



**T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MARAŞ ET SUCUĞUNDA EKZOPOLİSAKKARİT REten MİKROORGANİZMALARIN TESPİTİ

ZEYNEP KURT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2019

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MARAŞ ET SUCUĞUNDA EKZOPOLİSAKKARİT
ÜRETEN MİKROORGANİZMALARIN TESPİTİ**

ZEYNEP KURT

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

KAHRAMANMARAŞ 2019

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Zeynep KURT tarafından hazırlanan “Maraş Et Sucuğunda Ekzopolisakkarit Üreten Mikroorganizmaların Tespiti” adlı bu tez jürimiz tarafından 23/12/2019 tarihinde oy birliği ile Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans olarak kabul edilmiştir.

Ünvan, Ad ve Soyad (DANIŞMAN) Prof. Dr. Özlem TURGAY
Anabilim Dalı, Üniversite Adı Gıda Mühendisliği /KSÜ

Ünvan, Ad ve Soyad (ÜYE) Dr. Öğr. Üyesi İnci DOĞAN
Gıda Mühendisliği /KSÜ

Ünvan, Ad ve Soyad (ÜYE) Prof. Dr. A. Coşkun DALGIÇ
Gıda Mühendisliği /GAÜN

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Mustafa YAZICI



TEZ BİLDİRİMİ

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

ZEYNEP KURT



Bu çalışma KSÜ Bilimsel Araştırma Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2019/4-9 YLS

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bilgilerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

**MARAŞ ET SUCUĞUNDA EKZOPOLİSAKKARİT ÜRETen
MİKROORGANİZMALARIN TESPİTİ
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

ZEYNEP KURT

ÖZET

Günümüzde fermente gıda üretiminde ekzopolisakkarit (EPS) üreten laktik asit bakterileri (LAB) önem kazanmıştır. EPS laktik asit bakterilerinin fermantasyon sonucu oluşturdıkları polisakkarit yapıda bir maddedir. EPS'ler prebiyotik özellik gösterdikleri gibi, gıda endüstrisinde jelleştirici, emülsifiye edici, stabilizatör olarak kullanılmaktadırlar. Ayrıca sağlık üzerinde de sindirimi kolaylaştırma, kolesterolü düşürme gibi olumlu etkileri vardır. Genel olarak güvenilir kabul edilen (GRAS) özellikte olmaları da ekzopolisakkaritlerin önemini artırmaktadır. Laktik asit bakterileri birçok fermente ürün gibi fermente sucuklarda da hakim flora olarak görülmektedirler. Bu projede amaç, fermente sucuk üretiminde hakim flora olan laktik asit bakterilerinden EPS üreten bakterileri türlerinin tespit edilmesidir. Bu amaçla Kahramanmaraş piyasasındaki kasaplarda üretilen 10 farklı kasaptan elde edilen sucuk örneklerinden LAB izole edilmiş ve izole edilen laktik asit bakterilerinin ürettikleri ekzopolisakkarit miktarı fenol sülfürik asit yöntemi ile belirlenmiştir. Daha sonra izole edilen bakterilerin karakterizasyonu PCR ile yapılmıştır. Sonuç olarak 10 farklı kasaptan temin edilen sucukların EPS üretimleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,01$). Bu sucuklardan izole edilen toplam 56 suşun ürettiği EPS miktarının 20,19 ile 109,10 ppm arasında değiştiği tespit edilmiştir. Kullanılan örnekler içerisinde hem en düşük hem de en yüksek EPS üreten suşun *L. plantarum* olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Laktik asit bakterileri, ekzopolisakkarit, sucuk, *Lactobacillus plantarum*

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Fen Bilimler Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Aralık/2019

Danışman: Prof. Dr. Özlem TURGAY

Sayfa Sayısı: 48

**DETERMINATION OF EXOPOLYSACCHARIDE PRODUCING
MICROORGANISMS IN MARAS MEAT SAUSAGES
(M.Sc. THESIS)**

ZEYNEP KURT

ABSTRACT

Nowadays in production of fermented foods lactic acid bacteria (LAB) which produce exopolysaccharide gains importance. Exopolysaccharides (EPS) are polysaccharides that synthesize extracellular. These polysaccharides have prebiotic characteristic, also in food industry they used as gelling agent, emulsifier, and stabilizer. Furthermore they have positive effect on health because of digestive, cholesterol lowering property. Also they have generally recognized as safe (GRAS) property, for this reason their importance is rising. EPS are one of the products that produced as result of fermentation of lactic acid bacteria. In fermented sucuk, lactic acid bacteria are dominant flora. The aim of this thesis was the determination of lactic acid bacteria that produced exopolysaccharide in fermented sucuk which were dominant flora in that product. For this purpose; LAB isolated from fermented sucuks which were obtained from 10 different butchers that were located in Kahramanmaraş. Phenol-sulphuric acid method was used for determination of amount of produced EPS. After that; characterization of LAB was made with PCR. As a result; significant difference was determined between amount of produced EPS from 10 sausages that obtained from different butchers ($P<0.01$). It was detected that; the amount of EPS which obtained from 56 strains was between 20.19-109.10 ppm. Also it was detected that both of highest and lowest EPS producer strain was *L. plantarum*.

Keywords: Lactic acid bacteria, exopolysaccharide, sausage, *Lactobacillus plantarum*

Kahramanmaraş Sütçü ImamUniversity
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering, December/2019

Advisor: Prof. Dr. Özlem TURGAY

Number of pages: 48

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam ve yüksek lisans eğitimim boyunca beni destekleyen, yüreklendiren, sabır gösteren, tecrübelerinden faydalanmamı sağlayan, fikir ve görüşleriyle yoluma ışık tutan çok kıymetli hocam sayın Prof. Dr. Özlem TURGAY'a,

Tez çalışmam ve laboratuvar çalışmalarım süresince her türlü yardımda bulunan, bilgi ve tecrübeleriyle tezime katkıda bulunan değerli hocam Arş. Gör. Elif ÇELİK'e,

Yüksek lisans eğitimim boyunca maddi ve manevi desteklerini hissettiğim, bana kendi evlatları gibi davranan çok kıymetli Zekiye YAHŞI ve ailesine,

Kendi uzmanlık alanları çok farklı olmasına rağmen tıkaandığım her konuda fikirleriyle beni aydınlatan, moralim bozulduğu zamanlarda her zaman motive edip devam etmem için bana destek veren, hayatıma dokunan çok kıymetli ablam, dostum Mine KURT'a ve Fulya YANAR'a,

Son olarak; beni yüreklendiren, her zaman arkamda olan, eğitimimi maddi manevi her konuda destekleyen, babam Ökkeş KURT'a, abim Ekrem KURT ve eşi Sevilay ÇIRAK KURT'a ve özellikle annem Firdevs KURT'a, sonsuz teşekkürler.

Zeynep KURT

Aralık/2019

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR TARAMASI	5
2.1. Sucuk	5
2.2. Laktik Asit Bakterileri	6
2.3. Ekzopolisakkaritler	8
2.3.1. LABnin ekzopolisakkarit üretme yetenekleri	12
2.3.2. Ekzopolisakkaritlerin gıda endüstrisindeki kullanımları...	13
3. MATERYAL ve METOT	20
3.1. Materyal	20
3.1.1. Sucuk örnekleri	20
3.1.2. Kullanılan cihazlar	20
3.1.3. Kullanılan kimyasallar ve besiyerleri	20
3.1.3.1. Kullanılan çözeltiler	20
3.2. Metot	20
3.2.1. LAB'nin izolasyonu	20
3.2.2. EPS tayini	21
3.2.3. Kültür stoklarının oluşturulması	22
3.2.4. PCR ile tanımlama yapılması	22
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	25

5. SONUÇ VE ÖNERİLER	35
KAYNAKLAR	37
ÖZGEÇMİŞ	48



SİMGELER VE KISALTMALAR

BLAST	:Basic Local Alignment Search Tool
CPS	:Kapsüler Polisakkarit
DNA	:Deoksiribonükleik Asit
dNTP	:Dinükleotit Trifosfat
EPS	:Ekzopolisakkarit
FTS	:Fizyolojik Tuzlu Su
GRAS	:Genel Olarak Güvenilir Kabul Edilen (Generally Recognized as Safe)
HePS	:Heteropolisakkaritler
HoPS	:Homopolisakkaritler
LAB	:Laktik Asit Bakterileri
MRS	:de Man Rogosa Sharpe
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
nm	:Nanometre
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
TCA	:Trikloroasetik Asit
TSE	:Türk Standartları Enstitüsü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Homopolisakkarit ve heteropolisakkaritlerin molekül yapıları.....	9
Şekil 2.2.	Dekstranın kimyasal yapısı.....	10
Şekil 2.3.	Ksantanın kimyasal yapısı.....	10
Şekil 3.1.	Glikoz standart eğrisi.....	22
Şekil 4.1.	Jel elektroforez görüntüsü.....	29



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	Ekzopolisakkarit üretebilen laktik asit bakterileri.....	8
Çizelge 2.2.	Gıdada kullanılan ekzopolisakkaritlerin uygulama alanları.....	11
Çizelge 3.1.	Bakteri DNA'sının amplifikasyonun gerçekleştirildiği reaksiyon karışımı.....	23
Çizelge 3.2.	Bakteri DNA'sının amplifikasyonun gerçekleştirildiği PCR koşulları...	23
Çizelge 3.3.	BigDye Sekans PCR'ı.....	24
Çizelge 4.1.	Elde edilen izolatların EPS üretim miktarı.....	26
Çizelge 4.2.	Sucuklardan elde edilen suş sayıları ve EPS miktarları.....	28
Çizelge 4.3.	PCR tanımlama sonucu ve EPS üretim miktarları.....	30
Çizelge 4.4.	<i>Lactobacillus plantarum</i> suşunun farklı kasaplardan elde edilen sucuklardaki ortalama EPS üretimi (ppm).....	32

1.GİRİŞ

Et ve et ürünlerinin insanların beslenmesinde elzem olan proteini içermesi sebebiyle önemli bir yeri vardır. Besleyiciliğinin yanında Türk insanının damak tadına uygun olması da önemini artırmaktadır. Ülkemizde etin yanı sıra et ürünleri de oldukça rağbet görmektedir. Tüketici tarafından en çok tercih edilen et ürünlerinin başında ise sucuk gelmektedir. Sucuğun yüksek oranda tercih edilmesi damak tadına uygunluğunun yanında fermente bir ürün olmasından dolayı içerdiği faydalı mikroorganizmaların fonksiyonel özelliklerinden de ileri gelmektedir. Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği'nde (Tebliğ No:2012/74) fermente sucuk "Büyükbaş ve küçükbaş hayvan etlerinin ve yağlarının kıyılarak lezzet vericiler ile karıştırıldıktan sonra doğal veya yapay kılıflara doldurularak belirli koşullarda fermentasyon ve kurutma işlemleri uygulanarak nem oranı %40 ve altına düşürülmüş, kesit yüzeyi mozaik görünümünde olan ısıtılmış işlem uygulanmamış fermente et ürünüdür" şeklinde tanımlanmıştır (Anonymous, 2012). Fermente sucuk saf kültür ilavesiyle üretilebildiği gibi yapısında doğal olarak bulunan mikroorganizmaların faaliyeti ile de üretilebilir. Ticari olarak üretilen sucuklarda genellikle suş eklenerek üretim yapılır. Geleneksel yöntemde ise genellikle ürünün kendi yapısında bulunan suşların aktifliği söz konusudur ve bu sebeple üretimlerinde yöresel farklılıklar olmaktadır. Ticari olarak yapılan üretim her ne kadar hızlı ve ekonomik olsa da ürünün duyu özellikleri geleneksel yöntemlerle üretilen sucuk kadar kabul görmemektedir. Bu bağlamda Kahramanmaraş kasaplarında üretilen et sucukları da Türk Patent ve Marka Kurumu tarafından "Maraş Et Sucuğu" olarak 2019'dan başlamak üzere 10 yıl süreyle tescillenmiştir.

Fermente sucukların kendine has aroması, tadı, rengi, lezzeti ve tekstürel özellikleri fermentasyon sırasında faaliyet gösteren mikroorganizmalardan ileri gelmektedir. Sucuk fermentasyonunda öne çıkan mikroorganizma grupları laktobasiller, stafilkoklar, mikrokoklar, küf ve mayalardır (Leroy ve ark., 2006). Daha spesifik olarak ise sucuk fermentasyonunda baskın floranın laktik asit bakterileri olduğu (*Lactobacillus plantarum*, *L. curvatus*, *L. petosus*, *L. fermentum*, *L. brevis*, *Pediococcus pentosaceus*, *P. acidilactici*, *L. agilis*, *L. carnis*), özellikle dominant türlerin ise *L. sakei* ve *L. curvatus* türleri olduğu bilinmektedir (Evren ve ark., 2011; Erten ve ark., 2014). *L. plantarum* doğada değişik alanlarda dağılmış olarak bulunan fakültatif heterofermantatif bir laktik asit bakterisidir (Siezen ve ark., 2010). Laktobasillerin yaklaşık 30 türü EPS üreticisi olarak tanımlanmaktadır. Bunlar arasında en iyi bilinenleri; *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. curvatus*, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *L.*

johnsonii'dir (Badel ve ark., 2011). Laktik asit bakterileri fermente ürünlerin çoğunda fermantastonu yöneten bakteriler olarak rol almaktadır. Bazı gıdalarda doğal olarak bulunsa da bazı gıdalarda bulunmamasından veya var olanın yetersiz kalmasından dolayı starter kültür olarak ayrıca eklendiği de görülmektedir. Laktik asit bakterileri fermantasyon sırasında oluşturduğu son ürünlerle üründe birçok olumlu özelliğin oluşmasına yardımcı olur ve bu da ürünün tercih edilirliliğini artırır. Laktik asit, asetik asit, etanol, aromalı bileşikler, bakteriyosin, ekzopolisakkarit ve çeşitli enzimlerin laktik asit bakterileri tarafından fermantasyon sırasında oluşturulması sonucunda raf ömrü, mikrobiyel güvenlik, yapı ve duyuşal özellikler dikkate değeri oranda geliştirilmektedir. Oksijensiz ortam oluşturulması ve asitliğin yükselmesiyle istenmeyen mikroorganizmaların gelişimi de engellenmektedir (Blagojev ve ark, 2012).

Laktik asit bakterilerinin ürettiği metabolitlerin gıda endüstrisi için en önemli olanlarından biri de ekzopolisakkaritlerdir (EPS). Ekzopolisakkaritler en basit tanımlamayla mikroorganizmalar tarafından hücre dışına sentezlenen polisakkaritlerdir. Sentezlendikten sonra hücre duvarının dışına tutunan ekzopolisakkaritlere kapsüler ekzopolisakkarit, ortamda serbest halde bulunanlara ise mukoz ekzopolisakkarit denir (Ai ve ark, 2016). Ekzopolisakkaritler, homopolisakkarit (HoPS) ve heteropolisakkarit (HePS) olmak üzere iki grup şeklinde sınıflandırılmaktadırlar (Sanalibaba ve Cakmak, 2016). Homopolisakkaritler sadece bir tür monosakkarit içerirken heteropolisakkaritler tekrarlayan birimlerden oluşmaktadır.

Ekzopolisakkaritler fermente gıdalarda endüstriyel olarak teknolojik ve sağlık açısından birçok öneme sahiptir. Hayvanlardan, bitkilerden ve mantarlardan elde edilen polisakkaritler hakkında birçok çalışma olmasına rağmen günümüzde en büyük ilgiyi mikrobiyel EPS'ler görmektedir. Bu ilgi mikrobiyel polisakkaritlerin bitki ve hayvan kaynaklı polisakkaritlere göre daha kısa sürede elde edilemelerinin etkisi bulunmaktadır. Son ürünün kalite özelliklerinin artmasını ve yüksek verimli olmasını sağlamalarından, çok düşük konsantrasyonlarda kullanıldıklarında bile vizkoz çözelti oluşturmalarından ve psödoplastik bir yapıya sahip olmalarından dolayı da önemleri artmaktadır. Mikroorganizmaların birkaç gün içinde ürettiği EPS miktarı, bitkiler tarafından 3-6 ay gibi bir sürede üretilebilir. Ayrıca bitkisel üretim mevsimsel ve coğrafi koşullardan da fazlasıyla etkilenmektedir (Donot ve ark, 2012; Öner, 2013). Ayrıca LAB'lerin çeşit ve miktar yönünden en iyi EPS üreticileri olduğu bilinmektedir. (Soyuçok ve ark., 2016; Yılmaz 2018).

