi bir dozu ile öldüremediğini ifade etmektedir (Ashraf ve Shah, 2011; Erginkaya vd., 2019). Antibiyotik direncine sahip bakteriler, ortamda antibiyotik olması durumunda dirençli olmayan bakterilere karşı avantaj sağlamaktadır ve bunun bir neticesi olarak belirli bir süre sonra ortamdaki hakimiyeti sağlayabilmektedirler. Ayrıca bakteriler dirence neden olan genetik yapılarını farklı bakteri türlerine aktarabilmekte, bu da AD’nin bakteriler arasında yaygınlaşmasına neden olabilmektedir (Teuber vd., 1999; Wong vd., 2015).



**Şekil 4.17.** Boza örneklerinden izole edilen bazı LAB izolatlarının antibiyotik direnç analizi (soldan sağa üst sıra: vankomisin 30µg/disk, tetrasiklin 30 µg/disk, gentamisin 10 µg/disk, soldan sağa alt sıra: eritromisin 10µg/disk, streptomisin 10 µg/disk, kloramfenikol 30 µg/disk) görüntüsü

AD genleri, konjugasyon (hareketli elementler ile gen aktarımı), transdüksiyon (bakteriyofaj ile gen aktarımı) veya transformasyon (yalın DNA ile gen aktarımı) ile aktarılabilmektedir. AD genleri mikroorganizmada doğal olarak bulunabileceği gibi sonradan da bu üç yoldan biri vasıtasıyla kazanılmış olabilmektedir. Kazanılmış AD genleri, bir bakteriden diğerine aktarılacak AD'nin yayılmasında büyük rol oynamaktadır (Ashraf ve Shah, 2011; Olusegun vd., 2012; Gueimonde vd., 2013).

Gıdalarda bulunan LAB'leri bir veya birden fazla antibiyotiğe karşı dirençli olabilmektedir. Bu mikroorganizmalar AD genlerini doğal olarak genomlarında muhafaza edebildikleri gibi sonradan da (kazanılmış AD genleri) elde edebilmektedirler. LAB'lerinin taşıdıkları bu AD genleri doğal yani kromozomlarında kodlanmış ve sonradan kazanılmamış özellikte ise farklı türlere (mikroorganizma, hayvan, insan vb.) aktarımı gerçekleşmemekte ve insan sağlığına olumsuz bir etkisi bulunmamaktadır (Jose vd., 2015). Bunun en güzel örneği laktobasillerin vankomisin direncidir. Vankomisin, Gram pozitif bakteri hücre duvarı için önemli olan peptidoglukan sentezine müdahale ederek bakteri gelişimini inhibe etmektedir. Laktobasiller (*Lactobacillus reuteri*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*) ile yapılan çalışmalarda vankomisin dirençli olan laktobasillerden bu antibiyotiğe direnci bulunmayanlara herhangi bir gen transferinin olmadığı gösterilmiştir (Jose vd., 2015).

Dolayısıyla laktobasillerde vankomisin direncinin bulunması aktarılamayan bir AD direnci olduğunda istenilen bir özellik olmaktadır. Tez kapsamında izole edilen tüm LAB izolatlarında vankomisin direnci bulunmuştur.

LAB'lerinin birçoğunda AD genleri doğal olarak bulunmaktadır. Doğal olarak AD'ne sahip LAB'lerinin gıda desteği olarak veya gıdalarla birlikte alınması uzun süreli antibiyotik kullanımı nedeniyle bağırsak mikrobiyotası zarar görmüş bireylerde mikrobiyal dengenin yeniden düzenlenmesinde kullanılmaktadır. Bu durum LAB'lerinde AD'nin en büyük avantajıdır (Kastner vd., 2006; Liu vd., 2009; Zheng vd., 2017). AD'nin bir diğer avantajı ise doğal AD'ne sahip LAB'lerinin çoğunlukla aynı zamanda probiyotik özellikte de olması ve probiyotik bakterilerin göstermiş olduğu tüm olumlu etkileri de göstermeleri olmaktadır (Das vd., 2020; Mathur ve Singh, 2005). Ancak, LAB'lerinin taşıdığı AD genleri aktarılabilir özellikte ise bu durum olumsuz olarak nitelendirilmektedir (Olusegun vd., 2012). Aktarılabilir AD genlerinin potansiyel rezervuarı olarak görülen LAB'ni içeren gıdaların tüketilmesi ile birlikte LAB ve bağırsak mikrobiyotasındaki bakteriler arasında yatay gen transferi gerçekleşebilmektedir (Ashraf ve Shah, 2011; Caniça vd., 2019; Yelin ve Kishony, 2018). Birçok LAB türünün doğal olarak taşıdığı plazmitler, çoğunlukla metabolik aktivite için gerekli enzimleri kodlayan genleri taşımaktadırlar. Ancak bazı LAB türleri bu genlerin yanı sıra çeşitli antibiyotiklere karşı direnç geliştirmeyi sağlayan genleri taşıyan plazmitleri de içermektedirler. Çeşitli gıda ürünlerinde bu bakteriler farklı amaçlar için kullanıldığında potansiyel direnç taşıyıcı ve aktarıcı olabilmektedirler ve bu durum gıda üretiminde kullanılan LAB'lerinde AD'nin yarattığı önemli bir problem olarak görülmektedir. (Bennett, 2008; Ashraf ve Shah, 2011; Alp ve Öner, 2014).

LAB'lerinde gentamisin, tetrasiklin ve eritromisin direnci aktarılmayan özellikte olabildiği gibi aktarılabilen özellikte de olabilmektedir. Bu nedenle LAB izolatlarının bu antibiyotiklere olan direnci incelenirken genotipik olarak da dikkatlice değerlendirilmelidir. Özellikle gentamisin insan ve hayvanlarda da tedavi amacıyla sıklıkla kullanılan bir antibiyotik olduğu için aktarılabilir gen ile taşınıyor olması gıdalarda bulunan LAB'leri için daha büyük bir sorun yaratabilmektedir (Ashraf ve Shah, 2011; Das vd., 2020). Tetrasiklin direnci LAB'lerinde en çok çalışılan antibiyotik

direnç mekanizmasından birisidir ve bu AD geni genellikle plazmid kodlu olmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda tetrasiklin direncinin aktarılamayan bir direnç geni ile kodlandığı bildirilirken bazılarında ise aktarılabilen bir özellik de taşıyabileceği rapor edilmiştir (Ashraf ve Shah, 2011; Das vd., 2020; Hoffman, 2001; Lermniaux ve Cameron, 2019).

AD ile ilgili literatürdeki bilgilerin ışığında, izolatların test bakterilerine göstermiş oldukları antimikrobiyal aktivitelerinin durumu da göz önünde bulundurularak 24C-9MR, 24Ki-3MR, 24K-6MR ve 6CKi-2MR kodlu LAB izolatları *in vitro* sindirim modelindeki davranışlarının belirlenmesi üzerine seçilmiştir.

Tez kapsamında izole edilen ve *in vitro* sindirim modelindeki davranışının belirlenmesine karar verilen 24K-6MR kodlu LAB izolatu yalnızca vankomisine dirençli, diğer antibiyotiklere karşı duyarlı, 24Ki-3MR vankomisin ve kloramfenikole dirençli, diğer antibiyotiklere karşı duyarlı, 6CKi-2MR vankomisin, eritromisin ve kloramfenikole dirençli, tetrasiklin, gentamisin ve streptomisine karşı duyarlı, 24C-9MR vankomisin, kloramfenikol ve streptomisine karşı dirençli, tetrasikline karşı orta duyarlı ve eritromisin ve gentamisine karşı duyarlı bulunmuştur.

Yapılan bir çalışmada peynir, yoğurt, kefir ve bozadan izole edilen 83 adet LAB izolatının 6 antibiyotiğe (gentamisin, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, vankomisin ve siprofloksasin) karşı direnç özellikleri fenotipik ve genotipik olarak incelenmiştir. İzolatların 6 antibiyotiğe karşı AD' i agar dilüsyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Tüm izolatlar arasında AD' i kloramfenikol (%31,3), tetrasiklin (% 30,1), eritromisin (% 2,4), siprofloksasin (% 2,41), vankomisine (% 73,5, aktarılmayan direnç) karşı tespit edilmiştir. Genel olarak izolatların % 19,3'ü birden fazla antibiyotiğe direnç göstermiştir. Analizler sonucunda *tet(M)* geni *Lb. fermentum*, *Lb. plantarum*, *P. pentosaceus*, *E. faecium*, *W. confusa*'da ve vankomisin direnç geni *van(A)* bir *Weisella confusa* suşunda tespit edilmiştir. Bozadan izole edilen LAB'lerinin probiyotik özelliklerinin incelendiği bir çalışmada elde edilen izolatların hiçbirinde tetrasiklin direnci görülmemiştir. Buna karşılık tüm izolatlarda streptomisin direnci bulunmaktadır (Bozdemir vd., 2022). Bozadan izole edilen *Lb. plantarum* BG24'ün antibiyotik

duyarlılığı, farklı etki mekanizmalarına sahip, tıbbi uygulamada en sık kullanılan 20 antibiyotiğe karşı agar disk difüzyon yöntemi ile test edilmiştir. *Lb. plantarum* BG24, amoksisilin hariç hücre duvarlarının sentezinin inhibitörleri grubundaki tüm antibiyotiklere (penisilin, amfisilin, sefamandol, vankomisin, pipersilini amoksilin, azloksilin, oksasilin) dirençli bulunmuştur. Protein sentezinin inhibitörleri grubundan gentamisin, amikasin, eritromisin, rifampin ve kloramfenikole duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Tetrasikline orta düzeyde direnç göstermiş ve bu gruptaki diğer antibiyotiklere dirençli bulunmuştur. Suş, DNA sentezi ve/veya hücre farklılaşmasının inhibitörleri grubundaki her iki antibiyotiğe (siprofloksasin ve nalidiksik asit) de dirençli bulunmuştur (R. Cholakov vd., 2014). Yapılan çalışmalardan da görüldüğü üzere LAB'lerinin AD özellikleri suşlar arasında ciddi farklılıklar göstermekte ve bu dirençlerin moleküler düzeyde hangi genler tarafından kontrol edildiği belirlenmesi önem arz etmektedir. Tez kapsamında izolatların AD'ine ilişkin elde edilen bu bilgiler yalnızca fenotipik olarak belirlenmiş, AD genlerinin varlığına ve genlerin aktarılabiliyor olup olmadığına dair bir çalışma yapılmamıştır. İleride yapılacak olan çalışmalar ile tez kapsamında boza örneklerinden izole edilen LAB'lerinin AD'ine ilişkin genotipik olarak daha detaylı çalışmalar yapılması gerektiği düşünülmektedir.

#### **4.6.3. İzolatların *in vitro* sindirim modelindeki davranışları**

Boza örneklerinden izole edilen GABA üreticisi, antimikrobiyal aktiviteye sahip, istenilen antibiyotik duyarlılığına sahip olan 4 adet izolat tespit edilmiştir ve izolatların tamamı LAB izolatıdır. İzolatlardan 6CKi-2, kinoalı boza örneğinden 6 gün soğuk depolama sonrasında, 24C-9MR chialı boza örneğinden, 24K-6 geleneksel boza örneğinden ve 24Ki-3MR ise kinoalı boza örneğinden fermentasyon sonrası (36. saatte) izole edilmiştir. Bu izolatların *in vitro* sindirim modelindeki davranışları Bölüm 3.7.3'te anlatıldığı şekilde belirlenmiş ve Çizelge 4.32'de gösterilmiştir.

**Çizelge 4.32.** Boza örneklerinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının *in vitro* sindirim modelindeki davranışı

| İzolat Kodu | LAB sayısı log kob/mL   |                         |                         |                         |
|-------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|             | P                       | MO                      | MS                      | B                       |
| 6-CKi-2MR   | 7,01±0,04 <sup>cA</sup> | 6,22±0,22 <sup>bB</sup> | <1                      | <1                      |
| 24C-9MR     | 9,28±0,01 <sup>aA</sup> | 9,26±0,01 <sup>aA</sup> | 6,55±0,08 <sup>aB</sup> | 4,05±0,01 <sup>aC</sup> |
| 24K-6MR     | 7,00±0,00 <sup>cA</sup> | 6,24±0,23 <sup>bB</sup> | <1                      | <1                      |
| 24Ki-3MR    | 8,91±0,07 <sup>bA</sup> | 9,11±0,08 <sup>aA</sup> | 2,70±0,02 <sup>aC</sup> | 3,14±0,00 <sup>bB</sup> |

Sonuçlar logaritmik olarak aritmetik ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. Aynı sütunda farklı küçük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. Aynı satırda farklı büyük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır. kob/mL: koloni oluşturan birim/mililitre, P: pelet; MO: mide sindirimi öncesi, MS: mide sindirimi sonrası, B: bağırsak sindirimi sonrası

Yönteme göre ilk olarak LAB izolatlarının 24 saatlik taze kültürleri 5000xg'de 4°C'de 15 dakika santrifüj edilip, iki kez fizyolojik su ile yıkandıktan sonra pelet (P) elde edilmiştir. Peletten alınan örnekte 6CKi-2MR kodlu izolatta 7,01±0,04 log kob/mL, 24C-9MR kodlu izolatta 9,28±0,01 log kob/mL, 24K-6MR kodlu izolatta 7,00±0,00 log kob/mL ve 24Ki-3MR kodlu izolatta 8,91±0,07 log kob/mL sayım alınmıştır. Daha sonra pelet yapay mide suyunda süspanse edilmiştir. Mide suyunda süspanse edilmiş peletten alınan örnekte (mide sindirimi öncesi, MO) LAB sayımı yapılmıştır. MO'da 6CKi-2MR kodlu izolatta 6,22±0,22 log kob/mL, 24C-9MR kodlu izolatta 9,26±0,01 log kob/mL, 24K-6MR kodlu izolatta 6,24±0,23 log kob/mL ve 24Ki-3MR kodlu izolatta 9,11±0,08 log kob/mL sayım alınmıştır. Daha sonra izolatları içeren karışım mide sindirimini simüle etmesi için 37°C'de 3 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon sonunda tekrar örnek (mide sindirimi sonrası, MS) alınarak sayım alınmıştır. 6CKi-2MR ve 24K-6MR kodlu izolatlarda LAB sayısı <1 log kob/mL olarak belirlenmiş, 24C-9MR kodlu izolatta 6,55±0,08 log kob/mL ve 24Ki-3MR kodlu izolatta 2,70±0,02 log kob/mL olarak LAB sayısı belirlenmiştir. Sonrasında örnekler santrifüjlenerek yeniden pelet elde edilmiştir. Steril fizyolojik su ile yıkanan pelet yapay bağırsak sıvısı ile (4,5mL/100 mL) tekrar süspanse edilmiştir. Örnekler 37°C'de 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda izolatları içeren sindirim sıvılarından örnek alınarak (bağırsak sindirimi sonrası, B) tekrar LAB sayımı yapılmıştır. Bağırsak sindirimi sonrasında da 6CKi-2MR ve 24K-6MR kodlu izolatlarda LAB sayısı <1 log kob/mL

olarak tespit edilmiş, 24C-9MR kodlu izolatta  $4,05 \pm 0,01$  log kob/mL ve 24Ki-3MR kodlu izolatta ise  $3,14 \pm 0,00$  log kob/mL olarak belirlenmiştir.

