



**EV YAPIMI VE ENDÜSTRİYEL OLARAK ÜRETİLEN
YOĞURTLARIN MİKROBİYOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE POTANSİYEL
PROBİYOTİK SUŞLARIN BELİRLENMESİ**

Haktan AKTAŞ

**Yüksek Lisans Tezi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Prof. Dr. Bülent ÇETİN
2018**

Her hakkı saklıdır

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**EV YAPIMI VE ENDÜSTRİYEL OLARAK ÜRETİLEN
YOĞURTLARIN MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ VE POTANSİYEL PROBİYOTİK SUŞLARIN
BELİRLENMESİ**

Haktan AKTAŞ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ERZURUM
2018**

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü



TEZ ONAY FORMU

**EV YAPIMI VE ENDÜSTRİYEL OLARAK ÜRETİLEN YOĞURTLARIN
MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE POTANSİYEL
PROBİYOTİK SUŞLARIN BELİRLENMESİ**

Prof. Dr. Bülent ÇETİN danışmanlığında, Haktan AKTAŞ tarafından hazırlanan bu çalışma, 05/07/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak ~~oybirliği~~ /oy çokluğu (.../...) ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR

İmza:

Üye: Prof. Dr. Bülent ÇETİN

İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Engin GÜNDOĞDU

İmza:

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu'nun 19./7./2018 tarih ve 29.../23... nolu kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Mehmet KARAKAN
Enstitü Müdürü

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

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

EV YAPIMI VE ENDÜSTRİYEL OLARAK ÜRETİLEN YOĞURTLARIN MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE POTANSİYEL PROBİYOTİK SUŞLARIN BELİRLENMESİ

Haktan AKTAŞ

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Bülent ÇETİN

Geleneksel bir ürünümüz olan, ülkemizde ve dünyada farklı çeşitleri ile yaygın olarak tüketilen yoğurdun mikrobiyotası sağlıklı beslenme açısından önem arz etmektedir. Ancak yoğurdu oluşturan bakterilerin büyük çoğunluğunun mide ve bağırsak bariyerlerini geçememesi probiyotik etkisi ile ilgili bazı soru işaretleri doğurmaktadır. Bu çalışmada geleneksel olarak üretilen yoğurt örneklerinden mide ve safra bariyerlerini geçebilen muhtemel probiyotik suşların izolasyonu amaçlanmaktadır. Bu amaçla geleneksel ve endüstriyel olarak üretilmiş toplam 50 yoğurt örneği üzerinde bazı mikrobiyolojik ve fizikokimyasal analizler gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizler sonucu örneklerle ait ortalama muhtemel laktik basil, muhtemel laktik kok, maya-küf, koliform, pH ve % asitlik (laktik asit) miktarları sırası ile 6,56; 4,96; 2,19; <1; 3,74 ve %1,17 bulunmuştur. İzolatların suş bazında farklılıklarının ortaya koyulması amacı ile (GTG)₅ parmak izi profilleri elde edilmiştir. Moleküler seviyede 11 farklı suşun varlığı belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen toplam 198 suşun %24,2'sinin mide ve safra bariyerini geçebildiği ve ilgili probiyotik yeterliğe sahip olduğu görülmüştür. İzolatların 4 farklı *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve 7 farklı *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* suşuna ait olduğu tespit edilmiştir.

2018, 65 sayfa

Anahtar Kelimeler: yoğurt, probiyotik, (GTG)₅ parmak izi

ABSTRACT

Master Thesis

INVESTIGATION OF MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF TRADITIONAL AND INDUSTRIAL YOGHURTS AND DETECTION OF POTENTIAL PROBIOTIC STRAINS

Haktan AKTAŞ

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Bülent ÇETİN

Yoghurt, which is a traditional product widely consumed with different varieties in our country and in the world, is important for healthy nutrition. However, most of the bacteria originated from yoghurt can not pass through the stomach and intestinal barriers and this situation cause some problems on probiotic effect of the product. The aim of this study is to isolate probiotic strains from traditional yoghurt samples, which can pass through stomach and bile barriers. For this purpose, some microbiological and physicochemical analyzes have been applied on a total of 50 traditional and industrial yoghurt samples. As a result of the analyzes, the means of probable lactic bacilli and cocci, yeast-mold, coliform, pH and acidity (lactic acid) values of the samples were 6.56; 4.96; 2.19; <1; 3.74 and 1.17%, respectively. Strain-based differences of isolates were determined by using (GTG)₅ fingerprint profiles. 11 different strains in total 198 isolates were determined by molecular techniques. It was observed that 24.2% of the 198 strains isolated in the study were able to pass the stomach and bile barriers and had probiotic efficacy. The isolates were determined as 4 different *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and 7 different *Streptococcus salivarius* subsp. *termophilus* strains.

2018, 65 pages

Keywords: yoghurt, probiotic, GTG₅ fingerprinting

TEŞEKKÜR

Tezimin oluŐması, planlanması, yapılması ve sonuçlanmasında desteğini esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Bülent ÇETİN'e,

Her zaman yanımda olan Ablam, EniŐtem ve KardeŐime,

Tez çalıŐmalarım sırasında bana yardımcı olan Sayın ArŐ. Gör. Hacer MERAL'e teŐekkürlerimi sunarım.

Haktan AKTAŞ

Haziran, 2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar	4
1.2. Probiyotik Mikroorganizmalar Kullanılarak Üretilen Ürünler	7
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	15
3. MATERYAL ve METOD.....	21
3.1. Materyal.....	21
3.2. Metod.....	22
3.2.1. Mikrobiyolojik analizler	23
3.2.1.a. Laktik asit bakterilerinin sayımı	23
3.2.1.b. Maya-küf sayımı.....	23
3.2.1.c. Koliform grubu bakteri sayımı	24
3.2.1.d. LAB izolasyonu.....	24
3.2.2. LAB'ların probiyotik özelliklerinin belirlenmesi.....	27
3.2.2.a. Mide ortamına dayanıklılık	27
3.2.2.b. Safra tuzlarına dayanıklılık	28
3.2.3. LAB'ların moleküler tanısı	28
3.2.3.a. İzolatların tekrar canlandırılması	29
3.2.3.b. İzolatlardan DNA izolasyonu	29
3.2.3.c. İzolatların moleküler yöntemlerle gruplandırılması ve tanısı.....	30
3.2.4. Fizikokimyasal Analizler	31
3.2.4.a. pH	31
3.2.4.b. % Asitlik tayini.....	31

3.2.5. İstatistik analizler	32
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	33
4.1. Mikrobiyolojik Bulgular.....	33
4.2. Probiyotik Özellik Test Bulguları	39
4.3. Moleküler Tanı Bulguları	52
4.4. Fizikokimyasal Bulgular	56
5. SONUÇ	59
KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİŞ	66



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

°C	Santigrat Derece
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
d	Dakika
g	Gram
kob	Koloni Oluşturan Birim
log	Logaritma
M	Molarite
mL	Mililitre
N	Normalite
nm	Nanometre
pH	Asitlik Bazlık Birimi (Power of hydrogen)
s	Saniye
V	Volt

Kısaltmalar

DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
FAO	Food and Agriculture Organization
GİS	Gastrointestinal Sistem
GRAS	Generally Recognized As Safe
HCl	Hidroklorik Asit
ITS	Internal Transcribed Spacer
LAB	Laktik Asit Bakterileri
NaCl	Sodyum Klorür
NaOH	Sodyum Hidroksit