Üretim maliyetlerinin yüksek olmasından dolayı birçok mikrobiyel EPS çeşidi bulunmasına karşın ticari olarak az sayıda mikrobiyel EPS çeşidi kullanılmaktadır (Ateş, 2015). Endüstride mikroorganizmalardan elde edilen en önemli EPS'ler ksantan zatk ve gellan zatk'dır (Freitas ve ark., 2011; Prajapati ve ark., 2013). Laktik asit bakterilerinden gelen EPS'nin kıvam verici, tekstür düzenleyici, prebiyotik olması nedeniyle sağlığa faydalı olması, üretiminin kolay maliyeti düşürücü etkisi olması ve en önemlisi 'GRAS' statüsünde olmasıdır (Wang ve ark., 2014; Yılmaz ve ark., 2014).

EPS'ler viskoziteyi arttırıcı, yapıyı düzenleyici ve su bağlayıcı gibi fonksiyonel özelliklere sahip olmaları nedeniyle özellikle süt ürünlerinde ticari stabilizatörlerin yerine doğal kaynaklı bir alternatif olarak kullanılabilir. Üretilen ekzopolisakkaritler oldukça düşük konsantrasyonlarda olsalar dahi yapıyı geliştirici etki gösterdikleri belirlenmiştir. Bu nedenle bazı fermente süt ürünlerinin üretiminde ekzopolisakkarit üreten bakterilerin kullanılmasına önem verilmektedir. Böylece hiçbir ticari katkı maddesi kullanılmadan, doğal yollarla elde edilen ve son ürünün tekstürel özelliğini arzu edilen şekilde geliştiren metabolitlerle tüketici memnuniyetini sağlamak mümkün olabilmektedir (Soyuçok ve ark., 2016).

Ekzopolisakkaritlerin sentezi yoğurt, peynir, kefir, fermente sucuk, fermente *Polyporus umbellatus* mantarı gibi ürünlerin fermantasyon aşamasında gerçekleşir. Sentezlenen ekzopolisakkaritler ile tereyağı, kaymak, yoğurt, ayran gibi süt ürünleri başta olmak üzere, kek, ekmek, sucuk gibi ürünlerin kalite özelliklerinin geliştirilmesi üzerine çalışmalar yapılmış ve ekzopolisakkarit üreten suşların bu ürünlerde kalite özellikleri üzerinde olumlu etkileri olduğu belirlenmiştir.

Son yıllarda tüketicilerin işlenmiş ürünler yerine doğal kaynaklı gıdaları tercih etmeleri nedeniyle üreticiler doğal ürünler üretmeye yönelmektedirler. Bu sebeple hem fonksiyonel özellikleri fazla olan hem de sağlığa faydalı ve doğal yollarla elde edilen bu tür geliştiriciler endüstride büyük önem taşımaktadır.

Kahramanmaraş piyasasında üretilen sucuklarda yöresel farklılıklardan dolayı ekzopolisakkarit üretiminde de farklılıklar olup olmadığı bilinmemektedir. Bu çalışmada Maraş et sucuğundan laktik asit bakterilerinin izole edilerek EPS üretim potansiyellerinin araştırılması amaçlanmaktadır. Bu amaçla 10 farklı kasaptan Maraş et sucuğu örnekleri alınmış ve içerisindeki laktik asit bakterilerinin izolasyonu için MRS ve M17 besiyerlerine

nce yayma yöntemiyle ekim yaplm, oluan koloniler canlandırma besiyerlerinde canlandırlm ve saf koloniler elde etmek iin bu kez izme yöntemiyle ekim yaplmtır. Bu ekilde elde edilen saf kültürlerdeki EPS miktarını bulmak iin fenol-sülfürik asit metodu uygulanmtır. Daha sonra standart glikoz eērisi izilm ve kültürlerin ürettikleri EPS miktarları belirlenmitır. Son olarak ekzopolisakkarit üretme potansiyeli olan kültürlerin PCR yöntemi ile tanımlamaları yaplmtır.



2.LİTERATÜR TARAMASI

2.1.Sucuk

Et ve et ürünlerinin, içerdği besin maddeleri, kokusu, tadı ve aroması ile insan beslenmesi için elzem bir protein kaynağı olduğu bilinmektedir (Öztan, 2011). Et ve et ürünleri besin değeri yüksek; besin öğresi olarak: yüksek kalitede protein; mineral madde olarak: demir, çinko, fosfor, magnezyum; vitamin olarak B₁, B₆ ve B₁₂ vitaminlerini; yağ asidi olarak: omega 3, omega 6, konjüge linoleik ve elzem yağ asitleri gibi yağ asitlerini yeterli miktarda içermesi nedeniyle insan beslenmesinde önemli bir gıdadır (Demirok, 2010; Öztan, 2011). Et yüksek nem, azotlu besin ögeleri, mineral madde içeriği ve diğer gelişme faktörleri açısından mikroorganizmaların gelişmesi için oldukça uygun ortam sağlamakta ve bu nedenle kısa sürede bozulmaya eğilim göstermektedir (Tutar ve ark., 2014). Bu durum eski çağlardan beri etin uzun süre tüketilebilir halde kalması için soğutma ve dondurma gibi çeşitli yöntemlerin kullanılmasına sebep olmuştur. Daha sonraları ise bu yöntemler geliştirilmiş ete daha farklı tat ve aroma kazandırmak amacıyla yeni yollar denenmiştir. Böylece farklı tat ve koku, yapı, renk ve dış görünüşe sahip birçok et ürünü üretilmeye başlanmıştır (Gök, 2006; Sadullahoğlu, 2010). Sucuk da bu yolla elde edilmiş ve tüketiciler tarafından en çok tercih edilen et ürünlerinden biri olmuştur (Ünal ve Karakaya, 2017).

Sucuk eski zamanlardan beri bilinen, üretilen ve tüketilen önemli bir et ürünüdür (Turhan 2010; Pehlivanoglu ve ark., 2015). TSE 1070’de sucuk resmi veya özel kombina ya da mezbahanelerde kesilen, sağlıklı kasaplık büyükbaş hayvan gövde etleri ve/veya manda etlerinden hazırlanan sucuk hamurunun, doğal veya yapay kılıflara doldurulması ve bir süre bekletilerek olgunlaştırılmasıyla elde edilen et ürünü olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2016). Sucuk üretiminde starter kültür ayrıca eklenebildiği gibi etin yapısında doğal olarak kullanılan bakteriler de kullanılabilir. Türkiye’de geleneksel sucuk üretiminde, üreticiler starter kültür eklemeyen üretim yapmaktadır. Burada fermentasyon etin kendisinden ya da çevresinden kaynaklanan mikrobiyel toplulukların faaliyetlerine bağlı olarak gerçekleştirilir (Leroy ve ark., 2006). Geleneksel sucuk üretiminde izlenen yol: yaklaşık %18 yağ içeren etin iç veya kuyruk yağı, tuz, şeker, nitrit/nitrat, sarımsak, karabiber, kırmızıbiber, kimyon, tarçın ve zeytinyağı gibi bitkisel yağlar ve çeşitli baharatlarla karıştırılmasıyla bir hamur hazırlanır. Bu hamur doğal veya yapay kılıflara doldurularak belirli bir pH değerine ulaşmaya kadar fermentasyona ve kurumaya bırakılır (Kurt, 2006; Turhan, 2010).

Sucuk üretiminin en önemli aşaması fermantasyon kısmıdır. Fermantasyon kontrollü koşullarda uygun sıcaklık, nem ve hava akımı ile gerçekleştirilir. Bu sırada pH düşer ve bu sebeple su kaybı ve kuruma gerçekleşir (Cruxen ve ark., 2019). Fermente sucuk üretiminin olgunlaşma aşamasında mikroorganizma faaliyeti ve biyokimyasal değişiklikler meydana gelmekte ve bunların sonucunda arzu edilen fiziksel ve duyuşal özelliklere sahip son ürün elde edilmektedir (Gürbüz ve Güngör, 2018). Fermente et ürünlerinin fermantasyon ve olgunlaştırılma aşamalarında laktik asit bakterileri ile katalaz pozitif koklar teknolojik olarak önemli olduğu düşünölen iki bakteri grubudur (Kaban, 2007).

2.2. Laktik Asit Bakterileri

Laktik asit bakterileri (LAB) geniş bir yelpazeye sahip faydalı mikroorganizmalardır. Laktik asit bakterilerinin göröldükleri ortamlar bitkiler ve bitki artıkları, fermente gıdalar, insan ve hayvanların bağırsak mukozaları ve deniz canlıları olarak sıralanabilir (Barinov ve ark., 2011). LAB grubu genel olarak heksozlardan laktik asit üreten fermantasyon bakterileri olarak tanımlanır. Fermantasyon organik moleküllerin hem elektron verici hem de elektron alıcı olarak işlev görmesiyle enerji veren bir prosestir. Laktik asit bakterileri de hem fermantasyon yoluyla gıda muhafazasında maliyeti düşük bir yol olduğundan hem de fermantasyon sürecinde yüksek ısıya gerek duymadıklarından çok yaygın olarak kullanılmaktadırlar.

LAB gram pozitif, spor oluşturmayan, çubuk veya kok şeklinde, ana fermantasyon ürünü laktik asit olan bakterilerdir. Termofil ve mezofil özellik gösterirler. 10-45°C arası sıcaklıklarda, yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişme ve asit veya alkali ortamı tolere etme yeteneklerine sahiptir. Bu grubun üyeleri oksidatif fosforilasyon yapamadıklarından enerjiyi sadece substrat düzeyinde fosforilasyonla elde ederler. Tüm LAB anaerobiktir. Bununla beraber çoğu LAB oksijene duyarlı değildir ve oksijen varlığında da oksijen yokluğunda olduğu kadar iyi gelişirler. Bu nedenle aerotolerant anaerobiktirler. En önemli karakteristik özellikleri karbonhidratları fermente ederek ciddi oranda laktik asit üretmeleridir.

LAB, *Eubacteriales* takımının, *Streptococcaceae* ve *Lactobacillaceae* familyasında yer alır. *Aerococcus*, *Alliococcus*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Dolosigranulum*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Melissococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weissella* gibi cinslerin türleri bu grupta yer almaktadırlar (Yörük ve Güner, 2011). En önemli cinsleri

Lactococcus, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* *Pediococcus* ve laktik *Streptococcus* cinsleridir. Oluşturdukları ürünlere göre homoentatif ve heterofermantatif olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar. *Lactococcus*, *Pediococcus* ve laktik *Streptococcus* cinslerinin tüm türleri ve *Lactobacillus* cinsinin bazı türleri homofermentatiftir. Bunlar fermentasyon sonucunda ana ürün olarak laktik asit üretmektedirler. *Leuconostoc* cinsinin tüm türleri ve *Lactobacillus* cinsinin bazı türleri ise heterofermentatiftir. Bunlar fermentasyon sonucunda laktik asitle birlikte diğer organik asitleri, CO₂ ve diğer metabolitleri üretirler. Bu iki çeşit arasındaki farklılığın bazı enzimlerin varlığından veya yokluğundan kaynaklandığı tespit edilmiştir. Homofermentatifler enzim olarak aldolaz ve heksozizomeraz enzimine sahipken fosfoketolaz enzimine sahip değildirler. Şekeri fermente ederek laktik asit üretmek için (%70-90) glikoliz yaparlar. Heterofermentatifler ise fosfoketolaz enzimine sahiptirler fakat aldolaz ve heksozizomeraz enzimine sahip değildirler. Bu nedenle pentoz fosfat yolunu kullanarak şekeri fermente ederek laktik asit (%50) ve asetik asit, etanol ve CO₂ üretirler (Erkmen ve Bozoğlu, 2008).

LAB'in, geleneksel gıdalarda ve gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmalarının; duyuusal özellikleri ve besin değerlerinde olumlu değişiklikler meydana getirmekten başka, ürün muhafazası gibi sebepleri de vardır. LAB; asit oluşturmalarının yanında gıdalarda starter kültür olarak kullanıldıklarında tat, doku, besleyici değer gibi bazı ürün karakteristiklerine de katkıda bulunmaları gıda endüstrisindeki önemlerini artırmaktadır (Barinov ve ark., 2011). Bunun dışında prebiyotik kültür olarak da kullanılabilen LAB'leri FDA (Food and Drug Administration), GRAS (Generally Recognized as Safe, genellikle güvenli olarak tanımlanan) özellikte kabul etmişlerdir. (Turhan ve Enginkaya 2016). Ayrıca metabolit olarak bakteriyosinler, organik asitler, yağ asitleri, biyoaktif peptitler ve EPS gibi hücre duvarı bileşenleri üreterek sağlık açısından fayda sağlamaktadırlar. Bu metabolitler aromatik bileşikler olarak kullanılabildiği gibi gıdanın korunmasında da önemli bir rol oynamaktadırlar (Patel ve Prajapat, 2013). Doğal bir antimikrobiyel madde olan nisini, başta süt ürünleri olmak üzere birçok fermente gıdaya kendine has lezzeti veren aroma bileşenlerini ve pek çok özelliğe sahip EPS'leri üretebilme özelliğine sahiptirler. LAB tarafından üretilen EPS'ler, hem insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri hem de gıdaların yapısal ve tekstürel özelliklerini iyileştirmesi nedeniyle çok yönlü fonksiyona sahip mikrobiyel bir metabolittir (Taşdelen, 2018). Laktik asit bakterilerinin yaklaşık 30 türünün EPS üretimi yapabildiği bilinmektedir (Ateş, 2015).

2.3. Ekzopolisakkaritler

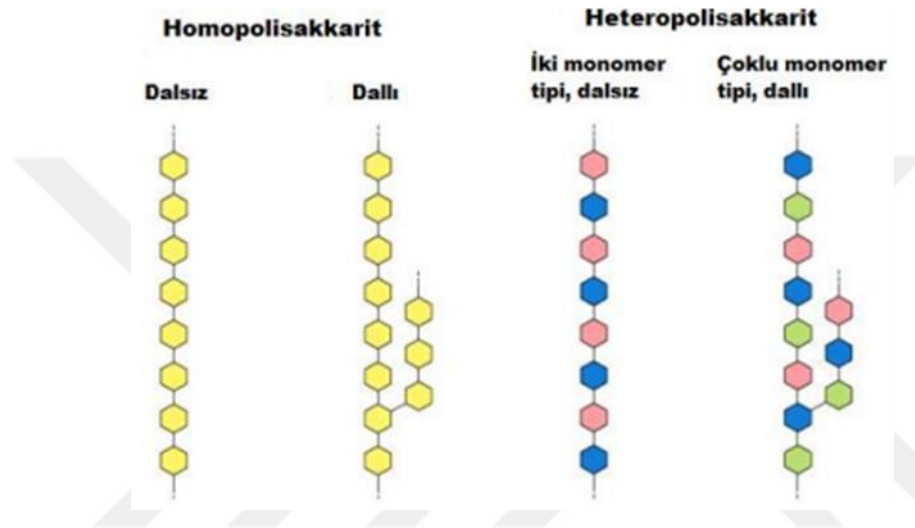
Polisakkaritler dünyada oldukça önemli bir yere sahip olan biyolojik polimerlerdendir (Ateş, 2015). Sutherland (1972) hücre duvarı dışında varolan bakteriyel polisakkaritleri ekzopolisakkarit (EPS) olarak adlandırarak bu terimin ortaya çıkmasını sağlamıştır (Cerning, 1995). Bakteriyel ekzopolisakkaritler ise 19. yüzyılın ortalarında şarapta ekzopolisakkarit varlığının tespit edilmesiyle keşfedilmiştir. Çalışmaların devamında burada tespit edilen ekzopolisakkaritin bir dekstran olduğunu, üretiminden sorumlu mikroorganizmanın da *Leuconostoc mezenteroides* olduğunu görmüşleridir. Daha sonra bulunan diğer ekzopolisakkaritler, selüloz, aljinat ve ksantandır (Nwodo ve ark., 2012). Leukonostoklar, streptokoklar, pediokoklar ve laktokoklar, laktobacillus laktik asit bakterileri ile propionobakterler, EPS üreten bakterilerin başında gelmektedir (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Ekzopolisakkarit üretebilen laktik asit bakterileri (Milci ve ark., 2005)

Lactobacillus Cinsi	Streptococcus Cinsi	Lactococcus Cinsi	Leuconostoc Cinsi
<i>L. hilgardii</i>	<i>S. mutans</i>	<i>L. lactis spp. lactis</i>	<i>L. mesenteroides spp. cremoris</i>
<i>L. casei</i>	<i>S. subrinus</i>	<i>L. lactis spp. cremoris</i>	<i>L. mesenteroides spp. mesenteroides</i>
<i>L. helveticus</i>	<i>S. salivarius spp. thermophilus</i>		
<i>L. delbrueckii spp. lactis</i>			
<i>L. delbrueckii spp. bulgaricus</i>			

EPS'ler, bakterinin hücre duvarı ile birleşmiş kapsüler formda (CPS) veya büyük miktarlarda yapışkan bir şekilde hücre duvarı dışında biriken ve kültür (ekstraselüler) ortamına yayılan bağımsız salgılar olarak üretilen yapılardır (Freitas ve ark., 2011; Donot ve ark., 2012). EPS'ler yapışkan yapılarından dolayı genellikle "slimy" (sümüksü, yapışkan) olarak adlandırılır (Badel ve ark., 2011). Hücre dışı polisakkaritler kapsüler polisakkaritler (CPS) veya mukoz (sümüksü) ekzopolisakkaritler (EPS) olarak ikiye ayrılırlar. CPS olarak tanımlananlar bakteriyel hücre yüzeyine ya sıkı sıkı tutunabilenlerdir. Mukoz EPS olarak tanımlananlar ise bakteriden tamamen kopan veya bakteriyel hücrelere gevşek bir şekilde bağlanabilen hücre dışında oluşan polisakkaritlerdir (Ai ve ark., 2016). EPS üretebilen çoğu bakteri suşu mukoz EPS üretir, fakat bazı LAB suşları CPS ve mukoz EPS üretebilmektedir

(Wang ve ark., 2014). Mikrobiyel EPSler, kimyasal yapılarına göre heteropolisakkarit ve homopolisakkarit olarak iki gruba ayrılırlar ve yapılarında büyük çeşitlilik gösterirler. Şekil 1.1.'de görülebileceği gibi Homopolisakkaritler (HoPS), farklı bağlantılarla tekrarlayan birim yapılarında aynı şeker alt birimlerinden oluşurlar. Bu gruba örnek olarak *Leuconostoc mesenteroides* verilebilir. Heteropolisakkaritler (HePS) ise birden fazla farklı şeker ünitesinden, dallanmış şekerlerden, başka organik ve inorganik moleküllerden oluşabilirler. *L. lactis subsp. lactis*, *Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* ve birçok LAB bu gruba örnek olarak verilebilir (Karaca ve ark., 2010; İspirli, 2016).