Probiyotik özellik taşıyan LAB'leri sindirim sisteminde canlı kalarak bağırsağa kadar ulaşabilmekte ve burada kolonize olarak sağlığa olumlu etkilerini gösterebilmektedir (Bilginer ve Çetin, 2019; Dimitrovski vd., 2021; Jensen vd., 2012; Leroy ve De Vuyst, 2004). Dolayısıyla tez kapsamında izole edilen LAB izolatlarının *in vitro* sindirim sistemi modelinde bağırsak sindirimi sonunda canlılıklarını sürdürmesi beklenmiştir. İzolatlardan 24C-9MR ve 24Ki-3MR bağırsak sindirimi sonrasına kadar canlı kalabilen, GABA üreticisi ve diğer probiyotik özellikler (antimikrobiyal aktivite ve antibiyotik direnç) bakımından da olumlu bulunan izolatlar olmuştur. Bu iki izolat taşıdıkları bu özellikler sayesinde potansiyel psikobiyotik izolatlar olarak değerlendirilmiş ve düşük pH ve %0,3 safra tuzu direnci özelliklerinin belirlenmesi aşamasına geçilmiştir.

Literatür incelendiğinde farklı gıdalardan izole edilen ve probiyotik olarak nitelendirilen LAB izolatlarının da *in vitro* sindirim sistemi modelinde tez kapsamında izole edilen LAB izolatlarıyla benzer bir davranış gösterdiği görülmüştür (R. Cholakov vd., 2014, 2015; Guan vd., 2021; Jensen vd., 2012; Klingberg vd., 2005; Minekus vd., 2014; Ozer vd., 2022b; Özer vd., 2019; Stiemsma vd., 2020; Takada vd., 2016; Wall vd., 2014; Zagórska vd., 2020).

#### **4.6.4. İzolatların safra tuzu ve düşük pH direncinin belirlenmesi**

Gıdalarla birlikte alınan probiyotik özellikteki LAB'lerinin kolona ulaşmadan önce midenin asidik ortamında canlılığını devam ettirebilmesi ve ince bağırsaktan salgılanan safraya karşı dirençli olabilmesi gerekmektedir (Minekus vd., 2014). Dolayısıyla bir mikroorganizmanın probiyotik olarak adlandırılabilmesi için gerekli şartlardan bir diğeri düşük pH'ya ve safra tuzuna karşı dirençli olmasıdır (Ray ve Bhuina, 2007). Gıdaların mideden yaklaşık geçiş süresi 3-4 saat ve midenin pH'ı 1-4 arasında olduğu bildirilmiştir (Bağcı, 2012; Brodkorb vd., 2019; Minekus vd., 2014). Bu nedenle tez kapsamında probiyotik özellikleri bakımından test edilen izolatların düşük pH (pH=3) ve %0,3 konsantrasyondaki safra tuzuna olan dirençleri Bölüm 3.7.4'te anlatıldığı

şekilde gerçekleştirilmiştir. Boza örneklerinden izole edilen GABA üreticisi, antimikrobiyal aktiviteye ve istenilen antibiyotik duyarlılığına sahip olan, *in vitro* sindirim modelinde canlı kalmayı başaran 2 adet LAB izolatu tespit edilmiştir. Bu izolatların 24 saatlik taze kültüründen (24C-9MR kodlu izolat  $9,13 \pm 0,04$  log kob/mL ve 24Ki-3MR kodlu izolat  $9,17 \pm 0,01$  log kob/mL) ekim yapılarak %0,3 safra tuzu konsantrasyonuna ve düşük pH'ya dirençleri Bölüm 3.7.4'te anlatıldığı şekilde belirlenmiş ve Çizelge 4.33'de verilmiştir.

**Çizelge 4.33.** Boza örneklerinden izole edilen GABA üreticisi LAB izolatlarının düşük pH ve % 0,3 safra tuzu konsantrasyonuna dirençleri

| İzolat Kodu | pH=3 (log kob/mL)            |                      |                       |                      |
|-------------|------------------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|
|             | 0. saat                      | 1. saat              | 4. saat               |                      |
| 24C-9MR     | $8,07 \pm 0,02^{aA}$         | $7,66 \pm 0,04^{aB}$ | $7,55 \pm 0,02^{aB}$  |                      |
| 24Ki-3MR    | $7,55 \pm 0,01^{bA}$         | $7,66 \pm 0,00^{aA}$ | $7,41 \pm 0,03^{aB}$  |                      |
|             | pH=7 (log kob/mL)            |                      |                       |                      |
|             | 0. saat                      | 1. saat              | 4. saat               |                      |
| 24C-9MR     | $7,75 \pm 0,02^{aA}$         | $7,94 \pm 0,09^{aA}$ | $7,65 \pm 0,01^{bA}$  |                      |
| 24Ki-3MR    | $7,67 \pm 0,04^{aA}$         | $7,79 \pm 0,10^{aA}$ | $7,88 \pm 0,05^{aA}$  |                      |
|             | %0,3 safra tuzu (log kob/mL) |                      |                       |                      |
|             | 0. saat                      | 1. saat              | 4. saat               | 24. saat             |
| 24C-9MR     | $7,65 \pm 0,01^{aB}$         | $7,63 \pm 0,05^{aB}$ | $7,96 \pm 0,02^{aA}$  | $8,05 \pm 0,01^{aA}$ |
| 24Ki-3MR    | $7,89 \pm 0,11^{aAB}$        | $7,60 \pm 0,01^{aB}$ | $7,85 \pm 0,03^{aAB}$ | $8,23 \pm 0,13^{aA}$ |

Sonuçlar logaritmik olarak aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde verilmiştir. Aynı parametredeki farklı izolatların aynı zamanında farklı küçük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p < 0,05$ ) vardır. Aynı satırda farklı büyük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p < 0,05$ ) vardır. kob/mL: koloni oluşturan birim/mililitre

Chialı boza örneğinden izole edilen 24C-9MR kodlu izolat ve kinoalı boza örneğinden izole edilen 24Ki-3MR kodlu izolatın her ikisi de pH=3'te 4 saat sonunda canlı kalmayı başarmışlardır. 24C-9MR'da ilk 1 saatte yaklaşık 0,4 log kob/mL düşüş yaşanmış ( $p < 0,05$ ) ancak 4. saatte herhangi bir değişim olmamıştır ( $p > 0,05$ ). 24Ki-3MR'da 1 saatte pH=3'ün herhangi bir etkisi olmamış ( $p > 0,05$ ) ancak 4. saatte 0,2 log kob/mL azalmaya sebep olmuştur ( $p < 0,05$ ). İzolatların sayım sonuçları incelendiğinde pH=7'de 4 saat boyunca sayımda herhangi bir değişiklik gözlenmediği tespit edilmiştir ( $p > 0,05$ ).

İzolatların %0,3 safra tuzu konsantrasyonundaki davranışları incelendiğinde 24C-9MR'nin 1 saat boyunca sayısının aynı kaldığı ( $p > 0,05$ ), 4. saatte sayısında yaklaşık 0,33 log kob/mL artış olduğu ( $p > 0,05$ ) ve 24. saatte sayısında anlamlı bir değişiklik

olmadığı görülmüştür ( $p>0,05$ ). 24Ki-3MR'da ise 1 saat sonunda sayısında yaklaşık 0,29 log kob/mL azalma gerçekleşmiş, sonrasında 4. saatte aynı miktarda arttığını ve 24. saatte sayıda anlamlı bir artış olmadığı görülmüştür. Dolayısıyla iki LAB izolatı da düşük pH (pH=3) ve %0,3 safra tuzu konsantrasyonuna dirençli bulunmuştur.

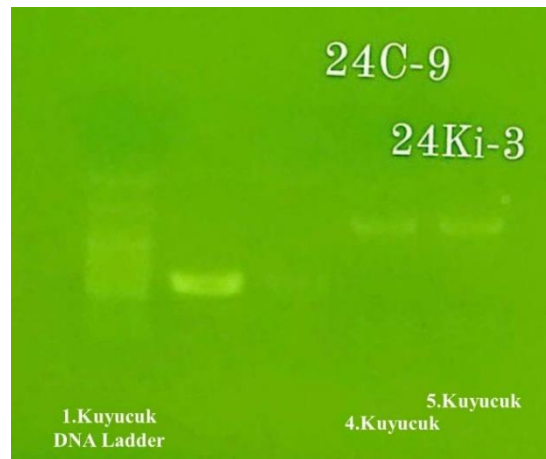
Literatür incelendiğinde psikobiyotik veya probiyotik özellikte olan LAB'lerinin de düşük pH ve safra tuzuna karşı dirençli olduğu görülmektedir. Ayrıca yapılan çalışmalarda %0,3 safra tuzu konsantrasyonunun probiyotik bakteri seçiminde önerilen konsantrasyon olduğu ve oldukça ayırıcı bir özellikte olduğu bildirilmiştir (Klingberg vd., 2005).

İskandinav tarzı fermente sucuklardan izole edilen 22 suşun probiyotik özelliklerinin incelendiği bir çalışmada çoğu suşun düşük pH ve %0,3 safra tuzuna dirençli olduğu görülmüştür (Klingberg vd., 2005). Yapılan bir çalışmada, 10 boza, 40 peynir, 20 kefir ve 60 çiğ süt olmak üzere toplam 130 gıda örneği incelenmiştir. Sonuçta; 127 *Enterococcus faecium*, 7 *Lactobacillus plantarum*, 5 *Lactobacillus paraplantarum* ve 5 *Lactobacillus brevis* olmak üzere toplam 144 probiyotik etkisi gösterebilecek bakteri kütle spektrofotometre (MALDI-TOF MS) ile karakterize edilerek tiplendirilmiştir. Karakterize edilen 144 izolattan sadece 35'inin mide pH'sına dayanıklı olduğu bu 35 izolattan sadece 8'inin %0,3 safra tuzu koşullarında canlılıklarını devam ettirebildiği tespit edilmiştir (Doğan ve Özpınar, 2017). Tayland usülü üretilen fermente sosisten izole edilen *Levilactobacillus brevis* F064A ile yapılan bir çalışmada, bakterinin  $2,85 \pm 0,10$  mg/mL GABA üretebildiği ve asidik pH ve safra tuzlarına tolerans gösterebildiği bildirilmiştir (Kanklai vd., 2021). Türkiye'de üretilen boza örneklerinden *Limosilactobacillus fermentum* M3F, *Levilactobacillus brevis* M18F, *Leuconostoc citreum* M26F, *Lactobacillus pentosus* M7F, *Lactiplantibacillus plantarum* M15F, *Leuconostoc lactis* M31F, *Lactococcus lactis* M2F ve *Lacticaseibacillus paracasei* M32F izole edilmiş ve izolatların düşük pH ve %0,3 safra tuzuna dirençleri incelenmiştir. İzolatların 4 saat sonunda düşük pH ve %0,3 safra tuzunda canlılıklarının devam ettiği görülmüştür (Bozdemir vd., 2022). Deniz ürünlerinden izole edilen 17 adet LAB izolatının psikobiyotik özellikler yönünden değerlendirildiği bir çalışmada, *Enterococcus faecium* SH9 olarak tanımlanan izolatlardan birinin GABA üreticisi

olduğu, düşük pH ve yüksek safra tuzu konsantrasyonunda (%0,3) canlı kalabildiği tespit edilmiş ve yeni bir psikobiyotik bakteri olarak adlandırılabilceği bildirilmiştir (Sakkaa vd., 2022). Tez çalışmasında izole edilen LAB izolatlarının da aynı özellikleri taşıdığı düşünüldüğünde bozadan izole edilen bu iki izolatın da psikobiyotik bakteri izolatı olarak adlandırılabilceği düşünülmektedir.

#### **4.7. Boza Örneklerinden İzole Edilen GABA Üreticisi ve Probiyotik Potansiyeli Olan İzolatların Tanımlanması**

Mikroorganizmaların türünü belirlemenin en kolay ve en güvenilir yöntemi, *gtf* geninin LAB suşlarını tespit etmek ve değerlendirmek için kullanılabileceği moleküler bir teknik olan 16S rRNA dizi analizidir. Bu teknik ile önce korunan bölgelerdeki genin her iki ucunda belirli evrensel primerler kullanarak 16S rRNA'yı çoğaltılmakta ve amplikon olarak bilinen PZR ürününün sekans analizi ile LAB'nin doğrudan tanınmasına olanak sağlamaktadır (Allaith vd., 2022). Tez çalışması kapsamında yapılan analizler sonucunda boza örneklerinden izole edilen potansiyel probiyotik özelliğe sahip ve GABA üreticisi 2 adet LAB izolatı tespit edilmiştir. Bu LAB izolatlarının 16S rRNA dizi analizi ile tanımlamaları Bölüm 3.8'de anlatıldığı şekilde hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir (Tamura vd., 2021). İzolatlara ait jel elektroforezi görüntüleri Şekil 4.18'de verilmiştir.