NCBI	Nation Center for Biotechnology Information
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDA	Potato Dekstroze Agar
RAPD	Rastgele Amplifiye Edilmiş Polimerik DNA
rDNA	Ribozomal Deoksiribozomal Nükleik Asit
RNA	Ribonükleik Asit
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
SFTS	Steril Fizyolojik Tuzlu Su
TE	Tris-EDTA
UV	Ultraviole
VRB	Violet Red Bile
WHO	World Health Organization

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Evlerde yapılan yoğurtların üretim şekli	12
Şekil 1.2. Endüstriyel olarak üretilen yoğurtların üretim şekli.....	13
Şekil 3.1. Safılaştırma işlemi için üçlü çizim yapılan suşlar	25
Şekil 3.2. Mikroskopik gözlemleri yapılan ve farklı hücre tipine sahip <i>Streptococcus thermophilus</i> 28S2 (solda) ve <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> 22M1 (sağda) suşları	26
Şekil 3.3. İzole edilen suşların safra tuzlarına dayanıklılık testlerinde kullanılan plate.	28
Şekil 3.4. Bazı suşlara ait 260/280 nm dalga boylarında alınan absorbans değerlerinin oranı	30
Şekil 4.1. Laktik basil gruplarından farklı DNA parmak izine (fingerprint) sahip izolatların agaroz jel görüntüsü	52
Şekil 4.2. Laktik kok gruplarından farklı DNA parmak izine (fingerprint) sahip izolatların agaroz jel görüntüsü	53
Şekil 4.3. 16S-rDNA PCR işlemine ait temsili parmak izi sonuçları	53

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Bazı probiyotiklerin keşif zamanları	2
Çizelge 1.2. Bazı geleneksel fermente ürünlerde bulunan LAB'lar.....	8
Çizelge 1.3. 2010-2016 yılları arası Türkiye’de yoğurt tüketimi için harcanan yıllık hanehalkı bütçe araştırması sonuçları	10
Çizelge 3.1. Denemede kullanılan yoğurtların üretim şekilleri ve elde edildikleri kaynaklar	21
Çizelge 4.1. Yoğurt örneklerinden elde edilen mikrobiyolojik sayım sonuçları	34
Çizelge 4.2. Yoğurt örneklerinden izole edilen laktik kokların fenotipik ve bazı probiyotik özellikleri	41
Çizelge 4.3. Yoğurt örneklerinden izole edilen laktik basillerin fenotipik ve bazı probiyotik özellikleri	46
Çizelge 4.4. Laktik Basil İzolatlarının Genetik Tanı Sonuçları.....	54
Çizelge 4.5. Laktik Kok İzolatlarının Genetik Tanı Sonuçları	55
Çizelge 4.6. Yoğurt numunelerinin fizikokimyasal analiz sonuçları.....	58

1. GİRİŞ

Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ile Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) ortak olarak oluşturdukları tanıma göre; probiyotikler, yeterli miktarlarda alındıklarında konakçı üzerinde yararlı etkilere sahip olan tek veya karışık kültürden oluşan canlı mikroorganizmalardır. Probiyotiklerin tarihi, Rus bilim adamı Ellie Metchnikoff'un bağırsak florasını modüle etmek için laktik asit bakterilerini (LAB) kullanma fikrini savunduğu 20. yy başına kadar uzanmaktadır. O zamandan beri, insan sağlığını geliştirmek için probiyotik alanında yoğun bir araştırma yürütülmüş ve bu uygulamalar doğrultusunda keşfedilen probiyotik suşların belirlendiği tarihsel dönemler Çizelge 1.1'de sunulmuştur (Priyodip *et al.* 2017).

Bakterilerin probiyotik olarak kullanılması için, patojenik, invazif, kanserojen olmama, bağırsak epitelyumuna yapışma, gastrik asiditeye dirençli olma, bağırsak sindirimi sırasında gıda matriksinde kararlı olma, immünomodülasyonda yardımcı ve belirli bir süre boyunca kolonize olabilme gibi özelliklere sahip olması gerekmektedir. Ayrıca, belirlenen hedefe karşı etkili olmalı ve safra tuzu hidrolaz aktivitesi göstermelidirler (Priyodip *et al.* 2017).

Çizelge 1.1. Bazı probiyotiklerin keşif zamanları (Priyodip *et al.* 2017)

1980-1994	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bacillus subtilis</i> (1907) • <i>Lactobacillus acidophilus</i>, <i>Bifidobacterium adolescentis</i> (1989) • <i>Lactobacillus casei</i> (1991) • <i>Bifidobacterium animals</i>, <i>Enterococcus hirae</i> (1992) • <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> (1992) • <i>Enterococcus faecium</i> (1994)
1995-2000	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bifidobacterium bifidum</i>, <i>Bifidobacterium breve</i>, <i>Bifidobacterium longum</i>, <i>Bifidobacterium angulatum</i> (1995) • <i>Lactobacillus salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i>, <i>Lactobacillus brevis</i> subsp. <i>coagulans</i> (1996) • <i>Lactobacillus johnsonii</i>, <i>Bacillus coagulans</i> (1998) • <i>Bacillus licheniformis</i>, <i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> (1999) • <i>Lactobacillus fermentum</i>, <i>Lactobacillus rhamnosus</i> (2000)
2000-	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Lactobacillus plantarum</i> (2001) • <i>Leuconostoc mesenteroides</i> (2002) • <i>Escherichia coli</i> (2003) • <i>Bifidobacterium pseudocatenulatum</i> (2004) • <i>Bifidobacterium infantis</i> (2006) • <i>Pediococcus pentosaceus</i>, <i>Bifidobacterium catenulatum</i>, <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (2008) • <i>Enterococcus durans</i> (2009)

Probiyotik olarak en yaygın kullanılan mikroorganizmalar olan LAB'lar, yoğurt ve diğer fermente süt ürünlerinde, bağırsak sağlığı üzerinde yararlı etkiler sağlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır (He *et al.* 2017). Sağlık üzerindeki belirtilen yararlı etkilerin gözlenebilmesi için probiyotik bakterilerin en az 10^6 kob/g (koloni oluşturan birim/gram) yoğunluklarda bulunması gerekmektedir. En önemli gereksinimler, üründe yeterli sayıda probiyotik bakterinin canlılığı ve sağkalımıdır. Düşük pH, safra asidi ve buzdolabında depolama dâhil olmak üzere süt ürünlerinde probiyotik bakterilerin varlığını etkileyen bir dizi faktör olduğu iddia edilmiştir. Ayrıca, insan mide geçişine direnç, probiyotik bakteriler için önemli bir seçim kriteri oluşturmaktadır (Cho *et al.* 2013). Probiyotik mikroorganizmaların üründeki sayılarının önemine rağmen, bazı

çalışmalar probiyotik bakterilerin çeşitli probiyotik ürünlerde yeterli sayıda bulunmadığını göstermiştir. Asitlik, oksijen varlığı, ambalajın oksijen geçirgenliği ve bakteriler tarafından sentezlenen antimikrobiyal maddelere karşı duyarlılık gibi bazı faktörlerin, fermente süt ürünlerindeki probiyotik mikroorganizmaların canlı sayıları üzerinde etkili olabileceği bildirilmiştir (Gobbetti *et al.* 2010).