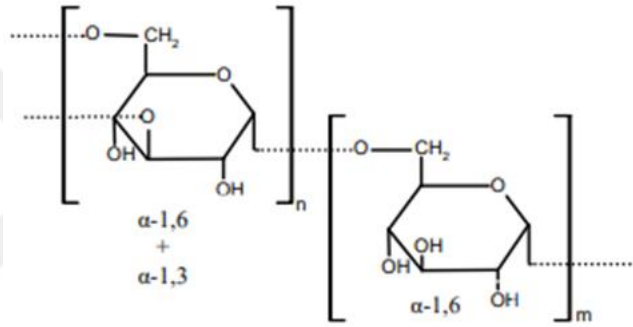


Şekil 2.1. Homopolisakkarit ve heteropolisakkaritlerin molekül yapıları (Karasu, 2019)

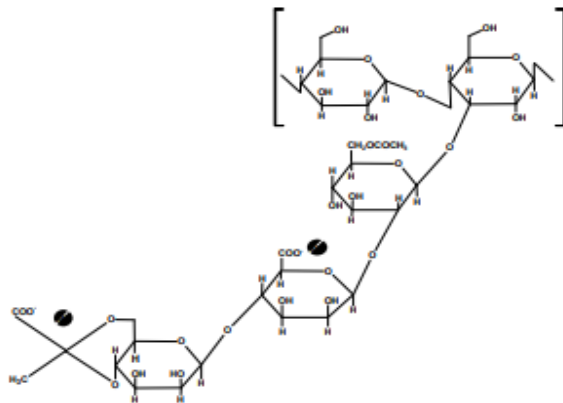
EPS'lerin fonksiyonel özelliklerinin çoğunun koruyucu doğalarından ileri geldiği düşünülmektedir. Mikroorganizmalar çevrelerini EPS tabakasıyla kaplar ve böylece kuruma ve tek hücreliler tarafından yenilme tehlikelerine karşı kendilerini korurlar (Kumar ve ark., 2007). Bakterileri, bakteriyel hücreler için kötü koşullar olan, sıcaklık, ışık yoğunluğu, pH veya ozmotik stres dahil olmak üzere biyotik ve abiyotik streslere karşı koruduğu düşünülen yapılardan biri ekzopolisakkaritlerdir. (Caggianiello ve ark., 2016). Ekzopolisakkaritlerin bu benzersiz fizyolojik özellikleri sağlık üzerine de pek çok farklı etkiye sahip olmalarını sağlamaktadır (Ayyash ve ark., 2018). Bazı LAB'lerin, özellikle de EPS üreticisi *Lactobacillus* cinsine ait üyelerin, gıdalarla alınmasının insan sağlığına faydalı olduğu belirtilmiş ve buna bağlı olarak bu türler 'yeterli miktarda tüketildiğinde konakçıya sağlık açısından yararları olan canlı mikroorganizmalar' şeklinde tasvir edilen prebiyotikler olarak bilinmektedirler (Bengoa ve ark., 2018). Bu bakterilerin gıdalarda kullanımının, bazı durumlarda ticari stabilizörlere ve yağ ikame maddelerine karşı bir alternatif oluşturabileceği görüşü de giderek kuvvet kazanmıştır (Shi ve ark., 2014). Ayrıca EPS'nin gıdaların doku ve

reolojisini geliştirmede önemli bir teknolojik rol oynadığı tespit edilmiştir (Torino ve ark., 2015).

LAB tarafından üretilen EPS'nin antioksidan aktivitesi, son yıllarda çalışmalara konu olan ve diyabetik, kardiyovasküler hastalıklar ve gastrointestinal ülser gibi hastalıkların önlenmesinde büyük rol oynayan önemli bir özelliktir (Kaushik ve ark., 2009). Gıdalarda aromayı geliştirmeleri, bakteriyofaj dirençliliği ve prebiyotik özellikleri gibi LAB'lerinin son derece önemli özelliklerinin yanı sıra son yıllarda hem gıdaların birçok özelliğini düzeltmesi hem de insan sağlığına olan faydalı etkileri sebebiyle LAB'leri tarafından üretilen Ekzopolisakkarit (EPS)'ler dikkat çekmektedir (Zehir, 2017). LAB tarafından üretilen bazı ekzopolisakkaritler; dekstran (şekil 2.2.), levan, inülin türleri, alternan, reuteran, alginat, ksantan (şekil 2.3.), jellan olarak sıralanabilir (Mıdık, 2011).



şekil 2.2. Dekstranın yapısı (Chung ve ark., 2014)



şekil 2.3. Ksantanın kimyasal yapısı (Donot ve ark., 2012)

Gıda endüstrisi açısından ekzopolisakkaritler vizkoziteyi artırıcı, stabilize ve emülsifiye edici özelliklerinden ötürü son derece önem arz etmektedirler (Kanmani ve ark., 2011). EPS'lerin gıda endüstrisinde birçok farklı uygulama alanı bulunmaktadır (Çizelge 2.2.).

Çizelge 2.2. Gıdada kullanılan ekzopolisakkaritlerin uygulama alanları (Yıldız, 2011)

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

EPS'lerin bulundukları ortamda istenilen viskoz yapıyı oluşturabilmeleri için ortam şartlarının optimum olmasına özen gösterilmelidir. Kanmani ve ark. (2011), bu konuda bir çalışma yapmış, *Streptococcus phocae* PI80 suşundan EPS üretimi için optimum kültür koşulları ve gerekli bileşenler üzerinde, EPS'lerin kimyasal niteliğini, antioksidan, antibiofilm aktivitesini ve işlevselliğini araştırmışlardır. İzole edilen EPS'nin %2 sinin değişik koşullarda yapılan viskozite analizleri sonucunda ortam sıcaklığının 45°C'den 25 °C'ye, pH'ı 6'dan 3'e düştükçe ve iyonik hal aldıkça EPS'lerin viskozitesinin arttığını belirlemişlerdir. Bunun gibi EPS üretim miktarının farklı pH, sıcaklık, inkübasyon süresiyle veya ortama eklenen bazı maddelerin etkisiyle değişmesi üzerine birçok çalışma olması EPS üretiminin bu koşullar ile değişkenlik gösterdiğinin kanıtıdır. Bu nedenle son yıllarda EPSlerin daha verimli şekilde üretilmesini sağlamak için; farklı gıdalarda EPS üretim koşullarının optimize edilmesi üzerine olan çalışmalar artmaktadır.

2.3.1. LAB'nin ekzopolisakkarit üretme yetenekleri

Yıldız (2019), yaptığı çalışmada daha önceden yoğurt örneklerinden izole edilmiş ve genetik olarak tanımlanmış 99 suşun starter kültür özelliklerini incelemiştir. Çalışmasında suşların farklı sıcaklık, pH, farklı tuz konsantrasyonlarında gelişime, asit oluşturma, arginin hidrolizi, glikozdan gaz üretme yeteneklerini ve EPS üretme kabiliyetlerini araştırmış ve yapılan deneyler kullanılan suşların %28,3'ünün EPS üretebilme yeteneğine sahip olduğunu ortaya koymuştur.

Khalil ve ark. (2017), Malezya'nın yerel marketlerinden elde ettikleri, Malezya'nın yöresel yiyecekleri olan Tempeh, Tapai, Budu ve yöresel turşularında EPS oluşturma yeteneği olan *Laktobasil* suşlarının prebiyotik özelliklerini araştırmışlardır. Bu gıdalardan EPS üretim kabiliyetlerine göre 6 farklı suş seçerek izole etmişler ve bunların *L. plantarum* ve *L. fermentum* türlerine ait olduklarını tespit etmişlerdir. Bu suşların düşük pH gibi olumsuz durumlara dayanabildiklerini tespit etmişler ve bu suşların EPS üretimi için iyi seçenekler olduğunu düşünmüşlerdir.

İspirli (2016), yaptığı çalışmada Erzincan ili merkezi ve köylerinden elde ettiği tulum peyniri örneklerindeki LAB türlerini izole ederek tanımlamıştır. Elde ettiği tulum peyniri örneklerinden izole edilen suşlar *Lactobacillus plantarum*, *L. paracasei*, *L. brevis*, *Weissella paramesenteroides*, *Lactococcus garvieae* ve *L. crustorum* suşları olmuştur. Yaptığı EPS üretim testleri sonucunda bu türlerde EPS üretim miktarının birbirine yakın olduğunu belirlemiştir. Ayrıca seçtiği bu türlerin EPS üretim kapasitelerinin farklı besiyeri ortamlarında değiştiğini gözlemlemiştir. Tulum peyniri izolatlarının ürettiği şeker gruplarını da belirlemek amacıyla türler pastörize süt ve %3 laktozlu MRS broth da geliştirmiş ve HPLC analizi sonucunda tulum peyniri izolatlarının sadece glukoz içeren EPS ürettiklerini tespit etmiştir. Bu sonuçlarla geleneksel olarak üretilen Erzincan Tulum peynirinin üretiminde rol alan türler için EPS üretiminin ne kadar önemli olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Pektaş (2014), yaptığı çalışmada süt ve süt ürünlerinden izole edilen 163 LAB' sinin ekzopolisakkarit üretme yeteneklerini tespit ederek seçilen izolatlarda optimum EPS üretimi için kültür koşullarını belirlenmeye çalışmıştır. İzolatların EPS üretimlerini mikrotitre plaka yöntemiyle ve kongo kırmızılı ortamda tespit etmiştir. Sonuçta izolatların optimum EPS üretim değerlerini optimum azot, karbon kaynakları ve sıcaklıkta cevap-yüzey metodu ile belirlemiş ve izolatların EPS değerlerini 46.65–53.17 ppm arasında bulmuştur.

Mıdık (2011), yaptığı araştırmada Ankara Üniversitesi'nden temin ettiği 154 LAB suşundan sünme özelliklerine dayanarak seçtiği 10 suşun EPS üretimlerini incelemiştir. Bu suşların, farklı fermantasyon koşullarında (pH (5.0, 6.0, 7.0), sıcaklık (20, 30 ve 37°C), inkübasyon süresi (48, 120, 192 saat), farklı bileşenlerden elde edilen besiyerlerinde geliştirilmelerinin EPS üretim miktarına etkisini incelemiştir. Bu amaçla üzerinde çalışılan LAB suşlarından 4 tanesinin yüksek EPS üretme kabiliyetine sahip olduklarını ortaya çıkarmıştır. EPS üretimi için en uygun değerlerin pH 6.0'da sıcaklık 30°C olduğunu belirtmiştir. Fakat en yüksek EPS üretimi için inkübasyon süresinin suşlara göre farklılık gösterdiğini tespit etmiştir. Besi ortamına glikoz ilave ettiğinde tüm suşların, laktoz ilave ettiğinde bazı suşların EPS üretimini desteklediğini; mineral ilavesinin ise önemli bir etkisinin olmadığını ortaya koymuştur.

2.3.2.Ekzopolisakkaritlerin gıda endüstrisindeki kullanımları

EPS'ler gıda endüstrisinde jelleştirici, emülgatör, stabilizatör, kıvam artırıcı, viskozite artırıcı madde, hidrokolloid olarak ticari olanlarının yerine kullanılabildiği, ayrıca ekmek hacminin, raf ömrünün, glutensiz tahıl ürünlerinin bayatlama süresinin uzatılmasında da kullanılabildiği yapılan birçok çalışmada görülmektedir. Literatürde yoğurt, peynir çeşitleri, tereyağı, kek, glutensiz tahıl ürünleri, tarhana ve ekmek gibi birçok ürünün kalite özelliklerinin geliştirilmesi amacıyla yapılmış birçok çalışma vardır. Aşağıda bu çalışmalardan bazıları sıralanmıştır.

Karasu (2019), yaptığı çalışmada, laktik asit bakterilerinden *Lactobacillus brevis* E25'ten ekzopolisakkarit (EPS) elde etmiş ve bu maddenin farklı gıda tozlarının katı yüzeylere yapışmasına etkisi olup olmadığını belirlemeyi amaçlamıştır. Mısır cipsi ve ahşap pul gibi katı yüzeylere ayçiçek yağı, su ve değişen konsantrasyonlarda EPS çözeltisi (% 20 ve % 40) uygulamış ve ardından cam tozu ve kaya tuzunu 4 farklı partikül boyutunda, farklı gıda tozlarıyla kaplayarak santrifüjle yapışma (adhezyon) testleri denemiştir. Elde edilen veriler, 100µm den küçük partiküllerin diğer fraksiyonlara göre daha iyi yapıştığını göstermiştir. Santrifüj dönme hızını 1000rpm'den 4000rpm'e kademeli olarak artırılmasıyla yüzeylerden kopan partikül miktarının da arttığını tespit etmiştir. Karasu, tuz partiküllerinin EPS çözelti konsantrasyonu arttıkça daha iyi yapışma sağladığını tespit etmiştir. Sonuç olarak, cips benzeri atıştırmalıklarda gıda aroma tozlarının yapışmasını sağlamak için yüksek kalorili gıda bileşenleri kullanmak yerine sağlığa olumlu etkileri olan, doğal bir bileşen olan EPS'lerin kullanılabileceğini tespit etmiştir.

Taşdelen (2018), tarhana üzerine yaptığı çalışmada EPS üreticisi suş ilaveli tarhana örneklerinin duyusal analizde de renk, koku, tat-aroma, asitlilik, kıvam ve genel beğeni parametreleri yönünden panelistler tarafından kontrol grubundan sonra en çok beğenilen grup olduğunu belirlemiş ve bu nedenlerden dolayı EPS üreticisi bu suşların tarhana üretiminde fonksiyonel starter kültür özelliği taşıdığını ortaya koymuştur.

Kara (2017), yaptığı çalışmada ekşi hamurdan izole edilen *L. plantarum* (40 adet) türünün ekzopolisakkarit üretim miktarlarını belirlemiş, seçilen suşlardan her birine ek olarak un miktarı üzerinden %30 ekşi hamur katmıştır. Ekmek üretiminde tip 550 ve tip 750 olarak iki farklı ekmeklik un kullanmış, seçilen bakteri suşları ve ekşi hamurun ekmek kalitesi üzerinde ne gibi etkileri olduğunu incelemiştir. Duyusal değerlendirme sonuçlarında en iyi puan tip750 unu kullanan ve en yüksek miktarda ekzopolisakkarit oluşturan suşun (BioLp57) katıldığı ekşi hamur ekmeğinde elde edilmiştir. Ekmeklerin pH, titrasyon asitliği, nem miktarı, ekmek içi sertlik, hacim, spesifik hacim, ekmek kabuğu L, a ve b renk değerleri, ekmek içi L ve b renk değerleri, ekmek içi ve ekmek kabuğu laktik asit, asetik asit ve propiyonik asit içerikleri arasında göz ardı edilemeyecek kadar çok farkın olduğunu ($p<0.01$), ekmek ağırlığı ve ekmek içi a renk değerinin önemli olduğunu tespit etmiştir ($p<0.05$). EPS sentezleyen laktik asit bakterilerinin ve ekşi mayanın kullanımının ekmekte sadece hacim değil, incelenen diğer kalite parametrelerine de olumlu katkı sağladığını belirlemiştir.