**Şekil 4.18.** Boza örneklerinden izole edilen probiyotik özelliğe sahip ve GABA üreticisi izolatlara ait PZR jel elektroforezi görüntüsü (1. kuyucuk: Biomatik M7123-100 bp DNA Ladder; 4. kuyucuk: 24 C-9, 5. kuyucuk: 24Ki-3)

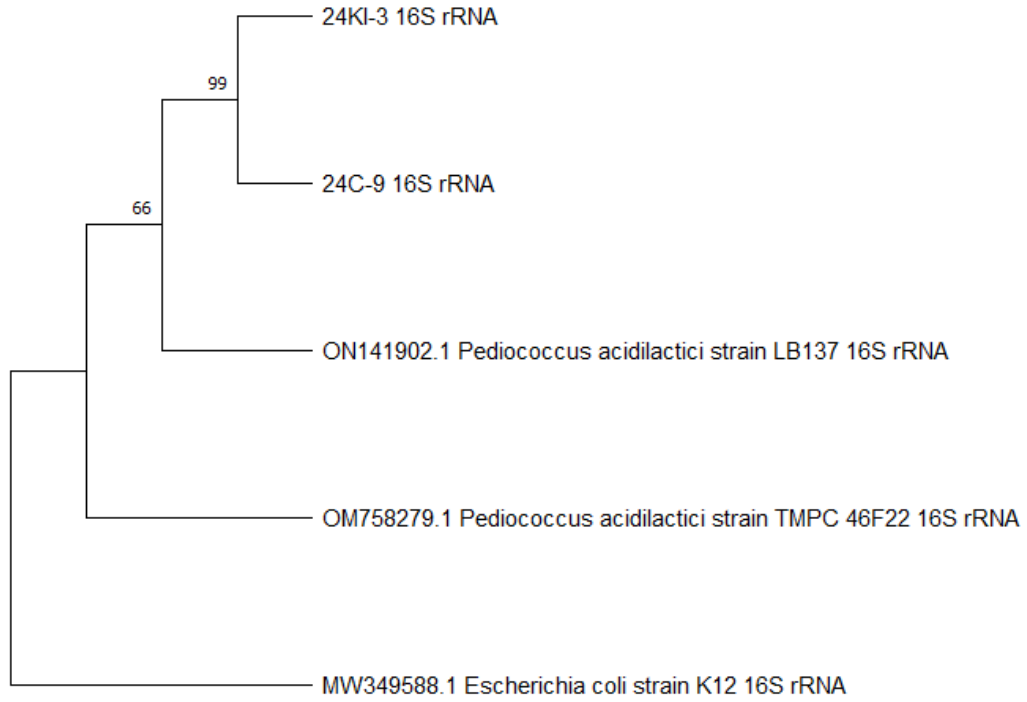
İzolatların moleküler karakterizasyonu için Forward ve Reverse primerleri ile elde edilen dizileme sonuçları Bioedit Programı kullanılarak incelenmiş ve elde edilen diziler NCBI nükleotid BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, BLAST) sistemi kullanılarak veri bankasındaki dizileme sonuçları ile eşleştirilmiştir. Referans türlerin nükleotid dizileri NCBI Gen bankası web sayfasından indirilerek incelenmiştir. İzolatların moleküler karakterizasyon sonucuna göre Çizelge 4.33'te belirtilen benzerlik oranlarıyla referans suşlardan *Pediococcus acidilactici* (Erişim No: ON141902.1 ve OM758279.1) olarak belirlenmiştir. Moleküler karakterizasyonu yapılan LAB izolatlarının Bölüm 3.6'da bahsedilen PIM yönteminden elde edilen süpernatantları Bölüm 3.4.4'te anlatılan şekilde HPLC'de analiz edilerek içerdikleri GABA miktarları belirlenmiş ve Çizelge 4.34'te verilmiştir.

**Çizelge 4.34.** Boza örneklerinden elde edilen GABA üreticisi ve probiyotik olduğu belirlenen LAB izolatlarının NCBI BLAST sonucu ve GABA üretim miktarları

| İzolat Kodu | NCBI Blast Sonucu               | Benzerlik Oranı | GABA üretim miktarı (ppm) |
|-------------|---------------------------------|-----------------|---------------------------|
| 24C-9MR     | <i>Pediococcus acidilactici</i> | %97,17          | 119,01±12,86 <sup>b</sup> |
| 24Ki-3MR    | <i>Pediococcus acidilactici</i> | %96,81          | 206,69±10,03 <sup>a</sup> |

Sonuçlar logaritmik olarak aritmetik ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. Aynı sütunda farklı küçük harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak fark ( $p<0,05$ ) vardır.

İzolatlara ait filogenetik ağaç, filogenetik analiz programı MEGA-X version 10.2.2 ile yapılmıştır. Ağaç oluşturulurken Neighbour-joining yöntemi ve 1000 bootstrap değeri kullanılmıştır (Tamura vd., 2021). Ayrıca, izolatların filogenetik ağaç dendogramı Şekil 4.19'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.19.** İzolatlara ait filogenetik ağaç dendogramı

Bozada çoğunlukla LAB ve mayalardan oluşan kompleks bir mikrobiyota bulunmaktadır. Fermantasyonda en sıklıkla görülen LAB'lerinin *Pediococcus*, *Lactobacillus* ve *Leuconostoc* cinsleri olduğu bildirilmiştir (Arıcı ve Daglioglu, 2002; R. Cholakov vd., 2014, 2017; Doğan ve Özpınar, 2017; Hancıoğlu ve Karapınar, 1997; Heperkan vd., 2014; Kabak ve Dobson, 2011; S. D. Todorov vd., 2008; Tuncer vd., 2008).

Tez çalışmasında tanımlanan iki LAB izolatının da *P. acidilactici* olduğu tespit edilmiştir. *P. acidilactici*, fermente et, süt ve sebze ürünlerinin üretiminde starter kültür olarak kullanılan, ürünlerin tadının iyileştirilmesi, hijyenik koşullarının artırılması, raf ömrünün uzatılması gibi işlevlerde de kullanılan bir LAB'dir. Pediosin adı verilen geniş spektrumlu, plazmid kaynaklı bir bakteriyosin üretmekte ve nisinden sonra ticari olarak satılabilen bir diğer bakteriyosin olarak bilinmektedir. Pediosin, Gram pozitif bakterilere ve özellikle de *Listeria* cinslerine etkili olmasıyla önemli olmaktadır (Altuntaş vd., 2014; Bhunia vd., 1988; Güneş ve Ayhan, 2010). Yapılan bir çalışmada, Endonezya'da geleneksel bir gıda olan *dadih* (fermente manda sütü)'ten GABA üreticisi

LAB izole edilmiş ve moleküler karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. İzolatın *Pediococcus acidilactici* olduğu tespit edilmiştir (L. Anggraini vd., 2019a). Bir diğer çalışmada *P. acidilactici*'nin GABA üretiminin optimizasyonu için gerekli koşullar araştırılmış ve maksimum üretim (311,485 mg/L GABA) için ortamda 60 mM glutamat ve %15 palm şekerine ihtiyaç duyduğu belirlenmiştir (L. Anggraini 2019b). Yapılan çalışmalarda bozadan *Pediococcus* cinslerine ve *P. acidilactici* de izole edilmiştir. Bulgaristan'daki ticari bozalar ile yapılan çalışmada 52 adet LAB izole edilmiş ve bunların içinde *P. pentosaceus* olduğu tespit edilmiştir (S. D. Todorov ve Dicks, 2005). Türkiye'de ticari olarak satılan 10 farklı bozadan izole edilen LAB'lerinden bir tanesinin *Pediococcus* cinsine ait olduğu bulunmuştur (Kıvanç vd., 2011). Bulgaristan'daki bozalarda bakteriyosin üreticisi LAB izole edilmiş ve bu izolatlardan 2 tanesinin *P. pentosaceus* ve 1 tanesinin *P. acidilactici* olduğu tespit edilmiştir. Bozadan izole edilen *P. acidilactici*'nin moleküler karakterizasyonu sonrasında pediosin üretimi özelliğine ve bakteriyofaj enfeksiyonuna karşı koruma sağlayan bir CRISPR-Cas sistemine sahip olduğu belirlenmiştir (Queiroz vd., 2022).

Tez kapsamında izole edilen *P. acidilactici* suşlarının da potansiyel probiyotik, bakteriyosin üreticisi ve psikobiyotik özelliklerde olabileceği değerlendirilmiş ve gelecekte bu konuda daha detaylı çalışmaların yapılması gerektiği düşünülmüştür.

## 5. SONUÇ

Boza, ekşimsi veya tatlı bir tada sahip, kendine özgü asidik-alkollü ve mayamsı bir kokusu olan, koyu sarı renkli, koyu kıvamlı ve özellikle soğuk kış gecelerinde tarçın ilave edilerek tüketilen fermente ve oldukça popüler bir içecek olarak bilinmektedir. Bozanın üretiminde geleneksel olarak üretildiği coğrafyaya göre bulgur, buğday, yulaf, pirinç, darı, mısır gibi farklı ham maddeler kullanılabilmektedir. Bu doktora tez çalışmasında; prebiyotik ve glutensiz özelliğe sahip olduğu bilinen, besin öğeleri ve glutamik asit içeriği yönüyle zengin olan chia ve kinoanın boza üretiminde kullanılabılme potansiyeli araştırılmış, farklı tahıl ürünleri (kinoa, chia, darı, mısır) ile elde edilen bozalardan potansiyel psikobiyotik LAB ve mayaların izole edilmesi hedeflenmiştir. Ayrıca, tez kapsamında üretilen bozaların GABA içerikleri belirlenmiş ve bozalardan elde edilen izolatların GABA üretim potansiyelleri tespit edilmiş ve GABA üreticisi olduğu belirlenen suşların probiyotik özellikleri de değerlendirilmiştir.

Tez çalışmasında yapılan analizler sonucunda chia ve kinoanın glutensiz boza üretiminde alternatif ham madde kaynakları olarak kullanılabileceği görülmüştür. Duyusal analiz sonuçlarında chia ve kinoa içeren örneklerden (C, Ki, CKi), C ve Ki içeren örneklerinin test edilen tüm özellikler (koku, renk, kıvam, lezzet, ağızda bıraktığı his, genel kabul edilebilirlik) bakımından geleneksel bozayla (K) benzer olduğu ve tüketici tarafından tercih edilebilecek nitelikte olduğu tespit edilmiştir.

Tez çalışmasında chia ve kinoa ile boza üretimi sonrasında bozanın fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal özellikleri incelenmiş ve bozaların içerdikleri GABA miktarı HPLC ile belirlenmiştir. Bu nedenle tez çalışması darı ve mısırdan üretilen geleneksel bozanın fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal özelliklerinin chia ve kinoa katkısı ile üretilmiş bozalarla karşılaştırıldığı, boza örneklerinin GABA miktarının belirlendiği ilk çalışma olması sebebiyle literatüre önemli bir katkı sunmaktadır. Yapılan analizler neticesinde chia ve kinoanın ham maddeye katkı olarak kullanımıyla birlikte bozaların GABA içeriklerinde artış gözlenmiş ve bu farklılığın boza üretiminde GABA içeriğine pozitif etkisi görülmüştür.

Tez kapsamında geleneksel bozanın yanı sıra chia ve kinoa kullanılarak üretilen bozalardan psikobiyotik mikroorganizma izolasyonu hedeflenmiştir. Yapılan LAB ve maya izolasyonları sonucunda chia ve kinoa içeren örneklerden potansiyel psikobiyotik mikroorganizmalar, başka bir deyişle GABA üreticisi izolatlar elde edilmiş ve bu izolatların probiyotik potansiyelleri (antimikrobiyal aktivite, antibiyotik direnci, in vitro sindirim modelindeki davranışı, düşük pH ve safra tuzu direnci) incelenmiştir. GABA üreticisi olan izolatlardan probiyotik özelliğe sahip olan iki adet LAB tespit edilmiştir. Potansiyel psikobiyotik (GABA üreticisi ve probiyotik özellikler taşıyan) izolatların biri kinoa (24Ki-3MR) diğeri ise chia (24C-9MR) bozadan elde edilmiştir. İzolatların 16S rRNA moleküler karakterizasyonu sonrasında her ikisinin de *Pediococcus acidilactici* türü olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, chia ve kinoanın boza üretiminde kullanılabileceği, chia, kinoa, darı ve mısır kullanılarak üretilen bozaların glutensiz özellikte olduğu, chia ve kinoa kullanımının bozanın GABA miktarını artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca bozadan GABA üreticisi ve potansiyel probiyotik özellikte bakteri izolasyonunun yapılabileceği görülmüştür. Yapılacak ilave analizler ile bozanın potansiyel psikobiyotik özellikte bir gıda olabileceği ve glutensiz, probiyotik gıda etiketiyle ticari olarak üretiminin gerçekleştirilebileceği belirlenmiştir. Tez kapsamında izole edilen *P. acidilactici* suşlarının da potansiyel probiyotik, bakteriyosin üreticisi ve psikobiyotik özelliklerde olabileceği düşünülmüş ve gelecekte bu konuda daha detaylı çalışmaların yapılması hedeflenmiştir. Ayrıca gıda endüstrisinde fonksiyonel özellikleri geliştirilmiş bozanın daha kontrollü koşullarda üretilmesine imkan sağlayacak probiyotik ve/veya psikobiyotik özellikteki starter kültürlerin geliştirilmesinin oldukça önemli ve gerekli olduğu değerlendirilmiştir.