Probiyotiklerin yararlı etkilerine olan inanç, bağırsak florasının insanları enfeksiyona karşı koruyabileceği ve bu floranın olumsuz etkilenmesinin (dizbiyozis) enfeksiyona karşı duyarlılığı artırabileceği bilgisine dayanmaktadır. Çok sayıda *in vivo* ve *in vitro* çalışma, normal bağırsak florasının patojen ve fırsatçı mikroorganizmalara karşı son derece etkili bir engel olduğunu göstermiştir (Fuller 1991). Mikrobiyotanın istenen olumlu özellikleri göstermesinde rol alan probiyotik bakterilerin yararlı etkileri arasında; kandaki kolesterol seviyesini azaltmaları, antioksidan ve inhibisyon bileşiklerini artırmaları yer almaktadır. Bunların yanında, bu bakterilerin kolon kanserinin önlenmesinde olumlu etkilere sahip olduğu da bilinmektedir (Niamah *et al.* 2017).

Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak kabul edilebilmesi için gastrointestinal sistem koşullarında (GİS) canlı kalması ve patojen enfeksiyonlarına karşı koruma yeteneğine sahip olması gerekir. Bunların yanında, insanlar üzerindeki faydaları için yeterli kanıt bulunması da gerekmektedir (De Sant'Anna *et al.* 2017). LAB tarafından gösterilen önemli probiyotik aktiviteler; rekabet, antagonizm ve konak immün etkileri gibi konakçının doğal savunma mekanizmalarını güçlendirerek patojenik bakteriyel enfeksiyona karşı korumadır (Puupponen-Pimia *et al.* 2002).

Birçok mikroorganizma, probiyotik olarak düşünölmekte veya kullanılmaktadır. Konakçıdaki hedef bölgelerde genellikle canlı ve biyolojik olarak aktif mikroorganizmaların olması gerektiğinden dolayı, probiyotiklerin, konakçının doğal engellerine dayanabilmesi çok önemlidir. En yaygın olarak kullanılan probiyotikler, LAB'ların *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ve *Streptococcus* suşlarıdır. *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*'un yararlı etkileri yıllar boyunca tartışılmıştır. Bu iki cins içindeki

bakteriler gastrik aside, safra tuzlarına ve pankreatik enzimlere dirençlidir, bağırsak mukozasına yapışır ve bağırsak sisteminde kolayca kolonize olurlar. Bunlar gastrointestinal floranın önemli bileşenleri ve zararsız olarak kabul edilirler. LAB'ların, *Salmonella Typhimurium* (*S. Typhimurium*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Escherichia coli* (*E. coli*), *Clostridium perfringens* (*C. Perfringens*) ve *Clostridium difficile* (*C. difficile*) gibi birçok enterik patojenin in vitro ortamda gelişimini inhibe ettikleri ve birçok gastrointestinal rahatsızlığı tedavi edebildikleri kanıtlanmıştır (Rolfe 2000).

Mikroorganizmaların tanılanması mikrobiyolojik çalışmalarda önem arz etmektedir. Tanılamada kullanılan çeşitli kimyasal ve moleküler yöntemler bulunmaktadır. Gram boyama, katalaz testi, oksijen ihtiyacı, şekerleri parçalama gibi birçok kimyasal testin yanında moleküler temelli metodlar da tanılama işlemi için kullanılmaktadır. Son zamanlarda, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), aynı türün bakteriyel suşlarının ve bakterilerin tanımlanmasında kullanılan yüksek güçlü moleküler araçlardan biri haline gelmiştir. PCR işlemi, canlının DNA dizisi üzerinde belirli bir bölgenin spesifik primerler ile çoğaltılması esasına dayanmaktadır (Kathleen *et al.* 2014).

1.1. Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar

Bağırsak sağlığını geliştirmek için probiyotik kullanımı uzun yıllardır önerilmektedir. Probiyotikler geleneksel olarak, alındıklarında spesifik patolojik durumların önlenmesinde ve tedavisinde yararlı bir etkiye sahip olan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır. Bağırsak bozukluklarını önlemek veya tedavi etmek için probiyotik kullanımını destekleyen oldukça geniş bir literatür hacmi mevcuttur. Bununla birlikte, probiyotik kullanımının bilimsel temeli son zamanlarda sağlam bir şekilde kurulmuştur ve birçok klinik çalışma yayınlanmaya başlanmıştır. Günümüzde en çok çalışılan probiyotikler arasında LAB'lar ve özellikle de *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsleri yer almaktadır. Eubacteriales takımının, Streptococcaceae ve Lactobacillaceae familyalarına ait olan; *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Tetragonococcus*, *Vagococcus*, *Weissella*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Aerococcus*, *Oenococcus* ve

Pediococcus cinsi bakteriler LAB'ları oluşturmaktadırlar. Patojenik suşlar hariç, LAB'lar, en uygun probiyotik adayı olarak kabul edilirler. Çünkü bunlar sağlıklı insan bağırsağının doğal florasında ve aynı zamanda birçok süt ürününde ve geleneksel fermente gıdalarda bulunmaktadırlar. Bununla birlikte, insanlarda probiyotik olarak kullanılan diğer organizmalar arasında *E. coli*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bacteroides*, *Bacillus*, *Propionibacterium* gibi bakteriler ve *Sacharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii* ve *Aspergillus oryzae* gibi çeşitli funguslara ait suşlar da bulunmaktadır (Rolfe 2000; Evren vd 2011; Kaur *et al.* 2017; Jahangiri *et al.* 2018).

Çok sayıda araştırma, LAB'ların gastrointestinal fonksiyonu iyileştirebildiğini, insan vücudunda mikrobiyotik dengeyi koruyabildiğini, yiyeceklerin sindirilebilirliklerini artırdığını ve bağışıklığı geliştirdiğini göstermiştir. Bunların yanında, serum kolesterolünü azaltabildikleri ve endotoksin oluşumunu kontrol edebildikleri de bilinmektedir (Yang *et al.* 2017).

LAB'lar genel olarak, spor oluşturmada yüksek bir laktik asit konsantrasyonu elde etmek için karbonhidratları (%50'den fazla glukoz kullanarak) fermente edebilen gram (+), katalaz-negatif, pigment oluşturmeyen, fakültatif anaerob ve hareket kabiliyetine sahip olmayan bakteriler olarak karakterize edilirler. LAB'lar *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* ve en az 23 diğer cinsi içerir (Erkkila and Petaja 2000). Probiyotik mikroorganizmalar; fermantasyonlarda kullanılan starterler, gıda katkı maddeleri ve ilaçların uygun bir alternatifi olarak kullanılabilir. Araştırmacılar, süt ürünlerinin tüketiciye sağlık yararı sağlayan uygun probiyotik araçlar olduğunu bildirmişlerdir. İnsanları, özellikle de gastrointestinal sistemin kolonize mukozal yüzeylerinde meydana gelen enfeksiyonlardan koruyabilirler (Meira *et al.* 2015). LAB'ların GİS'de yoğun olarak buldukları kabul edilmesi nedeniyle bazı araştırmacılar bağırsak orijinli suşların tercihen probiyotik olarak kullanılmak üzere seçilmesi gerektiğini bildirmişlerdir (Vizoso Pinto *et al.* 2006). Düşük pH, safra asitleri ve sindirim enzimlerine direnç dahil olmak üzere bu bakterilerin hayatta kalması ve kolonizasyonu çeşitli faktörlere bağlı olduğundan diyet yardımcıları olarak kullanılabilirliği için LAB'ların seçiminde söz konusu faktörler göz önünde

bulundurulmalıdır (Iyer and Kailasapathy 2005). Bununla birlikte, birçok çalışma bir probiyotiğin önemli özelliklerinin düşük pH ve yüksek safra tuzlarında hayatta kalma oranı olduğunu ileri sürmektedir (Brink *et al.* 2006). Yapılan bir çalışmada, insan mide sıvısı kullanılarak insan sindirimine benzer koşullar altında pH değerleri 2,5 ile 3,5 arasında tutulan in vitro ortamda LAB'ların hayatta kalma potansiyeli karşılaştırılmış ve uygun safra tuzu konsantrasyonu %0,15-0,3 olarak önerilmiştir (Boke *et al.* 2010; Evren vd 2011; Jahangiri *et al.* 2018).