Zehir (2017), yaptığı çalışmada tarhana fermantasyonundan elde edilmiş LAB izolatları arasından EPS üreticilerini belirlemiş, bu suşların ürettikleri EPS'lerin karakterize edilmesini amaçlamıştır. Bu kapsamda toplamda 1044 izolattan kolonilerinin uzama özelliği gösterdiği belirlenen 18 tanesini (GTG)5 parmak izine göre sınıflandırmış ve 16S rDNA dizi analizi sonucunda; 8 adedinin *L. plantarum*, 3 adedinin *L. brevis* ve 7 adedinin LAB dışındaki türlerden olduklarını tespit etmiştir. EPS üretimlerine göre seçilen 6 adet *L. plantarum* suşunun MRS ortamında 521-1166 ppm arasında EPS üretebildiklerini belirlemiştir. Bu suşların EPS üretiminde inkübasyon sıcaklığı, karbon kaynağı ve ortam pH'sının etkisini önemli bulmuştur. EPS üretiminin ciddi oranda arttığı durumların özellikle sakkaroz ve maltoz varlığında olduğunu tespit etmiştir. Ayrıca EPS'lerin viskozitesinin sıcaklıkla ters orantılı olarak değiştiğini gözlemlemiştir. Sonuç olarak tarhana fermantasyonunda EPS üreticisi LAB türlerinin *L. plantarum* olduğunu, yüksek miktarda EPS üretmesi ve ürettiği EPS'lerin hem reolojik özellikleri hem de termal özellikleri nedeniyle *L. plantarum* suşlarını teknolojik açıdan önemli olduğunu tespit etmiştir.

Dertli ve ark. (2016), yaptıkları çalışmada farklı fermantasyon şartları altında üretilen fermente sucukta doğal olarak bulunan EPS'lerin, sucuğun mikrobiyel, tekstürel, fizikokimyasal ve mikroyapısal özellikleri üzerindeki etkisini belirlemeyi amaçlamışlardır. Bunun için, farklı fermantasyon şartları altında (14, 16 ve 18°C'de 8, 12 ve 16 gün) kontrol, suş 1, suş 2 ve karışım suşları üzerinde fizikokimyasal, mikrobiyel, tekstürel ve mikroyapısal özellikler araştırılmıştır. EPS üretiminin bu özellikleri önemli derecede etkilediğini tespit etmişlerdir. Ayrıca fermantasyon koşullarının sucuğun fizikokimyasal özelliklerini üzerinde dominant bir etki oluşturduğunu ve fermantasyon şartlarından sıcaklığın zamana göre daha belirleyici bir faktör olduğunu tespit etmişlerdir. Tekstürel özelliklerin geliştiğini, sucuğun daha sert, daha az yapışkan ve daha güçlü olduğunu ve bunları sağlayan etkenin ekzopolisakkaritler olduğunu tespit etmişlerdir. Mikroyapısal analizlerde ise EPS'lerin karışım suşunda fermantasyon sürecinde ağimsı bir yapı oluşturduğunu ortaya koymuşlardır. Bu çalışmayla ekzopolisakkarit üretiminin sucuğun son özellikleri üzerinde önemli etkileri olduğu belirlenmiştir.

Kılınç (2016), yaptığı çalışmada 88 adet *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* ve 29 adet *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* izolatının ekzopolisakkarit üretim miktarlarını tespit ederek içlerinden en yüksek ve en düşük ekzopolisakkarit üreten bakteri kombinasyonlarını seçmiş ve bu kombinasyonların kullanılmasıyla üretilen yoğurtların kimyasal, fiziksel ve duyuşsal özelliklerini araştırmıştır. Ürettiği 9 yoğurt örneğinde titre edilebilir asitlik, pH, metabolit üretimi, serum ayrılması, viskozite ve duyuşsal değerlendirme sonuçlarını incelemiş ve en yüksek EPS üreten bakteri kombinasyonları ile üretilen yoğurtların duyuşsal özelliklerinin panelistler tarafından daha çok beğenildiğini saptamıştır.

Kırma (2016), yaptığı çalışmada bozadan elde ettiği 11 suşu, şekerli buğday suyu, şekerli ve şekersiz soya suyuna ekmiş ve hem şekerin hem de substratın EPS üretimine etkisini incelemiştir. Bu çalışma için buğday suyu ve soya suyunun farklarını bileşenlerine bakarak tespit etmiştir. Daha sonra bakterilerin ekimini yapmış ve DSC analiziyle gıdada kullanılabilirliklerini belirlemiştir. Bunun sonucunda şekerli soya ile şekersiz soya karşılaştırıldığında, şekerli soyanın EPS üretiminin nispeten fazla olduğunu tespit etmiştir. Soya ve buğday suyu arasındaki farka baktığında ise, soya suyunun EPS üretiminin buğday suyuna göre daha fazla olduğunu belirlemiştir. Bu farkın ise maddelerin bileşenlerinin farklı olmasından, özellikle soya suyunun yağ oranının fazla olmasından kaynaklandığını düşünmüştür. Soya ürünlerinde en fazla EPS üretimi *Weissella confusa* bakterisinde

görülürken, buğdayda *Streptococcus macedonicus* bakterisinin önde olduğunu belirlemiştir. Sonuç olarak; ürünlerde EPS üretiminin geliştirilmesi veya dışarıdan EPS katılmasıyla ürünlerin kalitesinin iyileştirildiğini ve ürünlerin sağlığa yararlılığının arttığını belirlemiştir.

Serin (2016), yaptığı çalışmada, soya suyuna 8 farklı bakterinin (*Lactobacillus coryniformis*, *L. paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Pediococcus parvulus*, *Streptococcus macedonicus*, *Weissella confusa* ve *L. brevis*) belirli suşlarını ekerek EPS üretilmelerini sağlamış ve ardından bu EPS'leri soya suyundan izole etmiştir. Numune olarak buğday suyu ve distile su numuneleri kullanmış, daha önceden soya suyundan izole ettiği EPS'leri buğday suyuna ve distile suya ekleyerek viskoz bir karışım elde etmiştir. Paralelinde de kontrol numuneleri hazırlamış ve iki örnekte de kontrol numunelerine göre EPS eklenerek hazırladığı karışımların viskozitelerinin önemli derecede arttığını tespit etmiştir. EPS eklenen örneklerin viskozite değerlerinin daha yüksek olduğunu gözlemlemiş ve spesifik olarak *L. coryniformis* C55 suşundan elde ettiği EPS'yi eklediği örneğin ise en yüksek viskozite değerine sahip olduğunu tespit etmiştir. Distile su numunesinde ise en yüksek viskozite değeri *L. lactis* F39 suşundan izole edilen EPS'yi eklediği örnekte tespit etmiştir. Böylece kullandığı numunelerin kayma hızı arttıkça viskozitesinin azaldığını yani psedoplastik özellik gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. Sonuç olarak viskoziteye etkilerini tespit ettiği mikrobiyel kaynaklı EPS'lerin gıda sanayisinde yapı iyileştirici veya kalınlaştırıcı ajan olarak doku ve ağız hissini iyileştirmek için kullanılabileceğini belirtmiştir.

Tosun (2016), tereyağı ve kaymak üretiminde EPS kullanımının etkisi üzerine yaptığı çalışmada ticari LAB tarafından üretilen EPS'nin tereyağı ve kaymağın tekstürel özellikleri, diasetil ve bütirik asit gibi aroma bileşenleri ile renk üzerine olumlu etkiler yaptığını; EPS'nin, kaymak ve tereyağında tekstür düzeltici ve aroma artırıcı doğal bir gıda katkı maddesi olarak ticari olanlarının yerine kullanılabileceğini tespit etmiştir.

Dağ (2016), yaptığı araştırmada, LAB sentezlenen EPS'lerin buğday suyunun reolojik özelliklerine etkisini incelemeyi amaçlamıştır. Çalışmada EPS üreten *Leuconostoc citreum*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus coryniformis*, *L. paracasei* ve *Pediococcus parvulus* suşlarını kullanmıştır. *L. lactis* suşunun iki farklı ortamda da en yüksek EPS üretimini gerçekleştirdiğini tespit etmiştir. Reolojik ölçümlerde farklı viskozite etkilerinin farklı EPS'lerin olduğunu tespit etmiştir. EPS eklenen buğday sularının tümünün Newtonyen olmayan, kayma incelmesine sahip davranış gösterdiğini belirlemiştir. En yüksek viskozite ve kıvam katsayısını *L. lactis* suşu eklenmiş buğday suyunda tespit etmiştir.

LAB''lerinden sentezlenen ekzopolisakkaritlerin buğday suyunun yapısal özelliklerini iyileştirdiği gözlemlendiğinden stabilizör olarak kullanılmasının tavsiye edilebileceğini düşünmüştür.

Yılmaz ve ark. (2014), yaptıkları çalışmada farklı inkübasyon koşullarında dondurma, ayran ve sucuk üretimini EPS üreten suşlar kullanarak yapmışlardır. Her suş için 10 farklı inkübasyon ve fermantasyon şartında, her gıda örneği için 4 farklı suş kullanarak üretim yapmışlardır. Kıvam verici kullanılmadan üretilen dondurma ve ayran örneklerinin, EPS üreten kültürlerin varlığıyla fizikokimyasal, mikrobiyolojik, duyuşsal ve reolojik özelliklerinin önemli derecede etkilendiğini tespit etmişlerdir. EPS üreten suşlar ile yapılmayan suşlar kullanılarak üretilen dondurma mikslerinin ve ayranların kıvamının, EPS varlığıyla önemli derecede arttığını belirlemişlerdir. Sucuk üretiminde de EPS üreten *L. mesenteroides* ve *L. plantarum* suşlarını kullanmış ve bunların da fizikokimyasal, mikrobiyolojik, tekstürel ve mikroyapısal özelliklerinin EPS varlığıyla önemli derecede etkilendiğini gözlemlemişlerdir. Ayrıca sucuk örneklerinin sertlik, gamsılık ve çiğnenebilirlik değerlerinin de EPS miktarının artışıyla doğru orantılı olarak arttığını belirlemişlerdir. Sonuç olarak elde ettikleri verilerle ayran, dondurma ve sucuk üretiminde EPS üreten suşların kullanımının ürün özelliklerini olumlu etkilediğini ortaya çıkarmışlardır.

Demiral (2014), yaptığı çalışmada beyaz peynir üretiminde EPS üreten kültürlerin kullanım imkânlarını araştırmıştır. Bu amaçla, yağlı ve yağsız inek sütünden farklı kültürler ile 2 tekrarlı olarak beyaz peynirler üretmiş ve olgunlaşmanın, 1, 15, 30, 60 ve 90. günlerinde mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal, aroma, tekstür, mikroyapı ve duyuşsal analizlerini gerçekleştirmiştir. EPS'nin yağlı ve yağsız peynirlerde farklı değişiklikler oluşturduğunu gözlemlemiştir. EPS üreten kültür kullanılarak üretilen beyaz peynirlerde randımanın, kontrol örneklerinden yüksek olduğunu tespit etmiştir. Depolama sürecinde *Streptokok* ve *Laktokok* sayılarının tüm örneklerde azaldığını titrasyon asitliğinin ise arttığını belirlemiştir. Tüm peynirlerde olgunlaşma süresince kuru madde oranlarının azaldığını, yağ oranlarının sabit kaldığını, tuz miktarlarının ise arttığını belirlemiştir. Olgunlaşma ve kültürlerin, sakızimsılık ve çiğnenebilirliğin üzerinde etkili olduğunu belirlemiştir. Duyusal analizlerde ise; görünüş, doku, lezzet ve genel kabul edilebilirlik özelliklerinde en yüksek puanları EPS üreten kültürlerle yapılan peynir örneklerinin aldığını görmüştür. Yağsız peynirlerde de EPS üreten kültürün kullanıldığı numuneler kontrol grubuna göre daha yüksek puanlar almıştır. Yağlı peynirlerde de EPS üreten kültürün tekstür ve aroma üzerine olumlu etkisi olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Oluk (2013), yaptığı araştırmada, yarım yağlı Tulum peynirlerini hem EPS üreten kültür hem de EPS üretmeyen kültür kullanarak ve tam yağlı Tulum peynirlerini EPS üretmeyen kültür kullanarak 90 gün süreyle olgunlaştırmıştır. Olgunlaştırma sonunda EPS üreten kültür kullanılan Tulum peynirinin kuru madde, yağ ve kuru maddede yağ, protein ve kuru maddede protein oranları ve pıhtı sıklığı, toplam serbest aminoasit miktarı, suda çözünen azot, %12 TCA'de çözünen azotu, proteoz pepton, kazein azotu oranlarının önemli düzeyde etkilendiğini tespit etmiştir ($p<0.01$). Fakat yağ oranının azalmasıyla randımanında azalma tespit etmiş ve EPS üreten kültürle yaptığı B peynirinin randımanının yarım yağlı peynirler arasında en yüksek randımana sahip olduğunu tespit etmiştir. EPS üreten kültür kullanımının peynirin elastiklik dışındaki tekstürel özelliklerini artırdığını tespit etmiştir. Diğer taraftan peynirlerin içerdiği serbest yağ asidi miktarında olgunlaşma süresince artış belirlemiş, palmitik, oleik ve miristik asitler baskın serbest yağ asitleri olarak tespit etmiştir. Peynirlerde kullanılan starter kültürlerin ve olgunlaştırma süresinin uçucu bileşenler üzerine etkili olduğunu belirlemiştir. Duyusal özelliklere baktığında ise olgunlaşmanın sonuna doğru yarım yağlı EPS üreten kültür kullanılan tulum peynirleri en beğenilen peynirler olduğunu gözlemlemiştir. Sonuç olarak EPS üreten kültürlerin su tutma kapasiteleriyle yarım yağlı peynirlerin yapısal ve duyusal olumsuzluklarını ortadan kaldıracabildiğini ve peynirlerin diğer özelliklerine de olumlu katkı sağlayacağını ortaya koymuştur.

Behare ve ark. (2009), Hindistan fermente süt ürünü olarak bilinen yağsız dahi üretmek için EPS üreten mezofilik laktik kültürler kullanmışlardır. Dahi örneklerinde EPS miktarını 184-193 ppm olarak tespit etmiş ve EPS nin viskozite, yapışkanlık ve duyusal özellikleri olumlu etkilediği belirlenmişlerdir.

Akbaş (2009), kek üretiminde EPS kullanımının etkisi üzerine yaptığı çalışmada kek özelliklerinin tümü göz önüne alındığında, formüldeki yağ ve EPS çözeltisi oranının artmasıyla kabul edilebilirlik değerinin arttığını belirlemiştir. Yağ oranının %30 azaltılıp, %30 oranında EPS çözeltisi kullanılmasıyla standart tam yağlı kek özelliklerine yakın kek üretmenin mümkün olduğunu saptamıştır.

Korkmaz (2005), pıhtısı kırılmış yoğurtlar üzerine yaptığı araştırmada, yağ içeriğinin düşmesiyle tekstürel ve duyusal kusurların meydana gelme durumunun EPS üreten kültürlerin kullanıldığı örneklerde daha az olduğunu belirlemiştir. Özellikle yağ içeriği %1,5'e ayarlanan ve EPS üreten kültürlerle yapılan yoğurtların duyusal özelliklerinin tam yağlı (%3) örneklere yakın olduğunu ve panelistler tarafından daha çok beğenildiğini saptamıştır.

Yapılan alışmalar incelendiğinde EPS üretiminin gıdaların kalitesi ve sağlığa etkileri ile ilgili birçok çalışma yapıldığı ve EPS varlığının ürün kalitesine ve insan sağlığına olumlu etkileri olduğu görülmektedir. Fakat EPS retimi de yapan laktik asit bakterilerinin hakim flora olduğu sucukta EPS varlığıyla ilgili yeterince çalışma bulunmadığı görülmektedir. Bu alışmada Maraş et sucuklarından izole edilen laktik asit bakterilerinin EPS retim potansiyelleri belirlenecektir. Bu çalışmanın; sucuğun kalite özellikleri veya EPS üreten suşların önemi üzerine yapılacak çalışmalara ışık olacağı düşünülmektedir.



3.MATERYAL VE METOT

3.1.Materyal

3.1.1.Sucuk örnekleri

Bu çalışmada kullanılan sucuk örnekleri 2019 yılı yaz aylarında Kahramanmaraş piyasasında bulunan 10 farklı kasaptan temin edilmiş ve 2 tekrar çalışılmıştır.