## KAYNAKLAR

- Akbari, E., Asemi, Z., Kakhaki, R. D., Bahmani, F., Kouchaki, E., Tamtaji, O. R., Hamidi, G. A., & Salami, M. (2016). Effect of probiotic supplementation on cognitive function and metabolic status in Alzheimer's disease: A randomized, double-blind and controlled trial. *Frontiers in Aging Neuroscience*. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2016.00256>
- Akpınar-Bayizit, A., Yılmaz-Ersan, L., & Özcan, T. (2010). Determination of boza's organic acid composition as it is affected by raw material and fermentation. *International Journal of Food Properties*, 13(3), 648–656. <https://doi.org/10.1080/10942911003604194>
- Alfredo, V. O., Gabriel, R. R., Luis, C. G., & David, B. A. (2009). Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (*Salvia hispanica* L.). *LWT Food Science and Technology*, 42(1), 168–173. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.05.012>
- Allaith, S. A., Abdel-aziz, M. E., Thabit, Z. A., Altemimi, A. B., Abd El-Ghany, K., Giuffrè, A. M., Al-Manhel, A. J. A., Ebrahim, H. S., Mohamed, R. M., & Abdelmaksoud, T. G. (2022). Screening and Molecular Identification of Lactic Acid Bacteria Producing  $\beta$ -Glucan in Boza and Cider. *Fermentation*, 8(8). <https://doi.org/10.3390/fermentation8080350>
- Alp, D., & Öner, Z. (2014). Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri ve Aroma Maddelerinin Oluşturma Özelliklerinin Belirlenmesi. *Gıda / The Journal of Food*, 39(6), 1–7. <https://doi.org/10.15237/gida.gd14034>
- Altay, F., Karbancıoğlu-Güler, F., Daskaya-Dikmen, C., & Heperkan, D. (2013). A review on traditional Turkish fermented non-alcoholic beverages: Microbiota, fermentation process and quality characteristics. *International Journal of Food Microbiology*, 167(1), 44–56. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.06.016>
- Altuğ Onoğur, T., Elmacı, Y. (2019). Gıdalarda Duyusal Değerlendirme. Sidas Medya, İzmir.
- Altuntaş, E. G., Ayhan, K., Peker, S., Ayhan, B., & Demiralp, D. Ö. (2014). Purification and mass spectrometry based characterization of a pediocin produced by *Pediococcus acidilactici* 13. *Molecular Biology Reports*, 41(10), 6879–6885. <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3573-z>
- Alvarez-Jubete, L., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2009). Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60 (SUPPL.4), 240–257. <https://doi.org/10.1080/09637480902950597>
- Anderson, J. W., Baird, P., Davis, R. H., Ferreri, S., Knudtson, M., Koraym, A., Waters, V., & Williams, C. L. (2009). Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Reviews*, 67(4),

188–205. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00189.x>

Anderson, S. (2019). The psychobiotic revolution. *New Scientist*, 243(3246), 34–38. [https://doi.org/10.1016/S0262-4079\(19\)31679-3](https://doi.org/10.1016/S0262-4079(19)31679-3)

Anggraini, L., Marlida, Y., Wizna, W., Jamsari, J., & Mirzah, M. (2019). Optimization of nutrient medium for *Pediococcus acidilactici* DS15 to produce GABA. *Journal of World's Poultry Research*, 9(3), 139–146. <https://doi.org/10.36380/jwpr.2019.17>

Anggraini, L., Marlida, Y., Wizna, W., Jamsari, J., Mirzah, M., Adzitey, F., & Huda, N. (2019). Molecular identification and phylogenetic analysis of gaba-producing lactic acid bacteria isolated from indigenous dadih of west sumatera, indonesia. *F1000Research*, 7, 1–15. <https://doi.org/10.12688/f1000research.16224.3>

Anlı, E. Şanlıbaba P. (Eds.) (2019). Fermente Gıdalar (1. basım). Nobel Yayınevi, Ankara.

Anonim. (1983). Gıda Maddeleri Muayene ve Analiz Metodları. Tarım, Orman ve Köy İşleri Bakanlığı Gıda İşleri Genel Müdürlüğü, Yayın No: 65. Ankara.

Aoki, H., Uda, I., Tagami, K., Furuya, Y., Endo, Y., & Fujimoto, K. (2003). The Production of a New Tempeh-like Fermented Soybean Containing a High Level of  $\gamma$ -Aminobutyric Acid by Anaerobic Incubation with *Rhizopus*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 67(5), 1018–1023. <https://doi.org/10.1271/bbb.67.1018>

Arici, M., & Daglioglu, O. (2002). Boza: A lactic acid fermented cereal beverage as a traditional Turkish food. *Food Reviews International*, 18(1), 39–48. <https://doi.org/10.1081/FRI-120003416>

Ashraf, R., & Shah, N. P. (2011). Antibiotic resistance of probiotic organisms and safety of probiotic dairy products. *International Food Research Journal*, 18(3), 837–853.

Awika, J. M. (2011). Major cereal grains production and use around the world. *ACS Symposium Series*, 1089, 1–13. <https://doi.org/10.1021/bk-2011-1089.ch001>

Bağcı, U. (2012). *Anne Sütünden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Gıda Teknolojisi Açısından Önemli Olan Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi*. [Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi].

Barros, C. P., Guimarães, J. T., Esmerino, E. A., Duarte, M. C. K., Silva, M. C., Silva, R., Ferreira, B. M., Sant'Ana, A. S., Freitas, M. Q., & Cruz, A. G. (2020). Paraprobiotics and postbiotics: concepts and potential applications in dairy products. *Current Opinion in Food Science*, 32, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.12.003>

Basbülbul, G., Özteber, M., & Biyik, H. H. (2015). Antibiotic resistance in lactic acid bacteria isolated from fermented dairy products and boza. *Journal of Microbiology*,

*Biotechnology and Food Sciences*, 04(06), 513–517.  
<https://doi.org/10.15414/jmbfs.2015.4.6.513-517>

Bayram, B. (2004). *Laktik Asit Bakterilerinin Sakkaroz Parçalama Aktivitelerinin Bozada İncelenmesi*. [Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi].

Beck, B. R., Park, G. S., Jeong, D. Y., Lee, Y. H., Im, S., Song, W. H., & Kang, J. (2019). Multidisciplinary and Comparative Investigations of Potential Psychobiotic Effects of *Lactobacillus* Strains Isolated From Newborns and Their Impact on Gut Microbiota and Ileal Transcriptome in a Healthy Murine Model. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9(July), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00269>

Bennett, P. M. (2008). Plasmid encoded antibiotic resistance: Acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *British Journal of Pharmacology*, 153(SUPPL. 1), 347–357. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707607>

Berktaş, İ. (2011). *Bozanın Farklı Hammadeler Kullanılarak Üretilmesinin Fenolik İçeriğine ve Kalitesine Etkisi*. [Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi].

Bermúdez-Humarán, L. G., Salinas, E., Ortiz, G. G., Ramirez-Jirano, L. J., Morales, J. A., & Bitzer-Quintero, O. K. (2019). From probiotics to psychobiotics: Live beneficial bacteria which act on the brain-gut axis. *Nutrients*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/nu11040890>

Bhanwar, S., Bamnia, M., Ghosh, M., & Ganguli, A. (2013). Use of *Lactococcus lactis* to enrich sourdough bread with  $\gamma$ -aminobutyric acid. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 64(1), 77–81. <https://doi.org/10.3109/09637486.2012.700919>

Bhargava, A., Shukla, S., & Ohri, D. (2006). Chenopodium quinoa - An Indian perspective. *Industrial Crops and Products*, 23(1), 73–87. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2005.04.002>

Bhunja, A. K., Johnson, M. C., & Ray, B. (1988). Purification, characterization and antimicrobial spectrum of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*. *Journal of Applied Bacteriology*, 65(4), 261–268. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1988.tb01893.x>

Bilginer, H., & Çetin, B. (2019). Probiyotikler ve Belirlenmelerinde Kullanılan in vitro Testler. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, December, 312–325. <https://doi.org/10.17097/ataunizfd.549552>

Boonstra, E., de Kleijn, R., Colzato, L. S., Alkemade, A., Forstmann, B. U., & Nieuwenhuis, S. (2015). Neurotransmitters as food supplements: The effects of GABA on brain and behavior. *Frontiers in Psychology*, 6(OCT), 6–11. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2015.01520>

Borcakli, M., Öztürk, T., & Yeşilada, E. (2018). Cereal source and microbial consortia

of the starter culture influence the chemical composition and physicochemical characteristics of boza. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 42(6), 412–422. <https://doi.org/10.3906/tar-1802-3>

Borneo, R., Aguirre, A., & León, A. E. (2010). Chia (*Salvia hispanica* L) Gel Can Be Used as Egg or Oil Replacer in Cake Formulations. *Journal of the American Dietetic Association*, 110(6), 946–949. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2010.03.011>

Botes, A., Todorov, S. D., von Mollendorff, J. W., Botha, A., & Dicks, L. M. T. (2007). Identification of lactic acid bacteria and yeast from boza. *Process Biochemistry*, 42(2), 267–270. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.07.015>

Bozdemir, M., Gümüş, T., & Altan Kamer, D. D. (2022). Technological and beneficial features of lactic acid bacteria isolated from Boza A cereal-based fermented beverage. *Food Biotechnology*, 36(3), 209–233. <https://doi.org/10.1080/08905436.2022.2092128>

Bresson, J.-L., Flynn, A., Heinonen, M., Hulshof, K., Korhonen, H., Lagiou, P., Løvik, M., Marchelli, R., Martin, A., Moseley, B., Przyrembel, H., Salminen, S., J Strain, J. (Sean), Strobel, S., Tetens, I., van den Berg, H., van Loveren, H., & Verhagen, H. (2009). Opinion on the safety of ‘ Chia seeds (*Salvia hispanica* L.) and ground whole Scientific Opinion of the Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies Adopted on 13 March 2009. *Nutrition*, 1, 1–26.

Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., ... Recio, I. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, 14(4), 991–1014. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>

Bueno, M., di Sapio, O., Barolo, M., Busilacchi, H., Quiroga, M., & Severin, C. (2010). Quality tests of *Salvia hispanica* L. (*Lamiaceae*) fruits marketed in the city of Rosario (Santa Fe province, Argentina). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*, 9(3), 221–227.

Butler, M. I., Bastiaanssen, T. F. S., Long-Smith, C., Berding, K., Morkl, S., Cusack, A. M., Strain, C., Busca, K., Porteous-Allen, P., Claesson, M. J., Stanton, C., Cryan, J. F., Allen, D., & Dinan, T. G. (2020). Recipe for a healthy gut: Intake of unpasteurised milk is associated with increased lactobacillus abundance in the human gut microbiome. *Nutrients*, 12(5). <https://doi.org/10.3390/nu12051468>

Cakir, E., Kirtil, H. E., & Arici, M. (2024). The effect of different essential oils on antioxidant and shelf life of traditional fermented grain beverage Turkish boza. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 30(1), 128–130.

Caniça, M., Manageiro, V., Abriouel, H., Moran-Gilad, J., & Franz, C. M. A. P. (2019). Antibiotic resistance in foodborne bacteria. *Trends in Food Science and Technology*, 84(May 2018), 41–44. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.08.001>

Caputo, L., Quintieri, L., Baruzzi, F., Borcakli, M., & Morea, M. (2012). Molecular and phenotypic characterization of *Pichia fermentans* strains found among Boza yeasts. *Food Research International*, 48(2), 755–762. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.06.022>

Casarotti, S. N., Carneiro, B. M., & Penna, A. L. B. (2014). Evaluation of the effect of supplementing fermented milk with quinoa flour on probiotic activity. *Journal of Dairy Science*, 97(10), 6027–6035. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8197>

Casertano, M., Fogliano, V., & Ercolini, D. (2022). Psychobiotics, gut microbiota and fermented foods can help preserving mental health. *Food Research International*, 152(December 2021), 110892. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110892>

Cassiday, L. (2017). Chia: Superfood or superfad? *International News on Fats, Oils and Related Materials*, 28(1), 6–13. <https://doi.org/10.21748/inform.01.2017.06>

Cemeroğlu, B. S. (2013). Gıda Analizleri (3. baskı). Bizim Grup Basımevi, Ankara.

Chauhan, G. S., Eskin, N. A. M., & Tkachuk, R. (1992). Nutrients and antinutrients in quinoa seed. İçinde *Cereal Chemistry* (C. 69, ss. 85–88).

Chen, Y. C., Tao, N. L., Hu, S. Y., Tsai, H. Y., Liao, S. C., Tsai, W. L., & Hu, C. Y. (2021). Effect of tempeh on gut microbiota and anti-stress activity in zebrafish. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23). <https://doi.org/10.3390/ijms222312660>

Cheng, L. H., Liu, Y. W., Wu, C. C., Wang, S., & Tsai, Y. C. (2019). Psychobiotics in mental health, neurodegenerative and neurodevelopmental disorders. *Journal of Food and Drug Analysis*, 27(3), 632–648. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2019.01.002>

Chiang, J. H., Ong, D. S. M., Ng, F. S. K., Hua, X. Y., Tay, W. L. W., & Henry, C. J. (2021). Application of chia (*Salvia hispanica*) mucilage as an ingredient replacer in foods. *Trends in Food Science and Technology*, 115(June), 105–116. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.039>

Cho, S. Y., Park, M. J., Kim, K. M., Ryu, J. H., & Park, H. J. (2011). Production of high  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) sour kimchi using lactic acid bacteria isolated from Mukeunjee kimchi. *Food Science and Biotechnology*, 20(2), 403–408. <https://doi.org/10.1007/s10068-011-0057-y>

Cholakov, R., Denkova, Z., Kostov, G., Yanakieva, V., & Sotirova, E. (2015). Batch culturing of *Lactobacillus plantarum* BG 24 with probiotic potential. *Scientific Works of University of Food Technologies*, LXII, 393–397.

Cholakov, R., Yanakieva, V., Denkova, Z., & Sotirova, E. (2014). Probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* BG24 , isolated from naturally fermented cereal beverage.

*Scientific University of Rouse Journals*, 53(October), 46–50.

Cholakov, R., Denkova, Z., Yanakieva, V., Tumbarski, Y., Urshev, Z., & Dobrev, I. (2016). Biochemical and Molecular Identification of a Strain *Leuconostoc lactis* BT17, Isolated from a Spontaneously Fermented Cereal Beverage, Boza. *Akademik Gıda*, 14(3), 230–234. <http://www.academicfoodjournal.com>

Cholakov, Remzi, Tumbarski, Y., Yanakieva, V., Dobrev, I., Salim, Y., & Denkova, Z. (2017). Antimicrobial activity of *Leuconostoc lactis* strain BT17, isolated from a spontaneously fermented cereal beverage (Boza). *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 7(1), 47–49. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2017.7.1.47-49>

Cholakov, Remzi, Yanakieva, V., Denkova, Z., & Sotirova, E. (2014). Probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* BG24 , isolated from naturally fermented cereal beverage. *Scientific University of Rouse Journals*, 53(October), 46–50.

Chua, J. Y., Koh, M. K. P., & Liu, S. Q. (2018). Gamma-aminobutyric acid: A bioactive compound in foods. İçinde *Sprouted Grains: Nutritional Value, Production, and Applications* (C. 67). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811525-1.00002-6>

CLSI, 2017. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. National Committee for Clinical Laboratory Standards: M2-A9.