LAB'lar normal gastrointestinal mikrofloranın dengesinin korunmasında önemli rol oynarlar. Bununla birlikte, diyet, stres, mikrobiyal enfeksiyon ve diğer hastalıklar gibi faktörler doğal dengenin bozulmasına bu da genellikle canlı laktik basil ve bifidobakterilerin sayısında bir azalmaya yol açabilir. Patojenik bakterilerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması, diyare, kanser ve inflamatuvar hastalık gibi diğer klinik bozukluklara neden olabilir (Fuller 1989; Fooks *et al.* 1999; Brink *et al.* 2006).

Probiyotik LAB'ların temel özelliklerinden biri, epitelyal hücelere veya bağırsak mukusuna yapışmasıdır. Bu tutunmanın gerçekleşmesinde, epitel hüceleri ve bakteriyel yüzeylerdeki reseptör molekülleri arasında güçlü bir etkileşim söz konusudur. Probiyotik hücrelerin yapışması patojenlerin yapışmasını önler ve bağışıklık sistemini uyarır. LAB'ların gram (+) ve bazı gram (-) bakteriler üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği bilinmektedir (Salminen *et al.* 1996; Brink *et al.* 2006).

Önemli bir maya türü olan *Saccharomyces boulardii* (*S. boulardii*), birçok ülkede gastrointestinal bozukluklar için koruyucu ve tedavi edici bir suş olarak kullanılmaktadır. *S. boulardii*, in vivo ve in vitro olarak bir dizi mikrobiyal patojenin gelişimini inhibe etmesi ve gastrointestinal sistemden etkilenmeden geçmesi gibi birçok özelliği sayesinde potansiyel bir probiyotik olarak kabul edilir. Optimum gelişme sıcaklığı 37°C'dir. Bunların yanında, bu maya; tedavinin sonunda hızlı bir şekilde ortamdaki uzaklaştırılabildiği ve antibiyotik tedavisinden etkilenmediği bildirilmiştir (Rolfe 2000).

1.2. Probiyotik Mikroorganizmalar Kullanılarak Üretilen Ürünler

Modern tüketiciler kendi kişisel sağlıklarına giderek daha fazla önem vermekte ve yedikleri yiyeceklerin lezzetli-çekici olmasının ötesinde güvenli ve sağlıklı olmasını da beklemektedirler. Beslenme ve sağlık arasındaki ilişkinin önemi anlaşıldıkça birçok tüketici, besleyici yönü öne çıkarılan gıdaları yedikten sonra kendilerini iyi hissetmek ve sağlıklı kalmak için de bir beklentiye girmektedirler. Günümüzde yoğun bilimsel araştırmalarla desteklenen sağlık ürünleri, büyük ilgi uyandırmaya devam etmekte ve gelecekteki büyüme potansiyelini ortaya koymaktadır (Puupponen-Pimia *et al.* 2002).

LAB'lar, hastalığa karşı dirençte önemli rolleri ve GRAS (Generally Recognized As Safe) olarak algılanmalarından dolayı en yaygın olarak kullanılan probiyotiklerdir (Thamacharoensuk *et al.* 2017). LAB'lar güvenli olarak algılanmalarından dolayı gıdaların yanında hayvan yemlerinde de önemli bir rol oynamaktadırlar. Bu suşlar; doğal mikroflora, probiyotik starter veya koruyucu kültür olarak kullanılmak üzere ya geleneksel fermantasyon sürecini ya da yeni fonksiyonel gıdaların üretimini geliştirmek amacıyla kullanılırlar. Fermente ürünlerde çoğunlukla kullanılan LAB'lar Çizelge 1.2'de gösterilmiştir (Ojha *et al.* 2015). Et fermantasyonlarında, istenmeyen mikroorganizmaların gelişmesini engelleyen ve ürüne daha fazla güvenlik ve diğer fonksiyonel faydalar sağlayan kontrollü asidifikasyon oluşturmak için probiyotikler sıklıkla kullanılmaktadır.

Çizelge 1.2. Bazı geleneksel fermente ürünlerde bulunan LAB'lar (Evren vd 2011)

Ürün	LAB isimleri
Peynir	<i>Lactococcus lactis</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>L. cremoris</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>L. delbrueckii</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>Pediococcus acidilactici</i> , <i>Pe. pentosaceus</i> , <i>Leuconostoc dextranicum</i>
Yoğurt	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Enterococcus durans</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i>
Tereyağı	<i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i> , <i>Streptococcus</i> sp., <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> ssp. <i>casei</i> , <i>Lactobacillus paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> (<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>dextranicum</i>), <i>Leuconostoc gelidum</i> (<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>mesenteroides</i>), <i>Leuconostoc paramesenteroides</i>
Kefir	<i>L. bulgaricus</i> , <i>Streptococcus lactis</i> , <i>S. durans</i> , <i>L. cellobiosus</i> , <i>S. avium</i> , <i>S. cremoris</i> , <i>Lactobacillus kefir</i> , <i>Lactobacillus kefirgranum</i> , <i>Lactobacillus parakefir</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. delbrueckii</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. fructivorans</i> , <i>L. hilgardi</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. viridescens</i> , <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Leuconostoc</i> sp., <i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Kıymız	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>L. acidophilus</i>
Sucuk	<i>L. plantarum</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. pentosus</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. brevis</i> , <i>Pediococcus pentosaceus</i> , <i>P. acidilactici</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Leuc. cmesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides/dextranicum</i> , <i>Leuc. lactis</i> , <i>L. sake</i> , <i>L. viridescens</i> , <i>L. agilis</i> , <i>L. carnis</i> , <i>L. casei</i> subs. <i>rhamnosus</i>
Pastırma	<i>Lactobacillus pentosus</i> , <i>Lactobacillus sakei</i>
Boza	<i>Leuconostoc paramesenteroides</i> , <i>L. mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i> , <i>Lactobacillus coryniformis</i> , <i>L. confusus</i> , <i>Lactobacillus sanfrancisco</i> , <i>L. fermentum</i>
Tarhana	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>
Şalgam	<i>L. sanfranciscensis</i> , <i>L. pontis</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. alimentarius</i> , <i>L. fructivorans</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. fermentum</i>
Turşu	<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> (<i>L. pentoaceticus</i>), <i>L. plantarum</i> , <i>Pediococcus pentosaceus</i>

Birçok fermente üründe olduğu gibi sucukta da LAB'lar hâkim flora olarak görülmektedir. Sucuk, bu LAB'lar içerisinde de en çok *L. plantarum*, *L. sake* ve *L. curvatus* türlerini bulundurmaktadır. Sucuğun kendisine has özelliklerinin kazandırılmasında bu mikroorganizmalar önemli rol oynamaktadırlar. LAB'lar tarafından şekerlerin indirgenmesi sonucu aroma gelişimi sağlanmaktadır. Bunların yanında pH'yı düşürerek ürünün daha hızlı kurumasına, nitrit parçalanması ve tipik

rengin oluşumuna da katkıda bulunmaktadırlar. *L. plantarum*'un oluşturduğu bazı metabolitlerin (laktik asit ve H₂O₂); *E. coli*, *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*), *S. aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) gibi patojenik bakterileri inhibe ettiği belirlenmiştir (Evren vd 2011).