3.1.2.Kullanılan cihazlar

Bu çalışmada Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Gıda Mikrobiyolojisi laboratuvarında bulunan; ısıtıcılı manyetik karıştırıcı, inkübatör, otoklav, spektrofotometre, santrifüj, vorteks, hassas terazi, nanodrop spektrofotometre, biyogüvenlik kabini, jel görüntüleme sistemi, elektroforez sistemi, termal cycler cihazları kullanılmıştır.

3.1.3.Kullanılan kimyasal maddeler, çözelti ve besiyerleri

Bu çalışmada kimyasal madde olarak; etanol (C_2H_5OH), fenol (C_6H_5OH), gliserol ($C_3H_8O_3$), sodyum klorür ($NaCl$), sülfürik asit (H_2SO_4), trikloroasetik asit ($C_2HCl_3O_2$), etidyum bromür ($C_{21}H_{20}BrN_3$), CleanSeq reagent, Taq DNA polimerase, bigdye buffer kullanılmıştır.

Besiyeri olarak; M17 broth (Merck), MRS broth (Merck), MRS agar (Merck), M17 agar kullanılmıştır.

Ayrıca çalışmada %5 Fenol Çözeltisi, %85 Trikloroasetik Asit (TCA) Çözeltisi, %30 Gliserol Çözeltisi, %0,85 Fizyolojik Tuzlu Su (FTS) kullanılmıştır.

3.2.Metot

3.2.1. LAB'nin izolasyonu

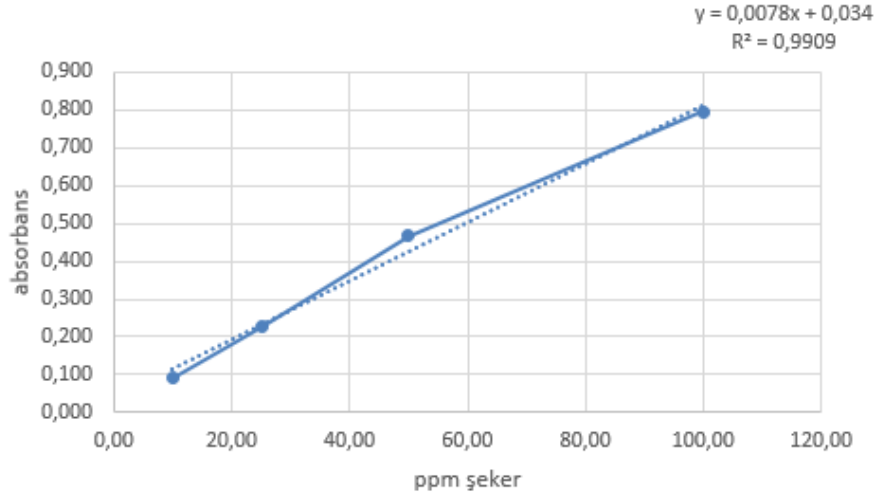
Laboratuvara getirilen sucuk örneklerinden 5g tartılarak 45g fizyolojik tuzlu su içerisinde iyice ezildikten sonra sıvı kısmından 1mL alınarak fizyolojik tuzlu su ile hazırlanmış olan dilüsyon sıvısıyla 10^{-6} 'ya kadar seyreltilmiştir. Hazırlanan dilüsyonlardan laktik asit bakterilerinin izolasyonu için MRS agar ve M17 agara yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. Ekimi yapılan örnekler $37^{\circ}C$ 'de 48 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra oluşan koloniler MRS broth ve M17 brotha alınmış ve 24 saat bekletilerek zenginleştirme yapılmıştır. Zenginleştirilen koloniler vortex ile iyice karıştırıldıktan sonra MRS agar ve M17 agara çizme yöntemiyle tekrar ekim yapılarak $37^{\circ}C$ 'de 48 saat inkübasyona

bırakılarak tek koloniye düşürme işlemi gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonucunda oluşan koloniler 2. Zenginleştirme için tekrar MRS broth ve M17 brotha alınmış ve 37°C de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda zenginleştirilen koloniler vortex ile iyice karıştırılmış ve yatık olarak hazırlanan MRS agar ve M17 agara alınmış 37°C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda elde edilen saf kolonilerin EPS tayinleri yapılmıştır (Şengül, 2001).

3.2.2. EPS tayini

Saf kültürleri elde edilen bakterilerin Ekzopolisakkarit (EPS) üretimleri Marshall ve Rawson (1999)’un metoduna göre yapılmıştır (Marshall ve Rawson, 1999). Elde edilen saf koloniler MRS broth ve M17 broth ortamında $37\pm1^{\circ}\text{C}$ ’de 24 saat inkübe edilerek iki kez ard arda aktifleştirilmiştir. Daha sonra tekrar 5 mL’ lik broth ortamında ikişer paralelli olarak %2 oranında ekim yapılmış ve $37\pm1^{\circ}\text{C}$ ’de 18-20 saat geliştirilmiştir. Aktifleştirilen örneklerden 1 ml ependorf tüplerine aktarılarak, 100°C ’de 10-15 dk bekletildikten sonra oda sıcaklığına gelinceye kadar soğutulmuş ve 1 ml örnek üzerine %85’lik Trikloroasetik asit (TCA)’dan %0.17 oranında ilave edilerek, 12 000 rpm’de 25 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmından 0.5 ml alınarak diğer bir ependorf tüpüne konulmuş üzerine eşit hacimde etanol ilave edilmiş, 12 000 rpm’de 25 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant dökülerek tekrar 0.5 mL etanol ilave edilmiş ve ikinci etanol presipitasyonu 12 000 rpm’de 25 dk santrifüj yapılmıştır. Pelletler 1 ml steril saf suda çözüldükten sonra fenol sülfürik asit metodu uygulanmıştır (Torino ve ark., 2001).

Örneklerin üzerine önce 0,5 ml fenol ve daha sonra hızlı bir şekilde 5 ml H_2SO_4 ilave edilmiş, 10 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra vorteks ile iyice çalkalanarak, 25-30°C’de 10-20 dakika bekletilmiştir. Süre bitiminden sonra örneklerin OD değerleri 490 nm dalga boyunda iki paralelli olarak ölçülmüş ve absorbans değerleri elde edilmiştir. EPS üretim miktarlarını belirlemek için 0-100 ppm arasında değişen oranlarda glikoz kullanılarak fenol sülfürik asit metodu uygulanmış ve standart glikoz eğrisi çıkarılmıştır (Şekil 3.1.). Ardından elde edilen absorbans değerleri Şekil 3.1.’de gösterilen kalibrasyon grafiğinde yerine yazılarak örnekte bulunan EPS miktarı ppm cinsinden belirlenmiştir.



Şekil 3.1. Glikoz standart eğrisi

3.2.3.Kültür stoklarının oluşturulması

Saflaştırılan ve ekzopolisakkarit konsantrasyonları belirlenen kültür tüplerinden 0.5ml alınarak, 0.5ml %30'luk gliserol içeren eppendorf tüplerine ilave edilmiş, etiketlenmiş ve -20°C'de muhafaza edilerek stok oluşturulmuştur.

3.2.4.PCR ile tanımlama yapılması

Bakteri örneklerinden DNA izolasyonu için ticari Gf-1 Bacterial DNA Extraction Kit kullanılmıştır. DNA saflığı NanoDrop cihazı kullanılarak hesaplanmıştır. Hesaplanan aralık 1.7-1.9 dir. Konsantrasyonu hesaplanan DNA örnekleri 50 ng/ul olacak şekilde ayarlandıktan sonra 3 eppendorf tüpüne bölünerek çalışma gününe kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir (Luang In ve Deeseenthum, 2016).

Çizelge 3.1. Bakteri DNA'sının amplifikasyonun gerçekleştirildiği reaksiyon karışımı (Luang In ve Deeseenthum, 2016)

Reaksiyon Karışımı	Kullanılacak miktar (ul)
10x PCR Tamponu	1
Primer (F) (10 pmol/ul)	0.25
Primer (R) (10 pmol/ul)	0.25
dNTP (10 mM)	1
Genomik DNA	1
Taq DNA Polimeraz (5U/ul)	0.125
Steril bidistile Su	6.375
Total Hacim	10 ul

Çizelge 3.2. Bakteri DNA'sının amplifikasyonun gerçekleştirildiği PCR koşulları (Luang In ve Deeseenthum, 2016)

1.Basamak	2.Basamak			3.Basamak	4.Basamak
1 Defa	35 Defa			1 Defa	1 Defa
95°C	94°C	48°C	72°C	72°C	4°C
5:00 dk	1:00 dk	1:00 dk	1:00 dk	10:00 dk	Sonsuz

Agaroz jel elektroforezi Maniatis ve arkadaşlarının yöntemine göre yapılmıştır (Maniatis, 1982);

1- 2.1 g agaroz tartılmış, 250 ml'lik bir erlenmayere konulmuştur. Üzerine 140 ml 1X TBE tamponu eklenmiş (%1.5 lik agaroz) ve 25 mg/ml'lik etidyum bromür'den 4 µl ilave edilerek ve ısıtıcı tabla üzerinde kaynatılmıştır.

2- Elektroforez tarakları jel dökme kabına, tabanında 1mm boşluk kalacak şekilde ayarlanarak yerleştirilmiştir. Yaklaşık 60°C'ye kadar soğutulan agaroz jeli, jel kabına dökülüp donması için oda sıcaklığında 30 dk. bekletilmiştir.

3- Taraklar dikkatlice çıkarılmış ve jel kabı elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Jelde açılmış olan boşluklara 10'ar µl miktarlarda sırasıyla DNA marker ve PCR ürünleri applike edilmiştir.

4- Jele elektrik akımı (5Volt/cm) verilerek 15 dk. elektroforez yapılmış ve oluşan bantlar jel görüntüleme sisteminde incelenmiştir.

PCR amplifikasyonu istenilen şekilde gerçekleşmezse optimizasyon sağlanıncaya kadar işlemler tekrar edilmiştir. Çalışmada kullanılan 25 bakteri örneği için DNA Sekans Analizi uygulanarak nükleotid dizilimi çıkarılmıştır. Sekans için kullanılan PCR karışımları ve protokolleri aşağıda belirtilmiştir.

DNA Sekans PCR öncesi CleanSeq Enzmatic PCR Clean-Up kiti ile PCR ürünleri temizlenmiştir. Bu temizleme işlemi; 1 kez 37°C’de 30 dk., 1 kez 80°C’de 15 dk., 1 kez 4°C’de süresiz yapılabilir. Her bir 5ul PCR ürünü için 2ul CleanSeq reagent kullanılarak 7ul reaksiyon volümü yukarıdaki PCR protokolüne göre temizlenmiştir.

Çizelge 3.3. BigDye Sekans PCR’ı

Reaksiyon karışımı	
BigDye Terminator v3.1 Ccycle Sequncing Kit	2 ul
5X bigdye buffer	2 ul
F veya R Primer (2 pmol)	2 ul
2 ul Deiyonize ultrasafsu	2 ul
Temizlenmiş Kalıp DNA	2 ul

Bu PCR sonrasında sefadex pröfikasyonu yapılmıştır (Manjula ve ark., 2011); bunun için 1g sefadex, 14 ml saf su ile vorteks ile karıştırılmış, 700ul lik spin-kolona aktarılmış, 1600rpm’de 2 dakika santrifüj edilmiş, Sefadex pröfikasyonu ile kolondan geçirilen BigDye sekans ürünlerinin ABI 3130 XL 16 Kapiller elektroforez sistemi ile nükleotid dizileri çıkarılmış, elde edilen DNA nükleotidlerinin NCBI Nükleotid BLAST ile tanımlaması yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Son zamanlarda katkı maddelerinin kullanılmasıyla üretilen ürünler tüketiciler tarafından doğal ve güvenilirlikten uzak ürünler olarak görülmektedir. Marketlerde taze, katkısız, %100 doğal ibaresi bulunan ürünler daha fazla tercih edilmeye başlanmıştır. Fakat, sadece ham madde kullanılarak istenilen özelliklerde ürün üretmek her zaman mümkün olmamaktadır. İşte bu noktada fermente gıdalar ve mikroorganizmaların fermentasyon sırasında ürettikleri metabolitlerin kullanımı alternatif uygulamalar olarak kullanılmaktadır. Burada LABnin laktik asit fermentasyonu sonucu oluşturduğu metabolitlerin en önemlilerinden biri olan EPS göze çarpmaktadır (Leroy ve ark., 2004).

EPS'ler, birçok üründe ticari koruyucular yerine kullanılabilmekte ve son üründe standardizasyona katkı sağlamaktadırlar. Ancak, LAB'nin hakim flora olduğu bazı ürünlerde özellikle de geleneksel gıdalarda bulunan suşların EPS üretim potansiyelleri üzerine yeterli çalışma bulunmamaktadır. LAB türlerinin EPS üretme kabiliyetlerinin yanında EPS üretim miktarları da bu suşların fonksiyonel özelliklerinin ortaya çıkabilmesi açısından önemlidir. Bu çalışmada literatürdeki bu boşluğu doldurmak ve gelecekte yapılacak çalışmalara ışık olmak amacıyla geleneksel yöntemlerle üretilmiş fermente sucuklarda bulunan LABnin EPS üretim potansiyelleri araştırılmış ve izole edilen her suşun EPS üretim miktarları tespit edilmiştir.

Çalışmada bu amaçla; 10 farklı kasaptan Maraş et sucuğu örnekleri alınmış ve bu sucuklardan hazırlanan numunelerin MRS ve M17 besiyerlerine ekimi yapılarak içerisindeki LAB izole edilmiştir. İzole edilen toplam 56 suşun EPS üretim miktarları fenol-sülfürik asit yöntemi ile belirlenmiştir. Çalışmalar 2 paralel ile yürütülmüş ve EPS miktarının belirlenmesinde paralellerden spektroskopik olarak elde edilen absorbans değerlerinin ortalaması kullanılmıştır. Elde edilen değerler Çizelge 4.1.'de gösterilmiştir. Çizelgedeki harfler farklı kasapları, sayılar ise suşların elde edildikleri dilüsyon oranını ifade etmektedir.

Değerler incelendiğinde suşların ürettiği EPS miktarının 20.19 ile 109.10 ppm arasında değiştiği görülmektedir. Literatürde geleneksel yöntemlerle üretilmiş sucuklarda EPS miktarı ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Fakat EPS üreten suşlar eklenerek üretilen sucuklarda EPS nin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada elde edilen EPS miktarı 4.68 ppm ile 15.97 ppm arasında değişmektedir (Yılmaz ve ark., 2014). Bu değerlere bakılarak geleneksel yöntemlerle üretilen sucuklarda EPS üretim miktarının, EPS üreten suş eklenerek üretilen sucuklardaki EPS üretim miktarından yüksek olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.1.: Elde edilen izolatların EPS üretim miktarı

No	Örnek	EPS miktarı (ppm)	No	Örnek	EPS miktarı (ppm)
1	A41	28.27	29	C5	33.97
2	A42	44.36	30	C61	38.01
3	A43	43.40	31	C62	85.90
4	A44	31.47	32	C63	36.15
5	A45	45	33	C64	45.64
6	A51	38.9	34	C66	44.49
7	A52	34.55	35	D4	43.66
8	B41	45.96	36	E65	48.78
9	B42	63.01	37	F61	47.12
10	B43	36.86	38	F62	50.32
11	B44	42.56	39	G5	38.65
12	B45	109.10	40	H41	34.74
13	B51	34.23	41	H42	43.46
14	B52	35.06	42	H43	54.29
15	B53	54.81	43	H51	52.95
16	B54	73.40	44	H52	32.69
17	B55	20.19	45	H53	24.42
18	B56	91.09	46	H61	33.08
19	B57	74.81	47	H62	30
20	B58	30	48	I94	30.13
21	B59	40.26	49	I95	25.04
22	B61	80.13	50	I6	29.10
23	B62	36.60	51	J4	30.58
24	B63	43.53	52	J51	30.06
25	B64	70.26	53	J52	43.08
26	B65	58.08	54	J53	20.26
27	B66	52.24	55	J61	22.24
28	C4	51.09	56	J62	24.10

Ayrıca EPS nin sucuğun özellikleri üzerine etkisinin de araştırıldığı bu çalışmada sucuk üretiminde EPS üreten suş kullanılmasının sucukların sertlik, gamsılık ve çiğnenebilirlik değerlerini önemli derecede artırdığı belirtilmektedir. Buradan çalışmamızda kullanılan sucukların EPS üretiminin daha yüksek olmasından dolayı belirtilen özelliklerinin de daha yüksek olduğu düşünülmektedir.

Demir ve ark. (2017), yaptıkları çalışmada LAB'in yoğurttaki EPS üretim miktarları 5.89 ile 134.60 ppm arasında tespit etmişlerdir. Zannini ve ark. (2016) ise çalışmalarında yoğurtta LAB'ler tarafından üretilen EPS miktarının 45-350 ppm arasında değiştiği tespit etmişlerdir. Feldmane ve ark. (2013) ise üç farklı ticari EPS üreticisi kültür kullandıkları çalışmalarında ise EPS miktarını yoğurtta 144.08 ile 440.81 ppm arasında değiştiğini rapor etmişlerdir.