Coda, R., Montemurro, M., & Rizzello, C. G. (2017). Yogurt-like beverages made with cereals. İçinde *Yogurt in Health and Disease Prevention*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805134-4.00010-9>

Coda, R., Rizzello, C. G., & Gobbetti, M. (2010). Use of sourdough fermentation and pseudo-cereals and leguminous flours for the making of a functional bread enriched of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA). *International Journal of Food Microbiology*, 137(2–3), 236–245. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.12.010>

Codină, G. G., Franciuc, S. G., & Mironeasa, S. (2016). Rheological Characteristics and Microstructure of Milk Yogurt as Influenced by Quinoa Flour Addition. *Journal of Food Quality*, 39(5), 559–566. <https://doi.org/10.1111/jfq.12210>

Coorey, R., Tjoe, A., & Jayasena, V. (2014). Gelling Properties of Chia Seed and Flour. *Journal of Food Science*, 79(5). <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12444>

Costa, J. de A., Santos, J. T. de O., Bacelar, R. G. A., Carneiro, R. M., Silva, D. S. N., Nóbrega, M. M. G. P., & Muratori, M. C. S. (2022). Dairy drink fermented with chia seed and acerola syrup: physicochemical, microbiological, and sensory characterization. *Ciência Animal Brasileira*, 23. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v23e-72395e>

Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2005). Food microbiology: Bacteriocins:

Developing innate immunity for food. *Nature Reviews Microbiology*, 3(10), 777–788. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1273>

Çağlar, H., Ereku, O., & Yiğit, A. (2017). Farklı Lokasyonlarda Yetiştirilen Mısır Çeşitlerinin Tane Verimi ve Aminoasit İçeriklerinin Belirlenmesi. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14(1), 65–70. <https://doi.org/10.25308/aduziraat.298235>

Çetinbaş, S., Kemeriz, F., Göker, G., Biçer, İ., & Velioğlu, Y. S. (2017). İnsan Mikrobiyomu: Beslenme ve Sağlık Üzerindeki Etkileri. *Akademik Gıda, December 2017*, 409–415. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.370267>

Dahiya, D., & Nigam, P. S. (2022). Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, and Fermented Foods as Potential Biotics in Nutrition Improving Health via Microbiome-Gut-Brain Axis. *Fermentation*, 8(7). <https://doi.org/10.3390/fermentation8070303>

Das, D. J., Shankar, A., Johnson, J. B., & Thomas, S. (2020). Critical insights into antibiotic resistance transferability in probiotic *Lactobacillus*. *Nutrition*, 69, 110567. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2019.110567>

De Vuyst, L., & Degeest, B. (1999). Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 23(2), 153–177. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(98\)00042-4](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(98)00042-4)

Del Toro-Barbosa, M., Hurtado-Romero, A., Garcia-Amezquita, L. E., & García-Cayuela, T. (2020). Psychobiotics: Mechanisms of action, evaluation methods and effectiveness in applications with food products. *Nutrients*, 12(12), 1–31. <https://doi.org/10.3390/nu12123896>

Demir, M. K., & Kılınç, M. (2016). Quinoa: Nutritional and Anti-Nutritional Characteristics. *Journal of Food and Health Science*, 2(3), 104–111. <https://doi.org/10.3153/jfhs16011>

Demirbaş, F., İspirli, H., Kurnaz, A. A., Yılmaz, M. T., & Dertli, E. (2017). Antimicrobial and functional properties of lactic acid bacteria isolated from sourdoughs. *LWT - Food Science and Technology*, 79, 361–366. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.067>

Demyanenko, T. F., Domoroshchenkova, M. L., Kuznetsova, E. D., Safronova, A. V., Kuznetsova, D. V., & Nadtochii, L. A. (2019). The use of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) in the formulation of a milk-based fermented product. *Processes and Food Production Equipment*, 73–80. <https://doi.org/10.17586/2310-1164-2019-12-3-73-80>

Dertli, E. (2015). Isolation and identification of an exopolysaccharide producer *Streptococcus thermophilus* strain from Turkish yogurt. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21(2), 229–232. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2014.12116>

Dertli, E., Mercan, E., Arici, M., Yilmaz, M. T., & Sağdıç, O. (2016). Characterisation of lactic acid bacteria from Turkish sourdough and determination of their exopolysaccharide (EPS) production characteristics. *Lwt*, 71, 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.03.030>

Dhakal, R., Bajpai, V. K., & Baek, K. H. (2012). Production of GABA ( $\gamma$ -aminobutyric acid) by microorganisms: A review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(4), 1230–1241. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000400001>

Di Cagno, R., Minervini, G., Rizzello, C. G., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2011). Effect of lactic acid fermentation on antioxidant, texture, color and sensory properties of red and green smoothies. *Food Microbiology*, 28(5), 1062–1071. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.02.011>

Diana, M., Quílez, J., & Rafecas, M. (2014). Gamma-aminobutyric acid as a bioactive compound in foods: A review. *Journal of Functional Foods*, 10, 407–420. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.07.004>

Diana, M., Rafecas, M., & Quílez, J. (2014). Free amino acids, acrylamide and biogenic amines in gamma-aminobutyric acid enriched sourdough and commercial breads. *Journal of Cereal Science*, 60(3), 639–644. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2014.06.009>

Diez-Gutiérrez, L., San Vicente, L., Sáenz, J., Barron, L. J. R., & Chávarri, M. (2022). Characterisation of the probiotic potential of *Lactiplantibacillus plantarum* K16 and its ability to produce the postbiotic metabolite  $\gamma$ -aminobutyric acid. *Journal of Functional Foods*, 97(May). <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105230>

Dimitrovski, D., Dimitrovska-Vetadjoka, M., Hristov, H., & Doneva-Shapceska, D. (2021). Developing probiotic pumpkin juice by fermentation with commercial probiotic strain *Lactobacillus casei* 431. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(3), 1–9. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15245>

Dinan, T. G., Stanton, C., & Cryan, J. F. (2013). Psychobiotics: A novel class of psychotropic. *Biological Psychiatry*, 74(10), 720–726. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.05.001>

Doğan, M., & Özpınar, H. (2017). Bazı gıda ürünlerinden izole edilen bakterilerin probiyotik özelliklerinin araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 23(4), 555–562. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2016.17273>

Duran Balkan, N. (2011). *Keçiboynuzlu bozanın bazı kalitatif özelliklerinin incelenmesi*. [Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi].

Dünya Sağlık Örgütü. 2018. Mental health ATLAS 2014. Geneva: World Health Organization.

Düven, G., Kumcuoğlu, S., & Kışla, D. (2021). Ultrasonication-assisted kefir

production and its effect on fermentation time and EPS production. *Food Bioscience*, 42. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101059>

Erdoğdu, M., & Geçgel, Ü. (2019). Chia Tohumu (*Salvia hispanica* L .) ve Yağının Fizikokimyasal Özellikleri ve Gıda Sektöründe Değerlendirilmesi Physicochemical Properties of Chia Seed (*Salvia hispanica* L .) and Oil and Usage in Food Sector Özet. *Gıda ve Yem Bilimi - Teknolojisi Dergisi*, 21(2007), 9–17.

Erginkaya, Z., Yalanca, İ., & Ünal Turhan, E. (2019). Antibiotic resistance profile of lactic acid bacteria from traditional meat products. *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, 25(7), 834–838. <https://doi.org/10.5505/pajes.2018.34466>

Erkmen, O. (Ed.) (2011). Gıda Mikrobiyolojisi, Efil Yayınevi, 3.baskı, Ankara.

Ertaş, N., Aslan, M., & Yağcılar, E. (2019). Kefir kültürü ve instant maya kullanımının boza kalitesi üzerine etkisi ve havuç tozları ile bozanın zenginleştirilmesi. *Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi.*, 24(4040), 59–66.

FDA,(2024). FDA Foods Program Compendium of Analytical Laboratory Methods: Microbiological Methods. <https://www.fda.gov/food/science-research-food/laboratory-methods-food#Bio> (Erişim Tarihi: 15.06.2024)

Fels, L., Jakob, F., Vogel, R. F., & Wefers, D. (2018). Structural characterization of the exopolysaccharides from water kefir. *Carbohydrate Polymers*, 189(February), 296–303. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.02.037>

Flemming, H. C., & Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 8(9), 623–633. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2415>

Franciosi, E., Carafa, I., Nardin, T., Schiavon, S., Poznanski, E., Cavazza, A., Larcher, R., & Tuohy, K. M. (2015). Biodiversity and  $\gamma$  -aminobutyric acid production by lactic acid bacteria isolated from traditional alpine raw cow's milk cheeses. *BioMed Research International*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/625740>

Gänzle, M. G. (2015). Lactic metabolism revisited: Metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Current Opinion in Food Science*, 2(Figure 2), 106–117. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.03.001>

Genç, M., Zorba, M., & Ova, G. (2002). Determination of rheological properties of boza by using physical and sensory analysis. *Journal of Food Engineering*, 52(1), 95–98. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(01\)00092-9](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00092-9)

Giri, R., & Sharma, R. K. (2022). Psychobiotics in diet: Significance and applications of neuroactive and psychoactive microbial metabolites. *Nutrition Reviews*, 80(9), 2002–2016. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuac019>

Gök Charyyev, M., Özden Tuncer, B., Akpınar Kankaya, D., & Tuncer, Y. (2019).

Bacteriocinogenic properties and safety evaluation of *Enterococcus faecium* YT52 isolated from boza, a traditional cereal based fermented beverage. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 14(1), 41–53. <https://doi.org/10.1007/s00003-019-01213-9>

Göncü, A., Kuzumoğlu, Y., Vardin, A. Y., Çelik, İ., & Karaman, A. D. (2023). Evaluation of physicochemical and sensorial properties of gluten-free boza formulated with chia and quinoa flours. *Cereal Chemistry*, 100(5), 1123–1131. <https://doi.org/10.1002/cche.10695>

Grobbs, G. J., Chin-Joe, I., Kitzen, V. A., Boels, I. C., Boer, F., Sikkema, J., Smith, M. R., & De Bont, J. A. M. (1998). Enhancement of exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772 with a simplified defined medium. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(4), 1333–1337. <https://doi.org/10.1128/aem.64.4.1333-1337.1998>

Guan, Q., Xiong, T., & Xie, M. (2021). Influence of Probiotic Fermented Fruit and Vegetables on Human Health and the Related Industrial Development Trend. *Engineering*, 7(2), 212–218. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2020.03.018>

Gueimonde, M., Sánchez, B., de los Reyes-Gavilán, C. G., & Margolles, A. (2013). Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 4(JUL), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00202>

Gültekin, İ. (2021). *Kum Darının ( Panicum miliaceum L .) Glütensiz Ekmek Yapımında Kullanımı*. [Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi].

Güneş, E., & Ayhan, K. (2010). Süt ve Süt Ürünlerinde Bakteriyosinlerin Kullanımı. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16 (1), 113–120.

Han, M., Liao, W. yan, Wu, S. mao, Gong, X., & Bai, C. (2020). Use of *Streptococcus thermophilus* for the *in situ* production of  $\gamma$ -aminobutyric acid-enriched fermented milk. *Journal of Dairy Science*, 103(1), 98–105. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16856>

Han, S., Jeon, S., Lee, H., & Lee, J. (2016). Screening of  $\gamma$ -Aminobutyric Acid (GABA)-Producing Wild Yeasts and their Microbiological Characteristics. *The Korean Journal of Mycology*, 44(2), 87–93. <https://doi.org/10.4489/kjm.2016.44.2.87>

Han, S. M., & Lee, J. S. (2017). Production and its anti-hyperglycemic effects of  $\gamma$ -aminobutyric acid from the wild yeast strain *Pichia silvicola* UL6-1 and *Sporobolomyces carnicolor* 402-JB-1. *Mycobiology*, 45(3), 199–203. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2017.45.3.199>

Hancıoğlu, Ö., & Karapınar, M. (1997). Microflora of Boza, a traditional fermented Turkish beverage. *International Journal of Food Microbiology*, 35(3), 271–274. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(96\)01230-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(96)01230-5)

Hemarajata, P., & Versalovic, J. (2013). Effects of probiotics on gut microbiota: Mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 6(1), 39–51. <https://doi.org/10.1177/1756283X12459294>

Heperkan, D., Daskaya-Dikmen, C., & Bayram, B. (2014). Evaluation of lactic acid bacterial strains of boza for their exopolysaccharide and enzyme production as a potential adjunct culture. *Process Biochemistry*, 49(10), 1587–1594. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.06.012>

Herawati, H., Afifah, D. N., Kusumanigtyas, E., Usmiati, S., Soemantri, A. S., Miskiyah, Kamsiati, E., & Bachtiar, M. (2021). Characterization of GABA (gamma-aminobutyric acid) levels some fermented food in Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 819(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/819/1/012068>

Hiraga, K., Ueno, Y., Sukontasing, S., Tanasupawat, S., & Oda, K. (2008). *Lactobacillus senmaizukei* sp. nov., isolated from Japanese pickle. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(7), 1625–1629. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65677-0>

Hirose, Y., Fujita, T., Ishii, T., & Ueno, N. (2010). Antioxidative properties and flavonoid composition of *Chenopodium quinoa* seeds cultivated in Japan. *Food Chemistry*, 119(4), 1300–1306. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.008>

Hoffman, S. B. (2001). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 23(5), 464–472. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.vmbf-0016-2015>

Hudec, J., Kobida, Ľ., Čanigová, M., Lacko-Bartošová, M., Ložek, O., Chlebo, P., Mrázová, J., Ducsay, L., & Bystrická, J. (2015). Production of  $\gamma$ -aminobutyric acid by microorganisms from different food sources. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(6), 1190–1198. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6807>

İşleroğlu, H., Dirim, S. N., & Ertekin, F. K. (2009). Gluten İçermeyen, Hububat Esaslı Alternatif Ürün Formülasyonları ve Üretim Teknolojileri. *Gıda*, 34(1), 29–36.

Ixtaina, V. Y., Mattea, F., Cardarelli, D. A., Mattea, M. A., Nolasco, S. M., & Tomás, M. C. (2011). Supercritical carbon dioxide extraction and characterization of Argentinean chia seed oil. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88(2), 289–298. <https://doi.org/10.1007/s11746-010-1670-2>

Jacobsen, S. E. (2003). The worldwide potential for quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Reviews International*, 19(1–2), 167–177. <https://doi.org/10.1081/FRI-120018883>

Jain, P., & Ghodke, M. S. (2021). Bioactive Natural Products for Pharmaceutical

Applications. D. Pal & A. K. Nayak (Ed.), *Advanced Structured Materials* (C. 140).