Boza, alkol oranı düşük olan diğer bir fermente üründür. Bozada hâkim flora olarak çeşitli LAB'lar bulunmaktadır. Bunların yanında mayalar da doğal flora içerisinde yer almaktadır. Tarhanada ise spontan veya dışarıdan ilave edilen mayaların ve yoğurt bakterileri olarak da bilinen *Streptococcus thermophilus* (*S. thermophilus*) ve *Lactobacillus bulgaricus* (*L. bulgaricus*) suşlarının faaliyetleri sonucunda oluşan laktik asit, etil alkol ve CO₂ ürüne özgü tat ve aroma oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Tarhananın içerisinde bulunan laktik asit, pH'nın düşmesini sağlamaktadır ve bu düşük pH nedeniyle üründe istenmeyen mikroorganizma gelişiminin engellendiği öne sürülmüştür. Bunun yanında tarhanada bulunan LAB'lar, besin öğelerinin daha kolay sindirilmesine olanak sağlamaktadır (Zorba vd 2003; Evren vd 2011).

Şalgam geleneksel bir Türk içeceği. Şalgamın fermentasyonunda başta LAB'lar (*L. sanfranciscensis*, *L. pontis*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. alimentarius*, *L. fructivorans*, *L. reuteri*, *L. fermentum*) olmak üzere ekşi maya (*S. cerevisiae* ve az miktarda *S. exiguus*, *Candida krusei* ve *Candida milleri*) kullanılmaktadır. Şalgamın kendine has kırmızı renginin oluşmasında bu fermentasyonun etkisinin büyük olduğu saptanmıştır (Evren vd 2011).

Türkiye'de genellikle sebzelerin fermente edilmesiyle üretilen ürüne "Turşu" denir. Türkiye'de en yaygın olarak fermente edilen sebze lahana, salatalık, havuç, pancar, yeşil domates, biber ve şalgamdır. Bununla birlikte, turp, fasulye, soğan gibi farklı sebzeler de kullanılabilir. Turşunun fermentasyonunda yer alan mikroorganizmalar *Leuconostoc mesenteroides* (*Leu. mesenteroides*), *L. brevis*, *Pediococcus pentocaceus* (*P. pentocaceus*) ve *L. plantarum*'dur. Turşu fermentasyonunda ana mikroorganizma *L. plantarum*'dur. Genel

olarak turşu, Türkiye'de başlangıç kültürü kullanmayan küçük aile işletmeleri tarafından üretilmektedir (Cetin 2011).

Yoğurt en eski fermente süt ürünlerinden birisi olup kökeninin Orta Asya olduğu düşünülmektedir. Ayrıca uzun zamandır tüketiciler için arzu edilen birçok etkiye sahip bir ürün olarak kabul edilmiştir (Zhao *et al.* 2006; Dincel 2012).

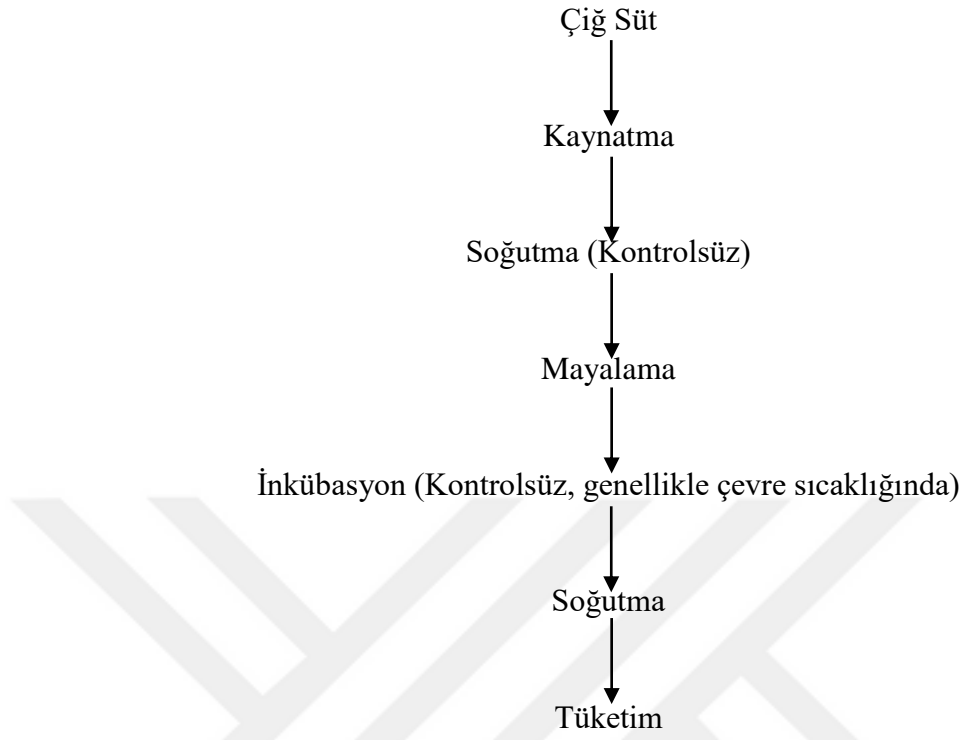
Yoğurdun kolesterol düşürücü etkisinin, içerisinde bulunan LAB'lar sayesinde olduğu düşünülmektedir. Laktik asit fermentasyonu sonucu oluşan laktik asit ve diğer antibakteriyel maddelerin ise, bağışıklık sistemini güçlendirdiği, yoğurt bakterilerinin indol ve sketol gibi bazı bileşikler üreterek zararlı bakterileri engellediği öne sürülmüştür. Bunların yanında, bu maddelerin özellikle hamilelikte kan basıncı üzerinde düzenleyici etkisinin olduğu da belirtilmektedir (Evren vd 2011). Yoğurdun sağlık üzerinde bu yararlı etkileri ve geleneksel fermente bir ürünümüz olması nedeniyle ülkemizde oldukça fazla tüketilmektedir. Son yıllarda ülkemizde yoğurt tüketimi için hanehalkı bütçesinden yapılan harcama rakamlarını gösteren değerler Çizelge 1.3'de verilmiştir.