Bu değerler göz önünde bulundurulduğunda geleneksel yöntemlerle üretilen sucuklarda elde edilen EPS miktarının EPS üretiminin oldukça önemli olduğu yoğurtta üretilen EPS miktarına yakın değerlere sahip olduğu görülmektedir. Ayrıca yoğurtta EPS üreten suğ ilavesi ile EPS  retim miktarının arttığı görülürken, sucukta bu durumun tersi görülmektedir. Bu farklılık geleneksel yöntemlerle üretilen sucukların fermantasyon şartlarının EPS üretimine daha elverişli olduğu d ğ ncesini ortaya çıkarmaktadır.

Geleneksel peynirlerde Uğurlu, (2017) tarafından yapılan bir çalışmada spektroskopik olarak EPS miktarını bulmuğ ve burada en yüksek üretim 337.19 ppm, en d ğ k üretim 57.67 ppm olduğunu tespit etmiştir. Pektaş, (2014) ise yaptığı çalışmada süt ve süt ürünlerinden izole edilen 163 LAB'sinin EPS  retme yeteneklerini tespit etmiş ve sonuçta EPS değerlerini 46.65-53.17 ppm arasında bulmuştur. Bunlar da çalışmamızın literatürdeki çalışmalarla paralellik gösterdiğini destekleyen araştırmalardandır. Genel olarak bakıldığında süt ürünlerinde üretilen EPS miktarının sucukta üretilen EPS miktarıyla paralellik gösterdiği söylenebilir.

Gıda kaynaklı laktik asit bakterilerinin EPS  retim potansiyellerinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise suşların EPS  retim miktarlarının 127.30-245.00 ppm arasında değiştiği gözlemlenmiştir (Akepaer, 2015). Başka bir tez çalışmasında ise *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* ve *Leuconostoc* cinslerine ait bazı suşlar kullanılarak EPS üretimleri belirlenmiş ve sonuçlar 46.42 ppm ile 208.88 ppm arasında bulunmuştur (Ahi, 2011). Bu çalışmalarda görülen değerler alt sınırlara yakın olmakla birlikte çalışmamızda elde edilen EPS miktarı ile örtüşmektedir.

Birçok  alışmada LAB türlerinden farklı miktarlarda EPS üretilmiş ve bugüne kadar tespit edilen EPS  retim miktarları 59-636 ppm arasında değişmiştir (Pham ve ark., 2000; Zhang ve ark., 2016; Bai ve ark., 2016; Wang ve ark., 2017; Kim ve ark., 2017; Behera ve ark., 2018). Bu değerler elde ettiğimiz değerlerle uyum göstermekle birlikte çalışmamızda bu sınırlardan daha d ğ k miktarlarda EPS  rimi olduğu da göze çarpmaktadır. Fakat yapılan çalışmalarda üretilen ekzopolisakkaritlerin oldukça d ğ k konsantrasyonlarda olsalar dahi yapıyı geliştirici etki gösterdikleri belirlendiğinden d ğ k konsantrasyonların da önem arz ettiği görülmektedir (Soyuçok ve ark., 2016).

Kılıç ve Dönmez, (2019) yaptıkları çalışmada; geliştirdikleri bakterinin en d ğ k sıcaklıkta (20 C), 189.8 ppm EPS ürettiğini belirlemişlerdir. Sıcaklığı arttırdıklarında ise mikroorganizma tarafından oluşturulan polimerin azaldığını tespit etmişlerdir. Sıcaklık 30 C

olduğunda ise üretilen EPS bir miktar daha azalarak 186.7 ppm olduğunu bulmuşlardır. Ortamın sıcaklığı daha da arttırıldığında (40°C) bakterinin ürettiği EPS miktarını, 142.2 ppm olarak tespit etmişlerdir. Bu çalışmaya bakılarak çalışmamızda üretilen EPS miktarının diğer çalışmalarla sınır olarak örtüşmesini fakat alt sınıra yakın değerler bulmamızı mikroorganizmaları 37°C’de geliştirmemizden veya çalışmaların ve sucukların üretiminin yaz aylarında yani nispeten yüksek sıcaklıkta yapılmasına bağlayabiliriz.

Sonuç olarak literatürde rastlanan değer aralıkları çalışmamızla örtüşmektedir ve bu da Maraş et sucuklarında bulunan LAB suşlarının EPS üretim yeteneğine sahip olduğunu kanıtlamaktadır. Bu bilgi gelecekte geleneksel sucukların kalite kriterlerinin optimize edilmesi üzerine yapılacak çalışmalarda kullanılabilir.

Çizelge 4.2. Sucuklardan elde edilen suş sayıları ve EPS miktarları

KASAP	İZOLE EDİLEN SUŞ SAYISI	SUCUKTAN ELDE EDİLEN TOPLAM EPS (ppm)	ORTALAMA (ppm)
A	7 adet	265.95	37.99
B	20 adet	1092.18	54.61
C	7 adet	335.26	47.90
D	1 adet	43.33	43.33
E	1 adet	48.78	48.78
F	2 adet	97.44	48.72
G	1 adet	38.65	38.65
H	8 adet	30.63	38.20
I	3 adet	84.27	28.09
J	6 adet	170.32	28.39

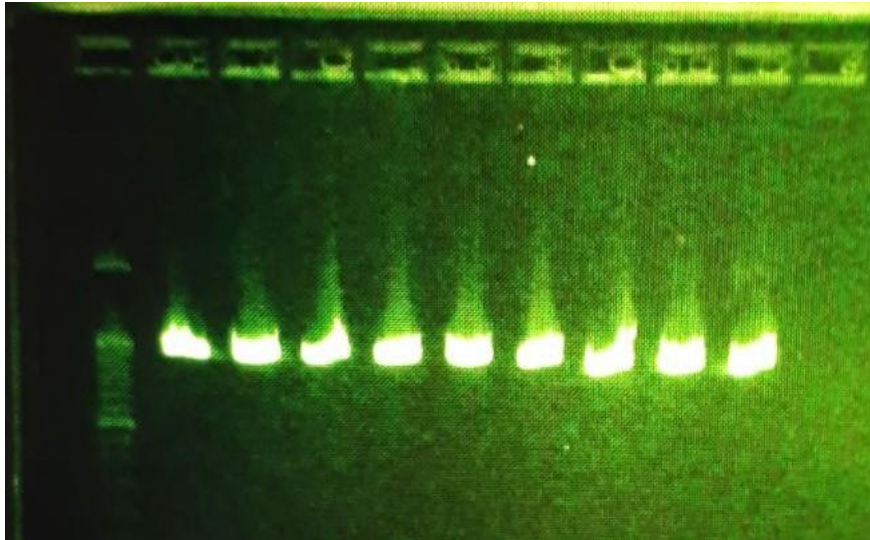
Çalışmamızda kullanılan sucukların EPS üretim miktarları ve her bir sucuktan elde edilen suş sayısı Çizelge 4.2.’de görülmektedir.

En fazla suş diğer sucuklarla arasında ciddi bir fark olmakla beraber B kasabından elde edilen sucuktan izole edilmiştir. Burada B kasabının üretiminde fermantasyon şartlarının suşların gelişimini destekler nitelikte olduğu söylenebilir. Ortalama EPS üretimine bakıldığında da B kasabından elde edilen suşların diğerlerinden yine belirgin bir farkla fazla üretim sağladığı görülmektedir. Ayrıca en yüksek EPS üreten suş da 109.10 ppm

ile yine aynı kasaptan elde edilen sucukta görülmektedir (Çizelge 4.1.). Burada suş miktarının fazla olmasının EPS üretim miktarını da olumlu yönde etkilediği söylenebilir. Diğer taraftan en az EPS üretiminin ise I kasabından temin edilen sucukta olduğu ve burada ortalama üretim miktarının da 28.09 ppm olduğu görülmektedir.

Ayrıca tüm sucukların toplam EPS üretim miktarlarının suş sayısına göre ortalamaları alınmış ve bu ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak karşılaştırılması yapılmıştır. Sonuç olarak ürettikleri ortalama EPS miktarları arasındaki fark çok önemli bulunmuştur ($P<0,01$). Bu da geleneksel yöntemlerle üretilen sucuklarda EPS üretim miktarlarının değişkenlik gösterebileceğini desteklemektedir.

LAB'nin endüstrideki kullanımları düşünüldüğünde, araştırmaların en önemli kısmının kullanılabilecek olan LAB suşlarının seçimi olduğu görülmektedir. Bu sebeple, herhangi bir suşun spesifik ve belirgin olarak ayrımını sağlayan güvenilir yöntemlerin uygulanması çok önemlidir (Kıran ve Osmanağaoğlu, 2011). Bu çalışmada da izole edilen LAB'nin 25 tanesinin tanımlamaları bu yöntemlerden biri olan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile yapılmıştır. Burada tanımlaması yapılacak suşlar hem yüksek miktarda EPS üreten suşlardan hem de düşük miktarda EPS üreten suşlardan seçilmiş ve her örnekten en az bir suşun tanımlanmasına dikkat edilmiştir. Burada amaç EPS üreten suş çeşitliliğini görmek ve her numunede ortak olan bir suş olup olmadığını belirlemektir. Bu amaçla PCR ürünler agaroz jelde yürütülerek elektroforez işlemi yapılmıştır. Şekil 4.1.'de jelde yürütülen ürünlerden elde edilmiş bazı görüntüler yer almaktadır.



Şekil 4.1. Jel elektroforez görüntüsü

Çizelge 4.3. PCR tanımlama sonucu ve EPS üretim miktarları

No	İzolat Kodu	Tanımlama Sonucu	Doğruluk Yüzdesi	EPS Miktarı (ppm)
1	A42	<i>Bacillus subtilis</i>	%98	44.36
2	A44	<i>Lactobacillus plantarum</i>	%98	31.47
3	A52	<i>L. plantarum</i>	%96	34.55
4	B45	<i>L. plantarum</i>	%97	109.10
5	B55	<i>L. plantarum</i>	%96	20.19
6	B56	Tanımlanamadı		91.09
7	B63	<i>L. plantarum</i>	%97	43.53
8	B64	<i>B. subtilis</i>	%97	70.26
9	B66	<i>L. plantarum</i>	%97	52.24
10	C4	<i>Pediococcus acidilactici</i>	%99	51.09
11	C62	<i>P. acidilactici</i>	%96	85.90
12	C63	Tanımlanamadı		36.15
13	E65	<i>L. plantarum</i>	%96	48.78
14	F62	<i>P. acidilactici</i>	%97	50.32
15	G5	<i>L. plantarum</i>	%87	38.65
16	D4	Tanımlanamadı		43.33
17	H43	<i>B. subtilis</i>	%97	54.29
18	H52	<i>P. pentosaceus</i>	%97	32.69
19	H53	<i>L. plantarum</i>	%97	24.42
20	H62	<i>L. plantarum</i>	%90	30
21	I4	<i>L. plantarum</i>	%97	30.13
22	I5	<i>L. plantarum</i>	%97	25.04
23	J51	<i>L. plantarum</i>	%98	30.06
24	J53	<i>L. plantarum</i>	%98	20.26
25	J61	<i>L. plantarum</i>	%97	22.24

Literatüre bakıldığında genel olarak elektroforez işleminin 4°C’lerde 1 gece kadar düşük voltajda gerçekleştirilmesi gerektiğini vurgulamaktadır. Ancak bu çalışmada jeller genel olarak 50 V’da 3-4 saat kadar yürütülmüş ve gerekli ayırım rahatlıkla gerçekleştirilmiştir. Bu işlemin ardından sekans analizi yapılmış ve sonuçlar NCBI

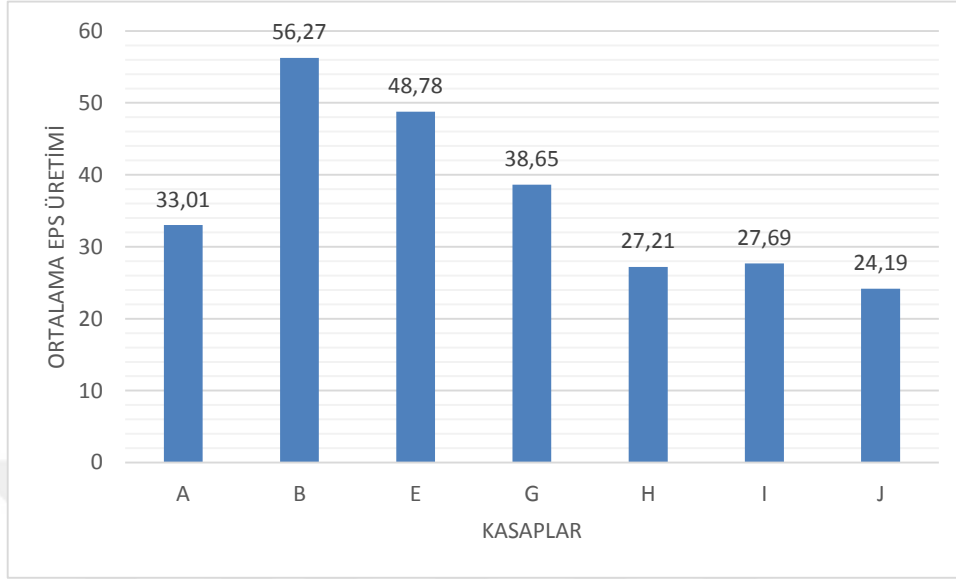
Nükleotid BLAST veribankasında mevcut türler ile karşılaştırılarak ilgili izolatların hangi türe ait olduğu bulunmuştur. Tanımlama sonucunda Çizelge 4.3.'teki sonuçlar elde edilmiştir.

Elde edilen sonuçlara bakıldığında tanımlanan 25 türün 15 tanesinin *L. plantarum* (Toplam 560.66 ppm EPS), 3 tanesinin *P. acidilactici* (Toplam 187.31 ppm EPS), 3 tanesinin *B.subtilis* (Toplam 168.91 ppm EPS), 1 tanesinin ise *P. pentosaceus* (Toplam 32.69 ppm EPS) olduğu tespit edilmiştir. 3 tane suş ise tanımlanamamıştır.

Bilindiği gibi et endüstrisinde starter kültür olarak Laktik asit bakterilerinden *L. plantarum*, *P. acidilactici*, *L. curvatus*, *L. pentosus*, *L. sakei*, *P. pentosaceus* suşları kullanılmaktadır. Bu çalışmada kullanılan sucuklar geleneksel yöntemlerle üretildiğinden fermentasyonun gerçekleşmesinde herhangi bir starter kültür eklemesi yapılmadan etin kendi florasındaki suşlar hakim flora olmaktadır. Elde ettiğimiz sonuçlar incelendiğinde 7 örnekte *L. plantarum* suşu baskın suş olarak görülürken, 3 örnekte *P. acidilactici* suşu baskın olarak görülmektedir. Bu sonuçlara göre geleneksel yollarla üretilen sucuklarda starter kültür görevi gören suşların daha çok *L. plantarum* ve *P. acidilactici* olduğu söylenebilir. Bu starter kültürlerin laktik asit üreterek ürün güvenliğini sağlamalarının yanında tat ve aroma başta olmak üzere ürünün duyu özelliklerinin gelişmesinde de önemli bir rolü vardır. Bu nedenle pek çok ülkede starter kültür üretiminde geleneksel ürünlerden izole edilen ve tanımlanan suşlar kullanılmakta ve halen de bu yöndeki araştırmalara devam edilmektedir (Kamiloğlu, 2016). Çalışmamızda geleneksel sucuklardan izole edilip tanımlanan suşlar da bu yönde yapılacak araştırmalara katkı sağlayabilir.

Fermente et ürünlerinde, laktobasiller içerisinde güvenilirliği, farklı şekerleri kullanabilme yetenekleri, çeşitli ortamlara kolay adapte olabilmesi, sahip olduğu prebiyotik özellik ve ayrıca EPS üretme yetenelerinden dolayı *L. plantarum* türü ön plana çıkmaktadır (de Vries ve ark., 2006). Sonuçlarda da görüldüğü gibi en yüksek EPS üretimi yapan B45 koduna sahip suşun tanımlanması sonucu *L. plantarum* türüne ait olduğu belirlenmiştir. *L. plantarum* suşlarının ürettiği ortalama EPS miktarının kasaplara göre değişimi Çizelge 4.4.'te görüldüğü gibi farklılık göstermektedir. Bu değerlerin istatistiksel olarak hesaplanması sonucu ise suşların ürettiği EPS miktarının kasaplara göre değişimi çok önemli bulunmuştur ($P<0,01$). Bu bilgiler ışığında geleneksel sucukların üretiminde belli bir prosedür izlenmediğinden fermentasyon şartlarının değişkenlik gösterdiği göz önünde bulundurularak aynı suşun farklı fermentasyon şartlarında ürettiği EPS miktarının dikkate değer oranda değişkenlik gösterdiği sonucuna ulaşılabilir.