Jensen, H., Grimmer, S., Naterstad, K., & Axelsson, L. (2012). In vitro testing of commercial and potential probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 153(1–2), 216–222. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.11.020>

Jose, N. M., Bunt, C. R., & Hussain, M. A. (2015). Implications of Antibiotic Resistance in Probiotics. *Food Reviews International*, 31(1), 52–62. <https://doi.org/10.1080/87559129.2014.961075>

Kabak, B., & Dobson, A. D. W. (2011). An introduction to the traditional fermented foods and beverages of Turkey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(3), 248–260. <https://doi.org/10.1080/10408390903569640>

Kancabaş, A., & Karakaya, S. (2013). Angiotensin-converting enzyme (ACE)-inhibitory activity of boza, a traditional fermented beverage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(3), 641–645. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5883>

Kanklai, J., Somwong, T. C., Rungsirivanich, P., & Thongwai, N. (2021). Screening of gaba-producing lactic acid bacteria from thai fermented foods and probiotic potential of *Levilactobacillus brevis* f064a for GABA-fermented mulberry juice production. *Microorganisms*, 9(1), 1–17. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010033>

Karolewicz, B., Paul, I. A., & Antkiewicz-Michaluk, L. (2001). Effect of NOS inhibitor on forced swim test and neurotransmitters turnover in the mouse brain. *Polish Journal of Pharmacology*, 53(6), 587–596.

Kastner, S., Perreten, V., Bleuler, H., Hugenschmidt, G., Lacroix, C., & Meile, L. (2006). Antibiotic susceptibility patterns and resistance genes of starter cultures and probiotic bacteria used in food. *Systematic and Applied Microbiology*, 29(2), 145–155. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2005.07.009>

Kato-Kataoka, A., Nishida, K., Takada, M., Suda, K., Kawai, M., Shimizu, K., Kushiro, A., Hoshi, R., Watanabe, O., Igarashi, T., Miyazaki, K., Kuwano, Y., & Rokutan, K. (2016). Fermented milk containing *Lactobacillus casei* strain Shirota prevents the onset of physical symptoms in medical students under academic examination stress. *Beneficial Microbes*, 7(2), 153–156. <https://doi.org/10.3920/BM2015.0100>

Kavruk, M., Yurt, M. N. Z., Taşbaşı, B. B., Acar, E. E., Soyuçok, A., Altunbaş, O., Özalp, V. C., & Sudağdan, M. (2021). Boza Mikrobiyotasının Fermentasyon Sürecindeki Değişimi. *Kocatepe Veterinary Journal*, 14, 238–246. <https://doi.org/10.30607/kvj.895295>

Kaya, Y. (2020). *Farklı Kaynaklardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Potansiyelinin Belirlenmesi*. [Yüksek Lisans Tezi, Bayburt Üniversitesi].

Keskin, B., Akdeniz, H., Temel, S., & Eren, B. (2018). Farklı Tane Mısır (*Zea mays* L.)

Çeşitlerinin Besleme Değerlerinin Belirlenmesi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 49(1), 13–17. <https://doi.org/10.17097/ataunizfd.347907>

Kim, K.M; Yu, K. W.; Kang, D. H. and Suh, H. J. (2002). Anti-stress and Anti-fatigue Effect of Fermented. *Phytotherapy Research*, 702(16), 700–702. <https://doi.org/10.1002/ptr.1019> SHORTCOMMUNICATION

Kim, D. H., Dasagrandhi, C., Park, S. K., Eom, S. H., Huh, M. K., Mok, J. S., & Kim, Y. M. (2018). Optimization of gamma-aminobutyric acid production using sea tangle extract by lactic acid bacterial fermentation. *LWT Food Science and Technology*, 90, 636–642. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.011>

Kim, J. Y., Lee, M. Y., Ji, G. E., Lee, Y. S., & Hwang, K. T. (2009). Production of  $\gamma$ -aminobutyric acid in black raspberry juice during fermentation by *Lactobacillus brevis* GABA100. *International Journal of Food Microbiology*, 130(1), 12–16. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.12.028>

Kim, M. J., & Kim, K. S. (2012). Isolation and Identification of  $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA)-producing lactic acid bacteria from Kimchi. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 55(6), 777–785. <https://doi.org/10.1007/s13765-012-2174-6>

Kıvanç, M., Yılmaz, M., & Çakır, E. (2011). Isolation and identification of lactic acid bacteria from boza, and their microbial activity against several reporter strains. *Turkish Journal of Biology*, 35(3), 313–324. <https://doi.org/10.3906/biy-0906-67>

Klingberg, T. D., Axelsson, L., Naterstad, K., Elsser, D., & Budde, B. B. (2005). Identification of potential probiotic starter cultures for Scandinavian-type fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 105(3), 419–431. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.020>

Knudsen, K. E. B. (2014). Fiber and nonstarch polysaccharide content and variation in common crops used in broiler diets. *Poultry Science*, 93(9), 2380–2393. <https://doi.org/10.3382/ps.2014-03902>

Ko, C. Y., Lin, H. T. V., & Tsai, G. J. (2013). Gamma-aminobutyric acid production in black soybean milk by *Lactobacillus brevis* FPA 3709 and the antidepressant effect of the fermented product on a forced swimming rat model. *Process Biochemistry*, 48(4), 559–568. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.02.021>

Kurohara, S., Asai, M., Hayashi, M., Yokoigawa, K., & Ueno, H. (2001). Microanalysis of GABA: An application for evaluating GABA production in yeast strains and the effect of spice extracts on glutamate decarboxylase activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 1(2), 45–48.

Le, P. H., Verscheure, L., Le, T. T., Verheust, Y., & Raes, K. (2020). Implementation of HPLC Analysis for  $\gamma$ -Aminobutyric Acid (GABA) in Fermented Food Matrices. *Food*

*Analytical Methods*, 13(5), 1190–1201. <https://doi.org/10.1007/s12161-020-01734-2>

Lee, X. Y., Tan, J. S., & Cheng, L. H. (2023). Gamma Aminobutyric Acid (GABA) Enrichment in Plant-Based Food—A Mini Review. *Food Reviews International*, 39(8), 5864–5885. <https://doi.org/10.1080/87559129.2022.2097257>

Lerminiaux, N. A., & Cameron, A. D. S. (2019). Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. *Canadian Journal of Microbiology*, 65(1), 34–44. <https://doi.org/10.1139/cjm-2018-0275>

Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*, 15(2), 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.004>

Levent, H., & Algan Cavuldak, Ö. (2017). Geleneksel Fermente Bir İçecek: Boza. *Akademik Gıda*, 15(3), 300–307. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.345273>

Li, H., & Cao, Y. (2010). Lactic acid bacterial cell factories for gamma-aminobutyric acid. *Amino Acids*, 39(5), 1107–1116. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0582-7>

Li, S., Zhang, Y., Li, X., Yin, P., Wang, T., Li, Y., Zhang, K., Sheng, H., Lu, S., Ji, H., Fan, Z., & Li, B. (2022). The Effect of the Ratio of Gamma Aminobutyric Acid-Producing *Saccharomyces cerevisiae* DL6–20 and *Kluyveromyces marxianus* B13–5 Addition on Cheese Quality. *Frontiers in Microbiology*, 13(June), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.900394>

Li, S., Zhang, Y., Yin, P., Zhang, K., Liu, Y., Gao, Y., Li, Y., Wang, T., Lu, S., & Li, B. (2021). Probiotic potential of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA)–producing yeast and its influence on the quality of cheese. *Journal of Dairy Science*, 104(6), 6559–6576. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19845>

Li, Y., Wang, T., Li, S., Yin, P., Sheng, H., Wang, T., Zhang, Y., Zhang, K., Wang, Q., Lu, S., Dong, J., & Li, B. (2022). Influence of GABA-producing yeasts on cheese quality, GABA content and the volatilome. *Lwt*, 154, 112766. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112766>

Lim, H. S., Cha, I. T., Roh, S. W., Shin, H. H., & Seo, M. J. (2017). Enhanced production of gamma-aminobutyric acid by optimizing culture conditions of *Lactobacillus brevis* HYE1 isolated from kimchi, a Korean fermented food. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(3), 450–459. <https://doi.org/10.4014/jmb.1610.10008>

Linares, D. M., O’Callaghan, T. F., O’Connor, P. M., Ross, R. P., & Stanton, C. (2016). *Streptococcus thermophilus* APC151 strain is suitable for the manufacture of naturally gaba-enriched bioactive yogurt. *Frontiers in Microbiology*, 7(NOV), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01876>

Liu, C., Zhang, Z. Y., Dong, K., Yuan, J. P., & Guo, X. K. (2009). Antibiotic resistance of probiotic strains of lactic acid bacteria isolated from marketed foods and drugs. *Biomedical and Environmental Sciences*, 22(5), 401–412. [https://doi.org/10.1016/S0895-3988\(10\)60018-9](https://doi.org/10.1016/S0895-3988(10)60018-9)

Lorusso, A., Coda, R., Montemurro, M., & Rizzello, C. G. (2018). Use of selected lactic acid bacteria and quinoa flour for manufacturing novel yogurt-like beverages. *Foods*, 7(4), 1–20. <https://doi.org/10.3390/foods7040051>

Luang-In, V., Katisart, T., Konsue, A., Nudmamud-Thanoi, S., Narbad, A., Saengha, W., Wangkahart, E., Pumriw, S., Samappito, W., & Ma, N. L. (2020). Psychobiotic Effects of Multi-Strain Probiotics Originated from Thai Fermented Foods in a Rat Model. *Food Science of Animal Resources*, 40(6), 1014–1032. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2020.e72>

Luang-In, V., Saengha, W., Karirat, T., Deeseenthum, S., Buranrat, B., Nudmamud-Thanoi, S., Ma, N. L., & Narbad, A. (2021). Probiotic Attributes, GABA-Producing Capacity and Cytotoxic Effects of Microbes Isolated from Thai Fermented Foods. *International Journal of Agriculture and Biology*, 25(2), 409–419. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.1682>

Ly, D., Mayrhofer, S., Yogeswara, I. B. A., Nguyen, T. H., & Domig, K. J. (2019). Identification, classification and screening for  $\gamma$ -amino-butyric acid production in lactic acid bacteria from cambodian fermented foods. *Biomolecules*, 9(12), 1–16. <https://doi.org/10.3390/biom9120768>

Mathur, S., & Singh, R. (2005). Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria - A review. *International Journal of Food Microbiology*, 105(3), 281–295. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.008>

Meldrum, B. S. (2000). Glutamate as a neurotransmitter in the brain: Review of physiology and pathology. *Journal of Nutrition*, 130(4 SUPPL.), 1007–1015. <https://doi.org/10.1093/jn/130.4.1007s>

Metin, M. (2012). Süt ve Mamülleri Analiz Yöntemleri, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.

Milanovic, V., Osimani, A., Garofalo, C., Belleggia, L., Maoloni, A., Cardinali, F., Mozzon, M., Foligni, R., Aquilanti, L., & Clementi, F. (2020). Selection of cereal-sourced lactic acid bacteria as candidate starters for the baking industry. *PLoS ONE*, 15(7 July), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236190>

Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., MacIerzanka, A., MacKie, A., ... Brodtkorb, A. (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food-an international consensus. *Food and Function*, 5(6), 1113–1124.

<https://doi.org/10.1039/c3fo60702j>

Monteagudo-Mera, A., Fanti, V., Rodriguez-Sobstel, C., Gibson, G., Wijeyesekera, A., Karatzas, K. A., & Chakrabarti, B. (2023). Gamma aminobutyric acid production by commercially available probiotic strains. *Journal of Applied Microbiology*, 134(2), 1–10. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxac066>

Mörkl, S., Butler, M. I., Chichini, F., Cryan, J. F., Dinan, T., Mörkl, S., Butler, M. I., Chichini, F., Cryan, J. F., & Dinan, T. (2020). Psychobiotics. *The Oxford Handbook of the Microbiome-Gut-Brain Axis*. <https://doi.org/10.1093/oxfordhb/9780190931544.013.7>

Mousavi, R., Mottawea, W., Audet, M. C., & Hammami, R. (2022). Survival and Interplay of  $\gamma$ -Aminobutyric Acid-Producing Psychobiotic Candidates with the Gut Microbiota in a Continuous Model of the Human Colon. *Biology*, 11(9). <https://doi.org/10.3390/biology11091311>

Muñoz, L. A., Cobos, A., Diaz, O., & Aguilera, J. M. (2013). Chia Seed (*Salvia hispanica*): An Ancient Grain and a New Functional Food. *Food Reviews International*, 29(4), 394–408. <https://doi.org/10.1080/87559129.2013.818014>

Murshed, W. M. M. (2018). *Panicum miliaceum*. *CRC Handbook of Flowering*, 5, 237–238. <https://doi.org/10.1201/9781351072571>

Nagaoka, H. (2005). Treatment of germinated wheat to increase levels of GABA and IP6 catalyzed by endogenous enzymes. *Biotechnology Progress*, 21(2), 405–410. <https://doi.org/10.1021/bp0496777>

Nazzaro, F., Fratianni, F., Nicolaus, B., Poli, A., & Orlando, P. (2012). The prebiotic source influences the growth, biochemical features and survival under simulated gastrointestinal conditions of the probiotic *Lactobacillus acidophilus*. *Anaerobe*, 18(3), 280–285. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2012.03.002>

Needham, B. D., Funabashi, M., Adame, M. D., Wang, Z., Boktor, J. C., Haney, J., Wu, W. L., Rabut, C., Ladinsky, M. S., Hwang, S. J., Guo, Y., Zhu, Q., Griffiths, J. A., Knight, R., Bjorkman, P. J., Shapiro, M. G., Geschwind, D. H., Holschneider, D. P., Fischbach, M. A., & Mazmanian, S. K. (2022). A gut-derived metabolite alters brain activity and anxiety behaviour in mice. *Nature*, 602(7898), 647–653. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04396-8>

Ogunbanwo, S. T., Sanni, A. I., & Onilude, A. A. (2003). Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1. *African Journal of Biotechnology*, 2(8), 223–235. <https://doi.org/10.5897/ajb2003.000-1045>

Ohmori, T., Tahara, M., & Ohshima, T. (2018). Mechanism of gamma-aminobutyric acid (GABA) production by a lactic acid bacterium in yogurt-sake. *Process Biochemistry*, 74(August), 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.08.030>

Oleskin, A. V., & Shenderov, B. A. (2019). Probiotics and Psychobiotics: the Role of Microbial Neurochemicals. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11(4), 1071–1085. <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09583-0>

Olusegun, A., Makun, H. A., Ogara, I. M., Edema, M., Idahor, K. O., Oluwabamiwo, B. F., & Eshiett, M. E. (2012). We are IntechOpen , the world's leading publisher of Open Access books Built by scientists, 38. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.12.014>

Orona-Tamayo, D., Valverde, M. E., & Paredes-López, O. (2017). Chia-The New Golden Seed for the 21st Century: Nutraceutical Properties and Technological Uses. *Sustainable Protein Sources*, 265–281. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802778-3.00017-2>

Oroojzadeh, P., Bostanabad, S. Y., & Lotfi, H. (2022). Psychobiotics: the Influence of Gut Microbiota on the Gut-Brain Axis in Neurological Disorders. *Journal of Molecular Neuroscience*, 72(9), 1952–1964. <https://doi.org/10.1007/s12031-022-02053-3>

Osimani, A., Garofalo, C., Aquilanti, L., Milanović, V., & Clementi, F. (2015). Unpasteurised commercial boza as a source of microbial diversity. *International Journal of Food Microbiology*, 194, 62–70. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.11.011>

Otaru, N., Ye, K., Mujezinovic, D., Berchtold, L., Constancias, F., Cornejo, F. A., Krzystek, A., de Wouters, T., Braegger, C., Lacroix, C., & Pugin, B. (2021). GABA Production by Human Intestinal Bacteroides spp.: Prevalence, Regulation, and Role in Acid Stress Tolerance. *Frontiers in Microbiology*, 12(April). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.656895>

Özbek, T., & Şahin Yeşilçubuk, N. (2018). Süper Besin: Chia Tohumu (*Salvia hispanica* L.). *Journal of Nutrition and Dietetics*, 46(1), 90–96. <https://doi.org/10.33076/2018.bdd.292>

Özcan, A., Azar, İ., Yavuz, A., Yavaş, H., Tokat E., Çetin, V., (2020). Glüten Analizinde HPLC, LC-MS/MS Yöntemlerinin ELISA ile Karşılaştırılması. *Gıda ve Yem Bilimi -Teknolojisi Dergisi*. 24: 30-54.