Çizelge 1.3. 2010-2016 yılları arası Türkiye'de yoğurt tüketimi için harcanan yıllık hanehalkı bütçe araştırması sonuçları (TÜİK 2018)

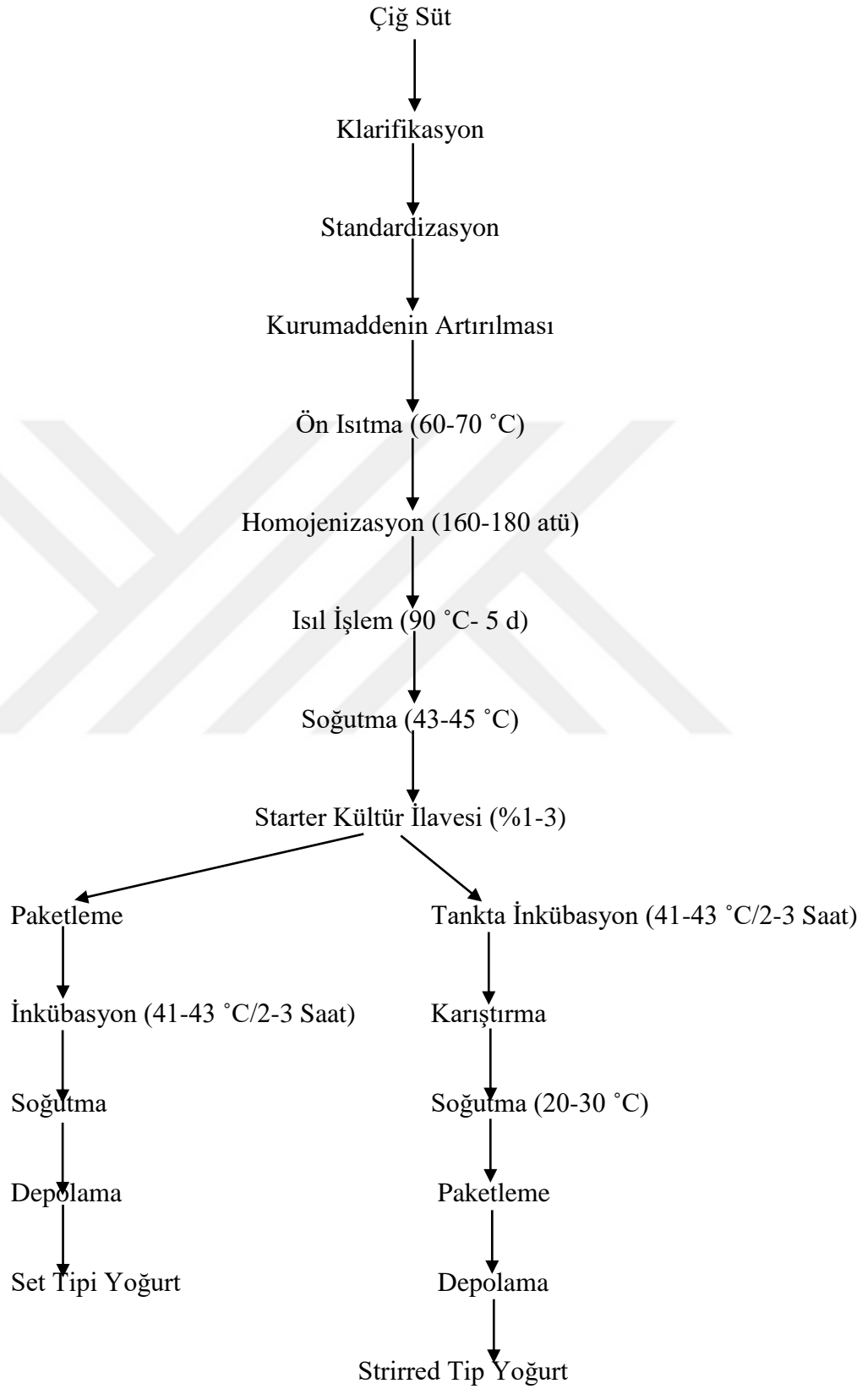
	Anket Yılı						
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Harcama (Milyon TL)	225	238	267	285	309	335	382

Yoğurt üretiminde, starter kültür olarak *S. thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kullanılmaktadır. Bu iki kültür yoğurt üretimi için kombinasyon halinde kullanılır, çünkü bu iki bakteri arasında simbiyotik bir ilişki vardır. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, proteolitik aktivitesi sonucu ortama valin, glisin ve histidin gibi amino asitleri salgılar. Böylece, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *S. thermophilus*'un gelişimi için uygun bir ortam oluşturur. Daha sonra ise *S. thermophilus*, CO₂ ve piruvat üreterek

L. delbrueckii subsp. *bulgaricus*'un gelişimini teşvik eder. Fermantasyon sırasında, bu iki bakteri farklı gelişim eğrileri gösterirler. Başlangıçta, *S. thermophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un yardımıyla daha hızlı bir üreme göstermektedir. Daha sonra asitlikteki artışla beraber, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* sayısında bir artış meydana gelir. Son olarak, bu iki bakteri aktivitesi ile sütün pH'sı 6,3-6,5'ten 4,6'nın altına düşer. Bu pH azalmasının bir sonucu olarak protein molekülleri, protein koagülasyonu da denilen, izoelektrik noktada çöker. Bu bakterilerin faaliyetleri sadece yoğurt oluşumu sağlamakla kalmaz, aynı zamanda asetaldehit, diaseton, aseton, asetik, kaprik ve kaprilik asitler, uçucu yağ asitleri ve ekzopolisakkaritleri de üreterek yoğurdun tadı, aroması ve yapısını da etkilemektedir (Dincel 2012). Aşağıda ev (Şekil 1.1) ve endüstriyel (Şekil 1.2) tip yoğurtların üretimlerine ait akış şeması görülmektedir.



Şekil 1.1. Evlerde Yapılan Yoğurtların Üretim Şekli (Demirci ve Simsek 1997)



Şekil 1.2. Endüstriyel Olarak Üretilen Yoğurtların Üretim Şekli (Demirci ve Simsek 1997)

Yoğurt ülkemizde bol miktarda tüketilen geleneksel bir ürünümüzdür. Sevilerek tüketilen ve sağlık üzerine olumlu etkileri olan yoğurt bu özelliğini içerdiği bakterilere borçludur. Dolayısıyla ile bu bakterilerin belirlenmesi ve daha iyi özelliklere sahip ürün üretimine katkı sağlayacak bilgi ve mikroorganizma koleksiyonu oluşturmak üzere yapılan çalışmalar özel öneme sahiptir.

Bu çalışmanın amacı; yoğurt üretiminde starter kültür olarak kullanılacak probiyotik özellikte suşların izolasyonu ve tanımlanmasıdır. Bu amaçla Erzurum ilinden elde edilen ev yapımı ve endüstriyel yoğurt örnekleri mikrobiyolojik analize tabi tutulmuştur. Yapılan çalışma çerçevesinde probiyotik özellik ve starter kültür açısından incelenmek üzere yoğurt bakterilerini içeren bir kültür koleksiyonu hazırlanmıştır. Böylece yoğurt açısından starter ve probiyotik alanında daha ileri çalışmaların yapılması için temel çalışma materyalleri oluşturulmuştur. Bunlara ek olarak; ev ve endüstriyel olarak üretilmiş bazı yoğurt örnekleri arasındaki mikrobiyolojik farkın ortaya konulması da çalışma kapsamında amaçlanan hedeflerden biridir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

İnsan sağlığının korunması ve fermente ürünlerin oluşumunda oynadıkları önemli roller nedeniyle, LAB'lar çalışmaların odak noktası haline gelmiştir. Çeşitli kaynaklardan elde edilen LAB'ların izolasyonu, tanısı ve probiyotik olarak kullanılabilme olanaklarının araştırıldığı çalışmalara ait sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

Tulumoglu (1996) tarafından yapılan çalışmada, İstanbul'un Silivri bölgesinden 15 yoğurt örneği toplanmış ve izole edilen LAB'ların metabolik ve antimikrobiyal aktivitelerinin test edilmesi amaçlanmıştır. Toplanan örneklerden 60 suş izole edilmiş ve bu suşların *L. bulgaricus* (25), *L. lactis* (5), *S. thermophilus* (24) ve *Streptococcus* sp. (6) olduğu tespit edilmiştir.