Çizelge 4.4. *L. plantarum* suşunun farklı kasaplardan elde edilen sucuklardaki ortalama EPS üretimi (ppm)



Üzerinde çalışılan tüm sucuklardan izole edilip tanımlaması yapılan *L. plantarum* suşlarının EPS üretimlerine bakıldığında ise miktarın 20.19 ppm ile 109.10 ppm arasında değiştiği görülmektedir. Literatürde *L. plantarum* suşunun ürettiği EPS miktarlarına bakıldığında; Zehir, (2017), tarhanadan izole ettiği *L. plantarum* suşlarının EPS üretim miktarlarının 521-1166 ppm aralığında değiştiğini tespit etmiştir. Yılmaz, (2018) ise yaptığı çalışmada yine tarhanadan izole edilen *L. plantarum* suşlarının biyoreaktör ortamında ürettiği EPS miktarının 178 ppm ile 377 ppm aralığında değiştiğini tespit etmiştir. Geleneksel peynirlerden izole edilen suşların EPS üretim veriminin araştırıldığı başka bir çalışmada ise EPS üretimi en yüksek suşun *L. plantarum*, en düşük suşun ise *Enterococcus* cinsine ait olduğu bulunmuştur. Burada EPS üretim miktarının ise 57.67 ppm ile 337.19 ppm arasında değiştiği tespit edilmiştir (Uğurlu, 2017). Farklı bir çalışmada ise ekşi hamurdan izole edilen *L. plantarum* (40 adet) türünün ekzopolisakkarit üretim miktarları tespit edilmiş ve EPS üretim miktarının 75.973 ppm ile 411.575 ppm arasında değiştiği tespit edilmiştir (Kara, 2017). Ahi, (2011) çalışmasında *L. plantarum* suşunun 110 ppm EPS ürettiğini tespit etmiştir. Bu çalışmalar elde ettiğimiz sonuçlarla kıyaslanığında geleneksel peynir ve ekşi hamurda *L. plantarum* tarafından üretilen EPS miktarının örtüştüğü, tarhanada ise elde edilen minimum EPS miktarından dahi düşük EPS elde ettiğimiz görülmektedir. Bu durum aynı suşun farklı gıdalarda farklı EPS üretim kabiliyetine sahip olduğunu göstermektedir.

Bununla birlikte bu çalışma literatürle uyum gösterdiğinden *L. plantarum* suşunun EPS üretim kabiliyetinin yüksek olduğunu destekleyen bir çalışma olmuştur.

L. plantarum suşundan sonra en yüksek EPS üretimini gösteren suşun ise *P. acidilactici* olduğu ve ürettiği EPS miktarının 50.32 ppm ile 85.90 ppm arasında değiştiği görülmüştür. Literatürde laktik asit bakterilerinin EPS üretimlerinin araştırıldığı bir çalışmada *P. acidilactici* suşunun 155.15 ppm üretim gösterdiği görülmüştür (Ahi, 2011). Başka bir çalışmada ise aynı suşun 203.29±1.65 ppm EPS ürettiği tespit edilmiştir (Akepaer, 2015). Literatür ile çok yakın bir uyum göstermese de bu suşun çalışmamızdaki 2 farklı sucukta izole edilen tek LAB olduğu ve sucuktaki EPS üretim kabiliyetinin yüksek olduğu görülmektedir.

İzole edilen bir diğer suş olan *P. pentosaceus* suşunun ise 179.55 ppm ile 241.00 arasında EPS üretimi gösterdiği belirlenmiştir (Ahi, 2011; Akepaer, 2015). Sucuktaki EPS üretim miktarı ise 32.69 ppm olarak bulunmuştur. Bu suşun hem sucuk üretiminde starter kültür olarak kullanılmasından hem de tek suşun ürettiği EPS miktarının iyi dercede olmasından tanımlaması yapılmayan diğer 56 suş içerisinde de yer alabileceği düşünülmektedir.

B. subtilis'in günümüzde endüstriyel uygulamalarda sıklıkla kullanılmakta olan bir suş olmasının yanı sıra koruyucu ve prebiyotik özellikleri de bulunmaktadır (Rasmussen ve ark., 2009). Fan ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada; balık bağırsağından izole ettikleri *B. subtilis* suşunun patojenlerin gelişimini inhibe ettiği ve yapay bağırsak ortamları içindeki olumsuz koşullara dirençli olduğunu saptamışlardır (Gao ve ark., 2011). Bilinen 100 *Bacillus spp.* arasında patojen olmayan suşlardan olan *B. Subtilis*'in prebiyotik olarak insan tüketimi için uygun olduğu belirtilmiştir (Urdaci ve ark., 2004; Nithya ve Halami, 2013). Bazı araştırmacılar *Bacillus* türleri tarafından oldukça viskoz ve üstün pseudoplastik özelliklere sahip EPS'lerin üretildiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları bir çalışmada, sudan izole edilen *Bacillus* suşunun (B3-15) ortamda % 0.6 glikoz varlığında 165 ppm EPS ürettiğini bildirmişlerdir (Kuşaklı, 2011). Bu çalışmada da sucuk örneklerinin 3 tanesinde *B. subtilis* suşu tanımlanmış ve EPS üretimlerinin 44,36 ppm ile 70,26 ppm arasında değiştiği tespit edilmiştir. Literatürle kıyaslandığında düşük bir konsantrasyon gibi görünse de sucuk örneklerinde elde edilen yüksek konsantrasyonlardan birine sahip olduğu göze çarpmaktadır. Bu bilgiler ışığında *B.subtilis*'in sucukta kullanımının faydalı olacağı ve bu yüzden ürettiği EPS miktarının da kayda değer olduğu düşünülmektedir.

Farklı sucuklardan izole edilen suşların sucuk bazında çeşitliliğine bakıldığında ise H örneğinde 3 tür; A ve B örneklerinde 2 tür; C, E, F, I ve J örneklerinde ise 1 türe rastlanmıştır. Buradaki çeşitliliğin kullanılan ham maddeden veya fermantasyon koşullarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak; gıda endüstrisinde LAB'nin kullanımının oldukça yaygın olduğu bilinmektedir. Tüketicilerin de doğal ürünlere olan talep artışının; bu suşların ve ürettikleri metabolitlerin önemini giderek artırdığı söylenebilir. Özellikle EPS'nin sağlık üzerine olumlu etkileri ve ticari koruyucuların yerine kullanılabilme özelliklerinin olması LAB'nin ürettiği metabolitler arasında öne çıkmasına sebep olmaktadır. Doğal olarak her suşun verimliliği kullanıldığı gıda ve şartlara göre değişmektedir. Bu çalışmada, sucuk yapılırken kullanılan etin doğal florasına ait olan LAB izole edilmiş, bir kısmı tanımlanmış ve bu bakterilerin çeşitliliği ve EPS üretim kabiliyetleri belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda en yüksek EPS üretimine sahip olan bakterinin B numunesinden alınan *L. plantarum* türüne ait olduğu tespit edilmiş ve genel EPS üretiminin literatürdeki diğer gıdalarla benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca toplamda 4 farklı tür tespit edilmiş ve en fazla suş çeşidi H kasabından elde edilen sucukta (3 tür) gözlemlenmiştir. Burada farklı farklı olarak *B.subtilis* suşu göze çarpmaktadır, sucuk üretiminde özellikle kullanılan bir suş olmamasına rağmen dikkate değer oranda EPS üreten ve koruyucu, prebiyotik gibi farklı özellikleri de olan bu suşun et ürünlerinde kullanımı üzerine araştırmalar yapılabilir. Literatürde EPS üretiminin sucuk üretimindeki etkileri üzerine yeterli çalışma bulunmamaktadır. Fakat çalışmamızda geleneksel yöntemlerle üretilen sucuklardaki LAB'lerin dikkate değer oranda EPS ürettiği görülmüştür. Bu konuda daha fazla çalışma yapılması gerektiği ve bu çalışmanın gelecekte EPS üretiminin sucuktaki etkilerini belirlemek üzerine veya geleneksel yöntemlerle üretilen sucukların kalite özelliklerinin optimizasyonu üzerine yapılabilecek çalışmalara ışık tutacak niteliktedir. Ayrıca Kahramanmaraş piyasasındaki kasaplarda üretilen sucukların Maraş Et Sucuğu olarak tescillenmiş olması da bu ürün üzerine yapılacak çalışmaların artmasını sağlayacağı düşünülmektedir. Bunun dışında bu çalışmada yüksek miktarda EPS ürettiği belirlenen *L. plantarum* ve *P. acidilactici* suşlarının diğer et ürünlerinde starter kültür olarak kullanımı ve bu kullanımın ürünün kalite özellikleri üzerine etkileri ile ilgili çalışmalara da katkı sağlayabilir. Ayrıca araştırmalar içerisinde her suşun ürüne farklı özellikler kattığı ve farklı işlevlerde kullanılabilecek EPS üretebildikleri fark edilmiştir. Buna bağlı olarak çalışmamızda izole edilen suşların ürettikleri EPS türleri ve bunların sucuğun ve diğer et ürünlerinin kaliteleri üzerine etkileri araştırılabilir ya da çalışmamızda kullanılan bazı sucuklarda suş çeşitliliğinin fazla olmasını etkileyen faktörler üzerine de çalışmalar yapılabilir.

EPSler gıdalarda son ürün kalitesine etki eden viskoziteyi arttırıcı, yapıyı düzenleyici, su bağlayıcı, psödoplastik yapı oluşturucu, jel oluşturucu, emülgatör, stabilizatör gibi özellikleri olan GRAS statüsündeki maddelerdir. Buna ek olarak sindirimi düzenleme, anti tümör, anti ülser, prebiyotik ve kolesterol düşürücü özelliklerinden dolayı sağlık üzerine de pozitif etkileri bulunmaktadır. Ayrıca mikrobiyel olarak üretilenlerinin daha hızlı üretilibilmeleri, ürün kalitesine olan etkilerinin verimliliği de değerlerini arttırmaktadır. Bu özellikleriyle ticari katkı maddeleri yerine doğal kaynaklı ürün üretiminde kullanılabilir ve tüketici tarafından daha çok tercih edileceği bilinen ürünler üretilir. Tüm bu sebeplerle sonuç kısmında önerilen çalışmaların yapılmasının EPS kullanımı üzerine yeni uygulamaların ortaya çıkmasını sağlayacağı düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- Ai, L., Guo, Q., Ding, H., Guo, B., Chen, W., Cui, S.W., (2016). Structure characterization of exopolysaccharides from *Lactobacillus casei* LC2W from skim milk. *Food hydrocolloids*, 56, 134-143.
- Ahi, S., (2011). *Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Ekzopolisakkarit (EPS) Üretimi İle Antibiyotik Dirençliliklerinin Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara. 102s.
- Akbaş, Ö., (2009). *Kek Üretiminde Ekzopolisakkaritlerin Kullanımı*. Yüksek Lisans Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Van. 55s.
- Akepaer, M., (2015). *Bazı Enterococcus Lactococcus ve Pediococcus bakterilerinin probiyotik özelliklerinin araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara. 71s.
- Anonim, (2016). Türk Sucuğu, TS-1070/T3. Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara.
- Anonim, (2012). Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği. Tebliğ No: 2012/74, Resmi Gazete, 5 Aralık 2012, Sayı: 28488.
- Ateş, Ö., (2015). Systems biology of microbial exopolysaccharides production. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 3, 200s.
- Ayyash, M., Abu-Jdayil, B., Hamed, F., Shaker, R., (2018). Rheological, Textural, Microstructural And Sensory Impact Of Exopolysaccharide-Producing *Lactobacillus plantarum* Isolated From Camel Milk On Low-Fat Akawi Cheese. *LWT - Food Science and Technology*, 87, 423-431.
- Badel, S., Bernardi, T. ve Michaud, P., (2011). New perspectives for *Lactobacilli* exopolysaccharides, *Biotechnology Advances*, 29, 54–66.
- Bai, L., Wang, L., Ji, S., (2016). Structural elucidation and antioxidant activities of transactions, *Chemical Engineering Transactions*, 55, 61-66.

- Barinov, A., Bolotin, A., Langella, P., Maguin, E., Van ve De Guchte, M., (2011). *Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria: Current Progress in Advanced Research (Chapter:1)*. Caister Academic Press, Portland, USA. 286s.
- Behera, S.S., Ray, R.C., Zdolec, N., (2018). *Lactobacillus plantarum* with functional properties: an approach to increase safety and shelf-life of fermented foods, *Hindawi Biomed Research International*, 1-18.
- Behare, P., Singh, R., Singh, R.P., (2009). Exopolysaccharide-producing mesophilic lactic cultures for preparation of fat free Dahi- an Indian fermented milk. *Journal of Dairy Research*, 76, 90-97.
- Bengoa, A.A., Llamas, M.G., Iraporda, C., Duenas, M.T., Abraham, A.G., Garrote, G.L., (2018). Impact of growth temperature on exopolysaccharide production and probiotic properties of *Lactobacillus paracasei* strains isolated from kefir grains. *Food Microbiology*, 69, 212-218.
- Blagojev, N., Skrinjar, M., Moracanin, S.V., Soso, V., (2012). Control of mould growth and mycotoxin production by lactic acid bacteria metabolites. *Romanian Biotechnological Letters*, 17(3), 7219-7226.
- Caggianiello, G., Kleerebezem, M., Spano, G., (2016). Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria from health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 3877-3886.
- Cerning, J., (1995). Production of Exopolysaccharides by Lactic Acid Bacteria And Dairy Propionibacteria. *Le Lait*, 75(4-5), 463-472.
- Chung, M., Kim, D., A., Herr, A.E., (2014). Polymer sieving matrices in microanalytical electrophoresis, *Analyst*, vol.135, pp.5635-5654.
- Dağ, S., (2016). *Laktik asit bakterilerinden sentezlenen ekzopolisakkaritlerin buğday suyu özelliklerine etkisinin incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul. 109s.
- Demir, E., Kaygusuz, E., Kılıç, G., Yüce, S., Soyuçok, A., (2017). Yoğurt Örneklerinden İzole Edilmiş Laktik Asit Bakterilerinin Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması ve

Ekzopolisakkarit Üretimlerinin Belirlenmesi. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 8(Ek Sayı 1), 262-267.

Demiral, E., (2014). *Ekzopolisakkarit oluşturan kültürlerle üretilen yağlı ve düşük yağlı beyaz peynirin tekstür, mikroyapı ve diğer özelliklerinin tespiti*. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Erzurum. 131s.

Demirok, E., Kolsarıcı, N., (2010). Et ve Ürünlerinde Konjuge Linoleik Asit ve Önemi. <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/78302>.

Dertli, E., Yılmaz, M.T., Tatlısu, N.B., Toker, O.S., Cankurt, H., Sağdıç, O., (2016). Effects of in situ exopolysaccharide production and fermentation conditions on physicochemical, microbiological, textural and microstructural properties of Turkish-type fermented sausage (sucuk). *Meat Science*, 121, 156-165.

De Vries, M., Vaughan, E.E., Kleerebezem, M., and de Vosa, W.M., (2006). Review Lactobacillus plantarum survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract. *International Dairy Journal*, 16, 1018-1028.

Donot, F., Fontana, A., Baccou, J.C., ve Schorr-Galindo, S., (2012). Microbial exopolysaccharides: main examples of synthesis, excretion, genetics and extraction. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 951-962.

Dos Santos Cruzen, C.E., Funck, G.D., Haubert, L., da Silva Dannenberg, G., de Lima Marques, J., Chaves, F. C., Fiorentini, A.M., (2019). Selection of native bacterial starter culture in the production of fermented meat sausages: Application potential, safety aspects, and emerging technologies. *Food Research International*, 122, 371-382.

Erkmen, O., Bozoğlu, T.F., (2008). *Food Microbiology-1*. İlke Yayınevi. ISBN: 978-605-5983-13-0, Ankara. 336s.

Erten, H., Ağırman, B. Gündüz, C.P.B., Çarşamba, E., Sert, S., Bircan, S., Tangüler, H., (2014). Importance of yeasts and lactic acid bacteria in food processing, in A. Malik et al. (Eds.). *Food Processing: Strategies for Quality Assessment*, 351-360.