Ozer, M., Ozturk, B., Hayaloglu, A. A., & Tellioglu Harsa, S. (2022a). Development of a functional chocolate using gamma-amino butyric acid producer *Lactocaseibacillus rhamnosus* NRRL B-442. *Food Bioscience*, 47, 101678. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101678>

Özer, M., Özyurt, G., & Tellioglu Harsa, Ş. (2019). Probiyotik ve Prebiyotiklerin Bağırsak-Beyin Aksına Etkisi. *Akademik Gıda*, June, 269–280. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.613637>

Özmen Toğay, S., Çelebi Keskin, A., Açıık, L., & Temiz, A. (2010). Virulence genes,

antibiotic resistance and plasmid profiles of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from naturally fermented Turkish foods. *Journal of Applied Microbiology*, 109(3), 1084–1092. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04763.x>

Öztürk, A., Özata, E., Erdal, Ş., & Pamukçu, M. (2019). Derleme Türkiye’de Özel Mısır Tiplerinin Kullanımı ve Geleceği. *Uluslararası Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 2(1), 75–90.

Öztürk, I., Karaman, S., Törnük, F., & Sağdıç, O. (2013). Physicochemical and rheological characteristics of alcohol-free probiotic boza produced using *Lactobacillus casei* Shirota: Estimation of the apparent viscosity of boza using nonlinear modeling techniques. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 37(4), 475–487. <https://doi.org/10.3906/tar-1207-49>

Palepu, M. S. K., & Dandekar, M. P. (2022). Remodeling of microbiota gut-brain axis using psychobiotics in depression. *European Journal of Pharmacology*, 931(July), 175171. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022.175171>

Palomba, S., Cavella, S., Torrieri, E., Piccolo, A., Mazzei, P., Blaiotta, G., Ventrino, V., & Pepe, O. (2012). Polyphasic screening, homopolysaccharide composition, and viscoelastic behavior of wheat sourdough from a *Leuconostoc lactis* and *Lactobacillus curvatus* exopolysaccharide-producing starter culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(8), 2737–2747. <https://doi.org/10.1128/AEM.07302-11>

Park, K. B., & Oh, S. H. (2007). Production of yogurt with enhanced levels of gamma-aminobutyric acid and valuable nutrients using lactic acid bacteria and germinated soybean extract. *Bioresource Technology*, 98(8), 1675–1679. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.06.006>

Pepoyan, A. Z., Pepoyan, E. S., Galstyan, L., Harutyunyan, N. A., Tsaturyan, V. V., Torok, T., Ermakov, A. M., Popov, I. V., Weeks, R., & Chikindas, M. L. (2021). The Effect of Immunobiotic/Psychobiotic *Lactobacillus acidophilus* Strain INMIA 9602 Er 317/402 Narine on Gut Prevotella in Familial Mediterranean Fever: Gender-Associated Effects. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13(5), 1306–1315. <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09779-3>

Perpetuini, G., Tittarelli, F., Battistelli, N., Suzzi, G., & Tofalo, R. (2020).  $\gamma$ -aminobutyric acid production by *Kluyveromyces marxianus* strains. *Journal of Applied Microbiology*, 129(6), 1609–1619. <https://doi.org/10.1111/jam.14736>

Perricone, M., Bevilacqua, A., Corbo, M. R., & Sinigaglia, M. (2014). Technological characterization and probiotic traits of yeasts isolated from Altamura sourdough to select promising microorganisms as functional starter cultures for cereal-based products. *Food Microbiology*, 38, 26–35. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.08.006>

Petrova, P., Emanuilova, M., & Petrov, K. (2010). Amylolytic lactobacillus strains from bulgarian fermented beverage boza. *Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal*

of *Biosciences*, 65(3–4), 218–224. <https://doi.org/10.1515/znc-2010-3-409>

Petrova, P., & Petrov, K. (2017). Traditional cereal Beverage Boza: Fermentation technology, microbial content and healthy effects. *Fermented Foods: Part II: Technological Interventions, March*, 284–305. <https://doi.org/10.1201/9781315205359>

Pulatsu, E., Malik, S., Lin, M., Krishnaswamy, K., & Vardhanabhuti, B. (2024). Preparation and Characterization of Boza Enriched with Nonfat Dry Milk and Its Impact on the Fermentation Process. *Gels*, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.3390/gels10010022>

Purwandari, U., Shah, N.P. and Vasiljevic, T. 2007. Effects of exopolysaccharide-producing strains of *Streptococcus thermophilus* on technological and rheological properties of set-type yoghurt. *International Dairy Journal*. 17, 1344-1352.

Queiroz, L. L., Hoffmann, C., Lacorte, G. A., de Melo Franco, B. D. G., & Todorov, S. D. (2022). Genomic and functional characterization of bacteriocinogenic lactic acid bacteria isolated from Boza, a traditional cereal-based beverage. *Scientific Reports*, 12(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05086-1>

Queiroz, L. L., Hoffmann, C., Lacorte, G. A., de Melo Franco, B. D. G., & Todorov, S. D. (2023). Bacteriocinogenic lactic acid bacteria in the traditional cereal-based beverage Boza: a genomic and functional approach. *The Education Research Institute*, 21(4), 207–232. <https://doi.org/10.31352/jer.21.4.207>

Quílez, J., & Diana, M. (2017). Gamma-Aminobutyric Acid-Enriched Fermented Foods. *Fermented Foods in Health and Disease Prevention*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802309-9.00005-4>

Ratanaburee, A., Kantachote, D., Charernjiratrakul, W., & Sukhoom, A. (2013). Enhancement of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) in Nham (Thai fermented pork sausage) using starter cultures of *Lactobacillus namurensis* NH2 and *Pediococcus pentosaceus* HN8. *International Journal of Food Microbiology*, 167(2), 170–176. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.09.014>

Ray B., Bhunia, A. (2007). *Fundamental Food Microbiology* (4th ed.). CRC Press.

Ren, D., Zhu, J., Gong, S., Liu, H., & Yu, H. (2018). Antimicrobial Characteristics of Lactic Acid Bacteria Isolated from Homemade Fermented Foods. *BioMed Research International*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/5416725>

Repo-Carrasco-Valencia, R. A.-M., & Serna, L. A. (2011). Quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd.) as a source of dietary fiber and other functional components. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 31(1), 225–230. <https://doi.org/10.1590/s0101-20612011000100035>

Reyes-Caudillo, E., Tecante, A., & Valdivia-López, M. A. (2008). Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia*

*hispanica* L.) seeds. *Food Chemistry*, 107(2), 656–663. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.062>

Ribeiro, S. C., Domingos-Lopes, M. F. P., Stanton, C., Ross, R. P., & Silva, C. C. G. (2018). Production of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus otakiensis* and other *Lactobacillus* sp. isolated from traditional Pico cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 71(4), 1012–1017. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12527>

Rocks, T., West, M., Hockey, M., Aslam, H., Lane, M., Loughman, A., Jacka, F. N., & Ruusunen, A. (2021). Possible use of fermented foods in rehabilitation of anorexia nervosa: the gut microbiota as a modulator. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 107, 110201. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.110201>

Rojas, W., Alandia, G., Irigoyen, J., Blajos, J., & Santivañez, T. (2011). La Quinoa: Cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial. *Oficina Regional para America Latina y el Caribe, FAO*, 37, 66.

Ruales, J., & Nair, B. M. (1992). Nutritional quality of the protein in quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd) seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, 42(1), 1–11. <https://doi.org/10.1007/BF02196067>

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), 163–171. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00160-1](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00160-1)

S. A. Valencia-Chamorro. (2003). Quinoa In: Caballero B. *Encyclopedia of Food Science and Nutrition, Academic Press, Waltham*, 4895–4902.

Sağlam, H., Öztürk, F., Uyansız, N., Yayla, F., Üniversitesi, K. A., Fakültesi, M. M., & Bölümü, G. M. (2018). Kakaonun boza üretimine etkisi ve bozanın bazı özelliklerinin incelenmesi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi* 22(3), 390–402. <https://doi.org/10.29050/harranziraat.3648>

Sahab, N. R. M., Subroto, E., Balia, R. L., & Utama, G. L. (2020).  $\gamma$ -Aminobutyric acid found in fermented foods and beverages: current trends. *Heliyon*, 6(11), e05526. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05526>

Sakkaa, S. El, Zaghloul, E. H., & Ghanem, K. M. (2022). Psychobiotic Potential of Gamma-Aminobutyric Acid-Producing Marine *Enterococcus faecium* SH9 from Marine Shrimp. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 14(5), 934–946. <https://doi.org/10.1007/s12602-022-09963-z>

Saldamlı, İ (Ed.). (2007). Gıda Kimyası (3. baskı). Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara.

Saleh, A. S. M., Zhang, Q., Chen, J., & Shen, Q. (2013). Millet grains: Nutritional quality, processing, and potential health benefits. *Comprehensive Reviews in Food*

*Science and Food Safety*, 12(3), 281–295. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12012>

Sanacora, J., & Blumberg H, et al. (2007). Gamma-aminobutyric acid (GABA) - Monograph. *Alternative Medicine Review*, 12(3), 274–279.

Sanchart, C., Rattanaporn, O., Haltrich, D., Phukpattaranont, P., & Maneerat, S. (2017). Enhancement of gamma-aminobutyric acid (GABA) levels using an autochthonous *Lactobacillus futsaii* CS3 as starter culture in Thai fermented shrimp (Kung-Som). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(8), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2317-3>

Sandoval-Oliveros, M. R., & Paredes-López, O. (2013). Isolation and characterization of proteins from chia seeds (*Salvia hispanica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(1), 193–201. <https://doi.org/10.1021/jf3034978>

Sarkar, A., Lehto, S. M., Harty, S., Dinan, T. G., Cryan, J. F., & Burnet, P. W. J. (2016). Psychobiotics and the Manipulation of Bacteria–Gut–Brain Signals. *Trends in Neurosciences*, 39(11), 763–781. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2016.09.002>

Sharma, P., Singh, N., Singh, S., Khare, S. K., Nain, P. K. S., & Nain, L. (2022). Potent  $\gamma$ -amino butyric acid producing psychobiotic *Lactococcus lactis* LP-68 from non-rhizospheric soil of *Syzygium cumini* (Black plum). *Archives of Microbiology*, 204(1), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02629-4>

Sharma, R., Gupta, D., Mehrotra, R., & Mago, P. (2021). Psychobiotics: The Next-Generation Probiotics for the Brain. *Current Microbiology*, 78(2), 449–463. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02289-5>

Siragusa, S., De Angelis, M., Di Cagno, R., Rizzello, C. G., Coda, R., & Gobbetti, M. (2007). Synthesis of  $\gamma$ -aminobutyric acid by lactic acid bacteria isolated from a variety of Italian cheeses. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(22), 7283–7290. <https://doi.org/10.1128/AEM.01064-07>

Sommerburg, O., Keunen, J. E. E., Bird, A. C., & Van Kuijk, F. J. G. M. (1998). Fruits and vegetables that are sources for lutein and zeaxanthin: The macular pigment in human eyes. *British Journal of Ophthalmology*, 82(8), 907–910. <https://doi.org/10.1136/bjo.82.8.907>

Song, N. E., Lee, D. Bin, Lee, S. H., & Baik, S. H. (2021). Preparation of high GABA-enriched yeast extract by non-saccharomyces yeasts isolated from korean traditional fermented soybean product. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 49(3), 320–328. <https://doi.org/10.48022/mb.2105.05003>

Soyuçok, A., Ekiz, T., & Başıyigit Kılıç, G. (2016). Ekzopolisakkaritlerin Özellikleri ve Gıda Sanayindeki Önemi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5, 332–332. <https://doi.org/10.17100/nevbi.211029>