Bölükbaşı (2007) tarafından yapılan çalışmada, yoğurt bakterilerinin tanımlanması ve bu suşların bazı özelliklerinin tespit edilerek ayran üretimi için uygun starter kültürün belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, Trakya bölgesinde bulunan köylerden 47 yoğurt örneği toplanmıştır. Toplanan yoğurtların ev yapımı olmasına dikkat edilmiştir. Yoğurt örneklerinden uygun besiyerlerine ekim yapılmış ve toplamda 24 ayrı LAB izole edilmiş ve API 50 ve API 20 Strep testleri uygulanarak izolatların tanımlanması yapılmıştır. Tanımlama sonuçlarına göre izolatların; *S. thermophilus*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Enterococcus faecium*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis* olduğu tespit edilmiştir.

Erkus (2007) tarafından yürütülen çalışmada, "Toros" bölgesinden toplanan ve geleneksel yöntemlerle üretilmiş yoğurt örneklerinde bulunabilecek LAB'ların izolasyon ve tanımlanması amaçlanmıştır. Bu amaçla 14 yoğurt örneği toplanmış, toplamda 400 izolat elde edilmiş ancak, saflaştırma ve muhafaza işlemleri sırasında hassas olan suşların kayıplarından dolayı 137 izolat ile çalışmaya devam edilmiştir. Biyokimyasal ve moleküler tanımlamalar sonucunda, bu izolatların 66 tanesinin kok, 71

tanesinin ise basil olduğu tespit edilmiştir. Basil olanların tamamının *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, kok olanların ise 7 tanesinin tipik *S. thermophilus* olduğu anlaşılmıştır.

Demir vd (2017) yoğurt bakterilerinin moleküler yöntemlerle tanımlanmasını amaçlayan bir çalışma yürütmüşlerdir. Bu kapsamda, Akdeniz bölgesinin farklı illerinde üretilen ev veya küçük çaplı işletme yoğurtlarından 40 adet toplanmış, toplanan numunelerde mikrobiyolojik analizler yapıldıktan sonra 55 adet LAB izole edilmiştir. Toplanan numunelere mikrobiyolojik analizler yapıldıktan sonra 55 adet LAB izole edilmiştir. Moleküler tanımlama için 16S-ITS rDNA bölgesi PCR yöntemiyle çoğaltılmıştır. Tanımlama sonuçlarına göre, bu izolatlardan, 50 tanesinin *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, 2 tanesinin *L. helveticus*, 2 tanesinin *Enterococcus faecium* ve 1 tanesinin *P. acidilactici* olduğu tespit edilmiştir.

Kuzey Irak bölgesinden bazı fermente ürünlerin toplanarak LAB'ların izolasyon ve tanımlanmasının amaçlandığı çalışma Al-Bayati (2014) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda; 26 peynir, 2 yoğurt ve 1 sosis olmak üzere toplam 29 fermente ürün toplanmıştır. Uygun mikrobiyolojik analizler sonucunda 141 potansiyel LAB izole edilmiştir. 16S rDNA sekans sonuçlarına göre bu fermente ürünlerden yaygın 2 LAB cinsinin (*Enterococcus spp.* ve *Streptococcus spp.*) ve 1 türün (*Enterococcus durans*) yaygın olarak bulunduğu belirlenmiştir.

Okuklu (2014) tarafından yapılan çalışmada, Urla bölgesinden toplanan doğal yoğurtlardan elde edilen suşların tanımlanması ve probiyotik özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır. 13 farklı doğal yoğurt örneği toplanmış ve bu örneklerden 473 suş izole edilmiştir. Bu izolatların probiyotik özelliklerinin araştırılması için katalaz, düşük pH toleransı, simüle insan gastrik suyu, farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim, safra tuzu toleransı, antibiyotik direnç profilleri, yapışma kabiliyeti ve prebiyotik varlığında gelişim gibi testler uygulanmıştır. Bu suşlardan 5 *S. thermophilus* ve 26 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* potansiyel probiyotik olarak belirlenmiştir.

İspirli ve Dertli (2017) ise yaptıkları çalışmada, Bayburt ilinin çeşitli hanelerinden toplanmış olan yoğurt örneklerinden LAB'ların izole edilmesi ve tanımlamasını amaçlamışlardır. Toplanan yoğurt örneklerinden uygun besiyerlerine ekim yapılmış ve toplam 150 suş izole edilmiştir. 16s rDNA tanı işlemi sonrasında bu izolatların 21 farklı suş olduğu belirlenmiştir. Bunlardan 4 tanesinin *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, 9 tanesinin *S. thermophilus*, 2 tanesinin *Leu. mesenteroides* ve 6 tanesinin ise *L. plantarum* olduğu tespit edilmiştir.

Demirci (2017) yaptığı çalışmada, Ağrı ilinin 5 farklı köyünden 11 yoğurt numunesi toplamış ve bu örneklerden toplam 28 izolat elde etmiştir. Bu izolatlara morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve antibiyotiğe direnç testleri uygulanmıştır. Moleküler testler kapsamında ise 16S rDNA gen bölgesi PCR ile çoğaltılmış ve sekans verileri elde edilmiştir. Sekans sonuçlarına göre %99 benzerlik oranı ile bu izolatların *Sphingonomas* sp., *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *L. casei* ve *L. paracasei* olduğu tespit edilmiştir.

Fermente gıdalardan laktik asit bakterilerini izolasyonu önemine atfen oldukça yaygın olarak çalışılan bir konudur. Mikrobiyal gelişim sonucu oluşan ve aşağıda belirtilen ürünlerde de izolasyon çalışmaları yapılmış ve moleküler metodlarla tanı işleminin gerçekleştirildiği görülmüştür.

Argyri *et al.* (2013) tarafından yapılan çalışmada, fermente zeytinden izole edilen LAB'ların potansiyel probiyotik olarak kullanılabilme olanakları araştırılmış, bu amaçla izole edilen 71 LAB'ın; 17'sinin *Leu. mesenteroides*, 1'inin *Leu. pseudomesenteroides*, 13'ünün *L. plantarum*, 37'sinin *L. pentosus*, 1'inin *L. paraplantarum* ve 2 tanesinin *L. paracasei* subsp. *paracasei* olduğu tespit edilmiştir. Daha sonraki aşamalarda ise probiyotik özellik için çeşitli testler uygulanmış, 3 *L. pentosus*, 4 *L. plantarum* ve 2 *L. paracasei* subsp. *paracasei* suşunun, 3 saat düşük pH'ya maruz kaldıktan sonra en yüksek son popülasyon miktarını gösterdiği bildirilmiştir. İlâveten çalışılan suşların büyük bir kısmının 4 saatlik bir inkübasyon sonucunda bile safra tuzlarına karşı dirençli olduğu belirlenmiştir.