- Evren, M., Apan, M., Tutkun, E., Evren, S., (2011). Geleneksel fermente gıdalarda bulunan laktik asit bakterileri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 9(1), 11-17.
- Fan, Y., Zhao, L., Ma, Q., Li X., Shi, H., Zhou, T., Zhang, J., Ji, C., (2013). Effects of *Bacillus subtilis* ANSB060 on growth performance, meat quality and aflatoxin residues in broilers fed moldy peanut meal naturally contaminated with aflatoxins. *Food and Chemical Toxicology*, 59:748-753.
- Feldmane, J., Semjonovs, P., Ciprovica, I., (2013). “Potential of exopolysaccharides in yoghurt production” In Proceedings of World Academy of Science, *Engineering and Technology*, 80p. 299.
- Freitas, F., Alves, V.D. ve Reis, M.A.M., (2011). Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to Biotechnological applications. *Trends Biotechnol*, 29, 388-398.
- Gao, X., Ma, Q., Zhao, L., Lei, Y., Shan, Y., Ji, C., (2011). Isolation of *Bacillus subtilis*: screening for aflatoxins B-1, M-1, and G(1) detoxification. *European Food Research and Technology*, 232: 957-962.
- Gök, V., (2006), *Antioksidan Kullanımının Fermente Sucukların Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Etkileri*. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara. 145s.
- Gürbüz, S., Güngör, A. Ç., (2018). Mardin’de Satışa Sunulan Geleneksel Fermente Sucukların Bazı Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özellikleri. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 7, 28-32.
- İspirli, H., (2016). *Erzincan tulum peynirinden laktik asit bakterilerinin (LAB) izolasyonu, moleküler metotlarla tanımlanması ve ekzopolisakkarit (EPS) üretim potansiyellerinin genetik olarak belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Bayburt. 125s.
- Kaban, G., (2007). *Geleneksel olarak üretilen sucuklardan laktik asit bakterileri ile katalaz pozitif kokların izolasyonu-identifikasyonu, üretimde kullanılabilme imkanları ve uçucu bileşikler üzerine etkileri*. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Erzurum. 116s.

- Kamiloğlu, A., (2016). *Yerel Lactobacillus plantarum* suşlarının antagonistik aktiviteleri ile teknolojik özelliklerinin belirlenmesi ve fermente sucuk üretiminde *Listeria monocytogenes*'in gelişimine etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Erzurum. 88s.
- Kanmani, P., Satish kumar, R., Yuvaraj, N., Paari, K. A., Pattukumar, V. and Arul, V., (2011). Production and purification of a novel exopolysaccharide from lactic acid bacterium *Streptococcus phocae* PI80 and its functional characteristics activity in vitro. *Bioresour Technol*, 102(7), 4827-4833.
- Kaushik, J.K., Kumar, A., Duary, R.K., Mohanty, A.K., Grover, S., Batish, V.K., (2009). Functional And Probiotic Attributes of An Indigenous Isolate Of *Lactobacillus plantarum*, *Plos One*, 4, 8099.
- Kara, Ü., (2017). *Ekzopolisakkarit üreten laktik asit bakterilerinin ekmek kalitesine etkisi*. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Kahramanmaraş. 84s.
- Karaca H., Dinçer E., Kıvanç M., (2010). Metabolik Mühendisliğinde Laktik Asit Bakterileri, *Akademik Gıda* 8 (1): 32-38.
- Karasu, E.N., (2019). *Lactobacillus brevis E25 suşlarından elde edilen ekzopolisakkaritlerin bazı gıda tozlarının yapışma özellikleri üzerine etkisi*. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul. 67s.
- Khalil, S.E., Manap, Y.M., Mustafa, S., Mehrnosuh, Alhelli, A.M., Aljoubori, A., (2017). Probiotic characteristics of exopolysaccharides-producing *Lactobacillus* isolated from some traditional Malaysian fermented foods. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1401007>.
- Kılıç, N.K., Dönmez, G., (2019). Farklı Ortam Koşullarının *Micrococcus* sp. Ekzopolisakkarit Üretimine Etkisi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*. 40-46. Doi: 10.35414/akufemubid.387249.
- Kılınç, A.E., (2016). *Ekzopolisakkarit üreten laktik asit bakterilerinin yoğurtta kullanım potansiyellerinin belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Kahramanmaraş. 41s.

- Kıran, F., Osmanagaoglu, O., (2011). Laktik asit bakterilerinin (LAB) identifikasyonunda /tiplendirmesinde kullanılan moleküler yöntemler. *Erciyes University Journal of Institute of Science and Technology*, 27(1): 62-74.
- Kırma, İ., (2016). Gıda kaynaklı laktik asit bakterileri kullanılarak ekzopolisakkarit üretimi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul. 131s.
- Kim, K., Lee, G., Thanh, H. D., Kim, J. H., Konkit, M., Yoon, S., Park, M., Yang, S., Park, E., Kim, W., (2017). Exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* LRCC5310 offers protection against rotavirus-induced diarrhea and regulates inflammatory response, *Journal of Dairy Science*, 101, 1–11.
- Korkmaz, A., (2005). *Yağ İçeriği Ayarlanmış Sütlerden Ekzopolisakkarit Üreten Kültürlerle Üretilen Stirred Yoğurtların Bazı Özellikleri*. Yüksek Lisans Tezi. Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Şanlıurfa. 68s.
- Kumar, A. S., Mody, K., Jha, B., (2007). Bacterial exopolysaccharides- a perception. *Journal of Basic Microbiology*, 47, 103-117.
- Kurt, Ş., (2006). *Sucuğun bazı özellikleri ve biyogen amin oluşumu üzerinde fermentasyon süresi, nitrit seviyesi ve ısıtma işlem sıcaklığı etkisi*. Doktora Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Van. 116s.
- Kuşaklı, S., (2011). *Bacillus subtilis'in peyniraltı suyu içerisinde fermentasyonu ile polisakkarit ve surfaktin üretiminin araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Sakarya. 61s.
- Leroy F., Verluyten J., De Vuyst L., (2006). Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 106, 270-285.
- 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, 67-78.
- Luang In, V., Deeseenthum, S., (2016). Exopolysaccharide-producing isolates from Thai milk kefir and their antioxidant activities. *LWT - Food Science and Technology*. 73: 592-601.

- Maniatis T, Fritsch EF, Sambrook J., (1982). Molecular Cloning: a laboratory manuel. 1st. Ed, New York: Cold Spring Harbor Laboratory. 32-32.
- Manjula, A., Sathyavathi, S., Gunasekaran, P., Rajendhran, J., (2011). Comparison of seven methods of DNA extraction from termitarium forfunctional metagenomic DNA library construction. *Journal of scientific and industrial research*, 70: 945-951.
- Marshall, V.M. And Rawson, H.L., (1999). Effects of Exopolysaccharide Producing strains of thermophilic lactic acid bacteria an texture of sirred yoghurt. *Int. J. Food Sci Technol.* 34, 137-143.
- Mıdık, F., (2011). *Bazı laktik asit bakterilerinin ekzopolisakkarit (EPS) üretimi yönünden incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara. 68s.
- Milci, S. ve Yaygin, H., (2005). Laktik asit bakterileri tarafından üretilen ekzopolisakkaritler ve süt ürünlerindeki fonksiyonları. <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/79480>
- Nithya, V., Halami, P., (2013). Evaluation of the probiotic characteristics of *Bacillus* species isolated from different food sources. *Annals of Microbiology*, 63:129- 137.
- Nwodo, U.U., Green, E., Okoh, A.I., (2012). Bacterial exopolysaccharides: Functionality and prospects. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(11), 14002-14015. doi: 10.3390/ijms131114002.
- Oluk, C.A., (2013). *Düşük yağlı tulum peyniri üretiminde ekzopolisakkarit üreten kültür kullanımının kalite özellikleri üzerine etkileri*. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana. 164s.
- Öner, E.T., (2013). Microbial Production of Extracellular Polysaccharides from Biomass. *Pretreatment Techniques for Biofuels and Biorefineries, Green Energy and Technology*, 35-56.
- Öztan, A., (2011). Et Bilimi ve Teknolojisi. Gıda Mühendisleri Odası Yayınları Kitaplar Serisi Yayın No:1, Ankara. 495s.
- Patel, A., Prajapat, J.B., (2013). Food and health applications of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Advances in Dairy Research*, 1, 1-8.

- Pehlivanoglu, H., Nazli, B., Imamoğlu, H. and Çakır, B., (2015). Piyasada Fermente Sucuk Olarak Satılan Ürünlerin Kalite Özelliklerinin Saptanması ve Geleneksel Türk Fermente Sucuğu ile Karşılaştırılması. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 41(2), 191-198.
- Pektaş, S., (2014). *Süt ve süt ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin ekzopolisakkarit üretim yeteneklerinin araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi. Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Eskişehir. 187s.
- Pham, P.L., Dupont, I., Roy, D., Lapointe, G., Cerning, J., (2000). Production of exopolysaccharide by *Lactobacillus rhamnosus* R and analysis of its enzymatic degradation during prolonged fermentation, *Applied And Environmental Microbiology*, 66(6), 2302-2310.
- Prajapati, V.D., Jani, G.K., Zala, B.S. ve Khutliwala, T.A., (2013). An insight into the emerging exopolysaccharide gellan gum as a novel polymer. *Carbohydrate Polymers*, 93, 670-678.
- Rasmussen, S., Nielsen, H.B., Jarmer, H., (2009). The transcriptionally active regions in the genome of *Bacillus subtilis*, *Molecular Microbiology*, 73(6), 1043–1057.
- Sadullahoğlu, H., (2010). *Öğütülmüş Çeşitli Bitki Tohumlarının Sucuğun Bazı Kalite Özelliklerine Etkisi*. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Konya. 122s.
- Sanaliababa, P., Çakmak, G.A., (2016). Exopolysaccharides Production by Lactic Acid Bacteria. *Applied Microbiology: Open Access*, 2(2). Doi: 10.4172/2471-9315.1000115.
- Serin, Y., (2016). *Bakteri kaynaklı ekzopolisakkaritlerin viskoziteye etkisinin belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul. 116s.
- Shi, Z., Zhang, Y., Phillips, G.O., Yang, G., (2014). Utilization of bacterial cellulose in food, *Food Hydrocolloids*. 35, 539-545.

- Siezen, R.J., Tzeneva, V.A., Castioni, A., Wels, M., Phan, H.T., Rademaker, J.L., Starrenburg, M.J., Kleerebezem, M., Molenaar, D. and Van Hylckama Vlieg, J.E., (2010). Phenotypic and genomic diversity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from various environmental niches, *Environmental Microbiology*, 3, 758-773.
- Soyuçok, A., Ekiz, T., Başıyğit-Kılıç, G., (2016). Nisan. Ekzopolisakkaritlerin özellikleri ve gıda endüstrisindeki önemi. <http://dx.doi.org/10.17100/nevbiltek.211029>.
- Sutherland, I.W., (1972). Bacterial Exopolysaccharides. *Advances in Microbial Physiology*, 8, 143-213.
- Şengül, M., (2001). *Tulum Peynirinden İzole ve İdentifiye Edilen Bazı Laktik Asit Bakterisi Suşlarının Starter Kültür Özellikleri ve Peynirlerin Bazı Özelliklerinin Tespiti*. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Erzurum. 30-31.
- Taşdelen, E., (2018). *Ekzopolisakkarit üreticisi Lactobacillus plantarum suşlarının tarhananın kalite özellikleri üzerine etkileri*. Yüksek Lisans Tezi. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Denizli. 74s.
- Torino, M.I., Font de Valdez, G., Mozzi, F., (2015). Biopolymers from lactic acid bacteria. Novel applications in foods and beverages. *Frontier in Microbiology*, 6, 1–16.
- Torino, M., Taranto, M., Sesma, F. and Valdez, G., (2001). Heterofermentative pattern and exopolysaccharide production by *Lactobacillus helveticus* 15807 in response to environmental pH. *Journal of Applied Microbiology*, 91(5), 846-852.
- Tosun, F., (2016). *Ekzopolisakkarit Üreten Laktik Kültürlerin Tereyağı, Yayı Tereyağı ve Kaymağın Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi*. Doktora Tezi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Kayseri. 194s.
- Turhan, E. and Enginkaya, Z., (2016). Probiyotik gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 22 (7), 620-624.

- Turhan, Ö., (2010). *Küflü Sucuklarda Mikrofloranın Belirlenmesi ve Küf Gelişmesi Üzerine Maya İzolatlarının Etkisinin İncelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul. 89s.
- Tutar, U., Sümer, Z., Yıldırım, G., ve Çelik, C., (2014). Sivas'ta üretilen sucukların maya ve küf yönünden periyodik olarak incelenmesi. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 9, 89-95.
- Uğurlu, Ö., (2017). *Geleneksel peynirlerden izole edilen laktik asit bakterilerinin ekzopolisakkarit üretme potansiyellerinin moleküler olarak belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Kahramanmaraş. 56s.
- Urdaci, M.C., Bressollier, P., Pinchuk, I., (2004). *Bacillus clausii* probiotic strains: Antimicrobial and immunomodulatory activities. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 38: 86–90.
- Ünal, K., Karakaya, M., (2017). Farklı Hayvansal Yağlar İlave Edilerek Üretilen Sucukların Bazı Fizikokimyasal Özellikleri Üzerine Karanfıl ve Tarçının Etkisi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14 (03), 55-65.
- Yıldız, S., (2019). *Yoğurt kaynaklı laktik asit bakterilerinin starter kültür ve ekzopolisakkarit üretim özelliklerinin incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Erzurum. 69s.
- Yıldız, S.Y., (2011). *Investigation of exopolysaccharide production capacity of thermophilic microorganisms isolated from Turkey*. Thesis for the Degree of Master of Science. Marmara University, Institute for Graduate Studies in Pure and Applied Sciences. İstanbul. 109s.
- Yılmaz, T., (2018). *Lactobacillus plantarum* suşları tarafından üretilen ekzopolisakkaritlerin sağlık üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Denizli. 93s.
- Yılmaz, M.T., Yetim, H., Arıcı, M., Sağdıç O., (2014). Ekzopolisakkarit (EPS) üreten laktik asit bakterilerinin bazı gıdaların tekstürel, reolojik ve mikroyapısal özelliklerine

etkisi. Tübitak Projesi. Program Kodu: 1001 Proje No: 112O169. İstanbul.
<http://www.food.yildiz.edu.tr/media/files/p1.pdf>

Yörük, G.N. ve Güner, A., (2011). Laktik Asit Bakterilerinin Sınıflandırılması ve *Weissella* Türlerinin Gıda Mikrobiyolojisinde Önemi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*. 6(2), 163-176.

Zannini, E., Waters, D.M., Coffey, A., Arendt, E.K., (2016). Production, properties and industrial food application of lactic acid bacteria derived exopolysaccharides. *Applied Microbiology and Biotachnology*. 100, 1121-1135.

Zehir, D., (2017). *Tarhanadan İzole Edilen Bazı Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Ekzopolisakkaritlerin Karakterizasyonu*. Yüksek Lisans Tezi. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Denizli. 85s.

Zhang, Z., Liu, Z., Tao, X., Wei, H., (2016). Characterization and sulfated modification of an exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* ZDY2013 and its biological activities. *Carbohydrate Polymers*, 153, 25-33.

Wang, X., Shao, C., Liu, L., Guo, X., Xu, Y., Lu, X., (2017). Optimization, partial characterization and antioxidant activity of an exopolysaccharide from 77 *Lactobacillus plantarum* KX041. *International Journal of Biological Macromolecules*, 103, 1173-1184.

Wang, K., Li, W., Rui, X., Chen, X., Jiang, M., Dong, M., (2014). Structural characterization and bioactivity of released exopolysaccharides from *Lactobacillus plantarum* 70810. *International journal of biological macromolecules*, 67, 71-78.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı soyadı :Zeynep KURT
Uyruğu :T.C.
Doğum yeri ve tarihi :13.03.1990 Altındağ
Medeni hali :Bekar
E posta :znpkrt@hotmail.com.tr

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	KSÜ/ Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı	2019
Pedagojik Formasyon	Yıldız Teknik Üniversitesi/Eğitim Fakültesi	2015
Lisans	GAZÜ/Gıda Mühendisliği Bölümü (İngilizce)	2013
Lise	Abdülkadir Konukoğlu Lisesi	2008

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Kurt, Z., Turgay, Ö. 2019. Ekzopolisakkaritlerin Gıda Endüstrisindeki Kullanımı, 1. Uluslararası/11. Ulusal Gıda Mühendisliği Kongresi, 7-9 Kasım 2019, Antalya, Türkiye.

Projeler

KSÜ BAP projesi, “Kahramanmaraş Piyasasında Üretilen Türk Tipi Fermente Sucuklarda Ekzopolisakkarit Üreten Mikroorganizmaların Tespiti” Proje No: 2019/4-9 YLS.

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2015-Halen	Özel Gaziantep OSB MTAL	Gıda Teknolojisi Öğretmeni
2013-2014	Kanuni Sultan Süleyman MTAL	Gıda Teknolojisi Öğretmeni