- Stiemsma, L. T., Nakamura, R. E., Nguyen, J. G., & Michels, K. B. (2020). Does Consumption of Fermented Foods Modify the Human Gut Microbiota?. *Journal of Nutrition*, 150(7), 1680–1692. <https://doi.org/10.1093/jn/nxaa077>
- Sun, X., Wang, J., Li, C., Zheng, M., Zhang, Q., Xiang, W., & Tang, J. (2022). The Use of  $\gamma$ -Aminobutyric Acid-Producing *Saccharomyces cerevisiae* SC125 for Functional Fermented Beverage Production from Apple Juice. *Foods*, 11(9). <https://doi.org/10.3390/foods11091202>
- Taga, M. S., Miller, E. E., & Pratt, D. E. (1984). Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(5), 928–931. <https://doi.org/10.1007/BF02542169>
- Takada, M., Nishida, K., Kataoka-Kato, A., Gondo, Y., Ishikawa, H., Suda, K., Kawai, M., Hoshi, R., Watanabe, O., Igarashi, T., Kuwano, Y., Miyazaki, K., & Rokutan, K. (2016). Probiotic *Lactobacillus casei* strain Shirota relieves stress-associated symptoms by modulating the gut–brain interaction in human and animal models. *Neurogastroenterology and Motility*, 28(7), 1027–1036. <https://doi.org/10.1111/nmo.12804>
- Tamer, C. E. (2004). *Meyveli ve meyve aromalı boza üretiminin araştırılması*. [Doktora Tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi].
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Tang, Y., Li, X., Zhang, B., Chen, P. X., Liu, R., & Tsao, R. (2015). Characterisation of phenolics, betanins and antioxidant activities in seeds of three *Chenopodium quinoa* Willd. genotypes. *Food Chemistry*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.018>
- Taylor, J. R., & Duodu, K. G. (2015). Effects of processing sorghum and millets on their phenolic phytochemicals and the implications of this to the health-enhancing properties of sorghum and millet food and beverage products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(2), 225–237. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6713>
- Teneva, D., Denkova, R., Goranov, B., Denkova, Z., & Kostov, G. (2017). Antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* strains against *Salmonella* pathogens. *Ukrainian Food Journal*, 6(1). <https://doi.org/10.24263/2304-974x-2017-6-1-14>
- Tette, F. M., Kwofie, S. K., & Wilson, M. D. (2022). Therapeutic Anti-Depressant Potential of Microbial GABA Produced by *Lactobacillus rhamnosus* Strains for GABAergic Signaling Restoration and Inhibition of Addiction-Induced HPA Axis Hyperactivity. *Current Issues in Molecular Biology*, 44(4), 1434–1451. <https://doi.org/10.3390/cimb44040096>

Teuber, M., Meile, L., & Schwarz, F. (1999). Acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria from food. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 76(1–4), 115–137. <https://doi.org/10.1023/A:1002035622988>

Thakur, A. K., & Tariq, U. (2019). Therapeutic Potential and Recent Development of Psychobiotics for the Management of Brain Disorders. *Trends in Applied Sciences Research*, 14(2), 70–79. <https://doi.org/10.3923/tasr.2019.70.79>

Tillisch, K., Labus, J., Kilpatrick, L., Jiang, Z., Stains, J., Ebrat, B., Guyonnet, D., Legrain-Raspaud, S., Trotin, B., Naliboff, B., & Mayer, E. A. (2013). Consumption of fermented milk product with probiotic modulates brain activity. *Gastroenterology*, 144(7), 1394–1401.e4. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.02.043>

Timilsena, Y. P., Vongsvivut, J., Adhikari, R., & Adhikari, B. (2017). Physicochemical and thermal characteristics of Australian chia seed oil. *Food Chemistry*, 228, 394–402. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.021>

Todorov, S. D., Botes, M., Guigas, C., Schillinger, U., Wiid, I., Wachsman, M. B., Holzapfel, W. H., & Dicks, L. M. T. (2008). Boza, a natural source of probiotic lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 104(2), 465–477. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03558.x>

Todorov, Svetoslav D., & Dicks, L. M. T. (2005). Pediocin ST18, an anti-listerial bacteriocin produced by *Pediococcus pentosaceus* ST18 isolated from boza, a traditional cereal beverage from Bulgaria. *Process Biochemistry*, 40(1), 365–370. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.01.011>

Todorov, Svetoslav D., & Dicks, L. M. T. (2007). Bacteriocin production by *Lactobacillus pentosus* ST712BZ isolated from boza. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38(1), 166–172. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822007000100034>

Ton, A. M. M., Campagnaro, B. P., Alves, G. A., Aires, R., Côco, L. Z., Arpini, C. M., Guerra E Oliveira, T., Campos-Toimil, M., Meyrelles, S. S., Pereira, T. M. C., & Vasquez, E. C. (2020). Oxidative Stress and Dementia in Alzheimer's Patients: Effects of Synbiotic Supplementation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/2638703>

Torino, M. I., de Valdez, G. F., & Mozzi, F. (2015). Biopolymers from lactic acid bacteria. Novel applications in foods and beverages. *Frontiers in Microbiology*, 6(JUL), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00834>

Tortum, M. Y. (2018). *Trakya Bölgesinde Üretilen Bozalardan Laktik Asit Bakterileri ve Mayaların İzolasyonu ve PZR Yöntemi ile Tanımlanması* [Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi].

Tsai, J. S., Lin, Y. S., Pan, B. S., & Chen, T. J. (2006). Antihypertensive peptides and  $\gamma$ -

aminobutyric acid from prozyme 6 facilitated lactic acid bacteria fermentation of soymilk. *Process Biochemistry*, 41(6), 1282–1288. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.12.026>

TSE 9778 Boza Standardı. T.S. 9778. Türk Standartları Enstitüsü, Necatibey Cad.112,Ankara. 6 s.

Tuncer, Y., Özden, B., & Avşaroğlu, M. D. (2008). Bozanın Bazı Mikrobiyolojik Özelliklerinin ve Laktik Asit Bakterisi İzolatlarının Antibakteriyel Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12(1), 19–25. <https://doi.org/10.19113/sdufbed.20996>

Ucak, S., Yurt, M. N. Z., Tasbasi, B. B., Acar, E. E., Altunbas, O., Soyucok, A., Aydın, A., Ozalp, V. C., & Sudagidan, M. (2022). Identification of bacterial communities of fermented cereal beverage Boza by metagenomic analysis. *LWT Food Science and Technology*, 153, 112465. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112465>

Ullah, R., Nadeem, M., Khaliq, A., Imran, M., Mehmood, S., Javid, A., & Hussain, J. (2016). Nutritional and therapeutic perspectives of Chia (*Salvia hispanica* L.): a review. *Journal of Food Science and Technology*, 53(4), 1750–1758. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1967-0>

Ulus, G., & Koca, Y. O. (2023). Mısır (*Zea mays* L.) Çeşitlerinin Menemen Koşullarında Verim ve Kalitesinin Belirlenmesi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 13(3), 2251–2263. <https://doi.org/10.21597/jist.1282549>

Uylaşer, V., Korukluoglu, M., Gocmen, D., Sahin, I. (1998). Bursa’da Satışa Sunulan Bozaların Bileşimi ve Kalitelerinin Araştırılması, Gıda Mühendisliği Kongresi, Gaziantep, Türkiye, 337.

Uysal, Ü. D., Öncü, E. M., Berikten, D., Yilmaz, N., Tuncel, N. B., Kivanc, M., & Tuncel, M. (2009). Time and temperature dependent microbiological and mycotoxin (ochratoxin-A) levels in boza. *International Journal of Food Microbiology*, 130(1), 43–48. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.12.032>

Valenzuela, J. A., Flórez, A. B., Vázquez, L., Vasek, O. M., & Mayo, B. (2019). Production of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) by lactic acid bacteria strains isolated from traditional, starter-free dairy products made of raw milk. *Beneficial Microbes*, 10(5), 579–587. <https://doi.org/10.3920/BM2018.0176>

Valledor, S. J. D., Bucheli, J. E. V., Holzapfel, W. H., & Todorov, S. D. (2020). Exploring beneficial properties of the bacteriocinogenic *Enterococcus faecium* ST10BZ strain isolated from Boza, a Bulgarian cereal-based beverage. *Microorganisms*, 8(10), 1–23. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101474>

Vega-Gálvez, A., Miranda, M., Vergara, J., Uribe, E., Puente, L., & Martínez, E. A. (2010). Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.),

an ancient Andean grain: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(15), 2541–2547. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4158>

Vuksan, V., Jenkins, A. L., Dias, A. G., Lee, A. S., Jovanovski, E., Rogovik, A. L., & Hanna, A. (2010). Reduction in postprandial glucose excursion and prolongation of satiety: Possible explanation of the long-term effects of whole grain Salba (*Salvia hispanica* L.). *European Journal of Clinical Nutrition*, 64(4), 436–438. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2009.159>

Waldherr, F. W., Doll, V. M., Meißner, D., & Vogel, R. F. (2010). Identification and characterization of a glucan-producing enzyme from *Lactobacillus hilgardii* TMW 1.828 involved in granule formation of water kefir. *Food Microbiology*, 27(5), 672–678. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.03.013>

Wall, R., Cryan, J. F., Paul Ross, R., Fitzgerald, G. F., Dinan, T. G., & Stanton, C. (2014). Bacterial neuroactive compounds produced by psychobiotics. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 817, 221–239. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0897-4\\_10](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0897-4_10)

Watson, R. R., & Zibadi, S. (2013). Bioactive Dietary Factors and Plant Extracts in Dermatology. *Bioactive Dietary Factors and Plant Extracts in Dermatology*. <https://doi.org/10.1007/978-1-62703-167-7>

Wiedemair, V., Scholl-Bürgi, S., Karall, D., & Huck, C. W. (2020). Amino Acid Profiles and Compositions of Different Cultivars of *Panicum miliaceum* L. *Chromatographia*, 83(7), 829–837. <https://doi.org/10.1007/s10337-020-03899-8>

Wolter, A., Hager, A. S., Zannini, E., Galle, S., Gänzle, M. G., Waters, D. M., & Arendt, E. K. (2014). Evaluation of exopolysaccharide producing *Weissella cibaria* MG1 strain for the production of sourdough from various flours. *Food Microbiology*, 37, 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.06.009>

Wong, A., Ngu, D. Y. Saint, Dan, L. A., Ooi, A., & Lim, R. L. H. (2015). Detection of antibiotic resistance in probiotics of dietary supplements. *Nutrition Journal*, 14(1), 12–17. <https://doi.org/10.1186/s12937-015-0084-2>

Woraharn, S., Lailerd, N., Sivamaruthi, B. S., Wangcharoen, W., Sirisattha, S., & Chaiyasut, C. (2015). Screening and kinetics of glutaminase and glutamate decarboxylase producing lactic acid bacteria from fermented thai foods. *Food Science and Technology*, 34(4), 793–799. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.6519>

Woraharn, S., Lailerd, N., Sivamaruthi, B. S., Wangcharoen, W., Sirisattha, S., Peerajan, S., & Chaiyasut, C. (2016). Evaluation of factors that influence the L-glutamic and  $\gamma$ -aminobutyric acid production during *Hericium erinaceus* fermentation by lactic acid bacteria. *CYTA - Journal of Food*, 14(1), 47–54. <https://doi.org/10.1080/19476337.2015.1042525>

- Xiao, T., & Shah, N. P. (2021). Lactic acid produced by *Streptococcus thermophilus* activated glutamate decarboxylase (GadA) in *Lactobacillus brevis* NPS-QW 145 to improve  $\gamma$ -amino butyric acid production during soymilk fermentation. *Lwt*, 137(October 2020), 110474. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110474>
- Yalçinkaya, S., Başyigit Kılıç, G., Karahan Çakmakçı, A. G. (2019). The Importance of Gamma Aminobutyric Acid Produced by Lactic Acid Bacteria. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 7(8), 1094–1099.
- Yamatsu, A., Yamashita, Y., Maru, I., Yang, J., Tatsuzaki, J., & Kim, M. (2015). The Improvement of Sleep by Oral Intake of GABA and *Apocynum venetum* Leaf Extract Atsushi. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 61, 182–187.
- Yang, S. Y., Lu, Z. X., Lü, F. X., Bie, X. M., Sun, L. J., & Zeng, X. X. (2006). A simple method for rapid screening of bacteria with glutamate decarboxylase activities. *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, 14(3), 291–298. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4581.2006.00054.x>
- Yeğin, S., & Üren, A. (2008). Biogenic amine content of boza: A traditional cereal-based, fermented Turkish beverage. *Food Chemistry*, 111(4), 983–987. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.020>
- Yelin, I., & Kishony, R. (2018). Antibiotic Resistance. *Cell*, 172(5), 1136–1136. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.02.018>
- Yogeswara, I. B. A., Kittibunchakul, S., Rahayu, E. S., Domig, K. J., Haltrich, D., & Nguyen, T. H. (2021). Microbial production and enzymatic biosynthesis of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) using *Lactobacillus plantarum* FNCC 260 isolated from indonesian fermented foods. *Processes*, 9(1), 1–17. <https://doi.org/10.3390/pr9010022>
- Yunes, R. A., Poluektova, E. U., Dyachkova, M. S., Klimina, K. M., Kovtun, A. S., Averina, O. V., Orlova, V. S., & Danilenko, V. N. (2016). GABA production and structure of gadB/gadC genes in *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains from human microbiota. *Anaerobe*, 42, 197–204. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.10.011>
- Yurt, M., & Gezer, C. (2018). Chia tohumunun (*Salvia hispanica*) fonksiyonel özellikleri ve sağlık üzerine etkileri. *Gıda*, 43(3), 446–460. <https://doi.org/10.153237/gida.GD17093>
- Zagórska, A., Marcinkowska, M., Jamrozik, M., Wiśniowska, B., & Paśko, P. (2020). From probiotics to psychobiotics - The gut-brain axis in psychiatric disorders. *Beneficial Microbes*, 11(8), 717–732. <https://doi.org/10.3920/BM2020.0063>
- Zhang, L., Yue, Y., Wang, X., Dai, W., Piao, C., & Yu, H. (2022). Optimization of fermentation for  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) production by yeast *Kluyveromyces marxianus* C21 in okara (soybean residue). *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 45(7), 1111–1123. <https://doi.org/10.1007/s00449-022-02702-2>

Zhang, Q., Sun, Q., Tan, X., Zhang, S., Zeng, L., Tang, J., & Xiang, W. (2020). Characterization of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA)-producing *Saccharomyces cerevisiae* and coculture with *Lactobacillus plantarum* for mulberry beverage brewing. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 129(4), 447–453. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2019.10.001>

Zheng, M., Zhang, R., Tian, X., Zhou, X., Pan, X., & Wong, A. (2017). Assessing the risk of probiotic dietary supplements in the context of antibiotic resistance. *Frontiers in Microbiology*, 8(MAY), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00908>

Zorba, M., Hancioglu, O., Genc, M., Karapinar, M., & Ova, G. (2003). The use of starter cultures in the fermentation of boza, a traditional Turkish beverage. *Process Biochemistry*, 38(10), 1405–1411. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00033-5](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00033-5)