Papamanoli *et al.* (2003) iki tip fermente kuru sosis örneklerinden elde ettikleri 147 LAB'ın tanımlaması ve probiyotik özelliklerinin araştırılmasını amaçlamışlardır. Bu doğrultuda yapılan çalışmalar sonucunda, bu izolatların çoğunlukla, *L. sakei* (49), *L. curvatus* (24), *L. plantarum* (7), *Weissella viridescens* (*W. viridescens*), *Leu. pseudomesenteroides* ve *Leuconostoc* sp. olduğu tespit edilmiştir. İzolatların probiyotik özelliklerinin araştırılması amacıyla tuzlu ortamda gelişim, safra tuzlarına karşı direnç, bazı patojenlere karşı inhibisyon etkisi gibi testler de uygulanmıştır. Bu testler sonucunda, izolatların büyük bir çoğunluğunun asetat agarda %6,5 tuz konsantrasyonunda gelişebildikleri bulunmuştur. Ayrıca, izolatların çoğunluğunun %0,1 safra tuzu konsantrasyonuna dayanabildiği saptanmışken, %0,3 safra konsantrasyonuna *L. curvatus* izolatlarının %58'i *L. plantarum* türlerinin ise tamamının dayanabildikleri anlaşılmıştır. Bunların yanında, *L. sakei*, *L. curvatus* ve *L. plantarum* türlerinin; 3 *Listeria monocytogenes* ve 2 *S. aureus* suşuna karşı antagonistik etkiye sahip oldukları belirlenmiştir.

Muyanja *et al.* (2003) yaptıkları çalışma ile geleneksel bir Uganda içeceği olan "bushera"dan elde edilen LAB'ların izole edilmesi ve bu izolatların tanımlanmasını amaçlamışlardır. Geleneksel yöntemlerle fermente olmuş 15 örnekten toplam 351 izolat elde edilmiş ve bunların içerisinde 113 izolat seçilmiştir. Bu izolatlara tanımlama testi olarak API 50 CHL kiti kullanılmış ve tanımlama sonuçlarına göre izolatların; *Lactobacillus*, *Streptococcus* ve *Enterococcus* cinslerine ait oldukları belirlenmiştir.

Cho *et al.* (2013), Kore'nin geleneksel fermente bir ürünü olan Kimçinin farklı bölgelerden toplanması ve bu üründen elde edilen LAB'ların tanımlanmasına dayanan bir çalışma yürütmüşlerdir. İzole edilen 106 suşun fenotipik ve genotipik tanıları yapılmış ve 16S rDNA gen tanımlama sonuçlarına göre bu suşların; *L. paracasei*, *L. casei* ve *L. plantarum* olduğu tespit edilmiştir. Daha sonra, tanımlanması yapılan bu suşlar üzerinde asitlik ve safra toleransı testleri yapılmıştır. Buna göre, asitliğe gösterilen toleransta geniş bir değişiklik olduğu, ancak safra için suşlar arasında önemli bir farklılığın gözlemlenmediği saptanmıştır. Analiz sonucunda, *L. paracasei* ve *L. plantarum* asitliğe karşı en dirençli suşlar olarak belirlenmiştir.

İspirli (2016) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, Erzincan şehrinin farklı bölgelerinde bulunan köylerden toplanan Tulum peynirlerinden LAB'ların izolasyonu ve moleküler metotlarla tanımlanması amaçlanmıştır. Bu amaçla üreticilerin kendilerinden olmak üzere toplam 12 örnek toplanmıştır. Bu örnekler dilüsyon yöntemi ile uygun seyreltmeler yapıldıktan sonra besiyerlerine ekim yapılmış ve 272 izolat elde edilmiştir. İzolatların fingerprintlerinin değerlendirilmesi ile elde edilen agaroz jel sonuçlarına göre 80 ayrı bant elde edilmiştir. Sekans sonuçlarına göre, bu izolatların 23 farklı tür ve 70 farklı suşa ait olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda tulum peynirinden izole edilen bu türlerin *L. plantarum*, *L. brevis*, *Lactococcus lactis*, *S. thermophilus*, *L. crustorum*, *L. paracasei*, *W. paramesenteroides* oldukları tespit edilmiştir.

Wang *et al.* (2016) tarafından yapılan çalışmada, Moğolistan'ın Baotou ve Bayannur şehirlerinden fermente süt ürünlerinden LAB'ların izolasyonu ve tanımlanması amaçlanmıştır. Bu amaçla 66 fermente süt örneği toplanmış ve 237 izolat elde edilmiş, 142 izolat basil olarak (*Lactobacillus* spp.), 95 izolat ise kok olarak (*Enterococcus* spp., *Lactococcus* spp., *Leuconostoc* spp.) tanımlanmıştır. Tanımlama için ise, 16S RNA tanımlama metodu kullanılmıştır.

Arslan (2017) tarafından yapılan çalışmada, Erzurum (Merkez, Hasankale, Tekman) ve çevre illerin (Kars, Karaman, Konya ve Van) çeşitli bölgelerinden toplanan Beyaz peynir örneklerinden elde edilen LAB'ların izolasyonu, tanımlanması ve moleküler karakteristiklerinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Mikrobiyolojik analizler sonucunda toplamda 42 izolat elde edilmiştir. İzolatların genotipik tanımlanması amacıyla 16S rDNA tanımlama işlemi uygulanmıştır. Bunun sonucu olarak, toplanan Beyaz peynir örneklerinden izole edilen LAB'ların çoğunlukla; *Enterococcus faecium*, *L. kefir*, *L. paraplantarum*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. buchneri*, *L. brevis*, *L. paracasei* subsp. *paracasei*, *L. plantarum* subsp. *plantarum* oldukları tespit edilmiştir.

Oz vd (2017) yaptıkları çalışmada, farklı üreticilerden geleneksel yöntemlerle üretilmiş 14 pastırma örneği toplanmış ve LAB'ların izolasyonu ve tanımlanması amaçlanmıştır.

Örneklerden 106 LAB izole edilmiş ve bunların tanımlanması için 16S rDNA tanılama yöntemi kullanılmıştır. Sekans sonuçlarına göre; *L. sakei*, *W. cibaria* ve *W. confusa* baskın LAB'lar olarak tespit edilmiştir.

Bai and Ji (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, Doğu Moğolistan bölgesinden toplanan kıymız örneklerinden 55 LAB izole edilmiştir. Elde edilen izolatlar üzerinde morfolojik testlerin yanında gram boyama ve katalaz testleri de uygulanmıştır. 16S rDNA sekans sonuçlarına göre ise, bu izolatların *L. helveticus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. delbrueckii*, *Enterococcus durans*, *Leu. lactis* ve *Leu. mesenteroides* oldukları tespit edilmiştir.

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

Yoğurt örnekleri Erzurum ili merkez ve bazı ilçelerinden toplanmıştır. Numune toplamada daha çok evlerde yapılmış yoğurtların seçilmesine dikkat edilmiştir. Çalışma kapsamında toplam 50 örnek (36 evlerde, 14 endüstriyel olarak üretilmiş yoğurt örneği) toplanmış olup, numuneler steril kavanozlarda ve soğuk zincir kırılmadan hızlıca laboratuvara getirilmiş ve analize kadar 4°C’de muhafaza edilmiştir. Denemede kullanılan yoğurt örnek çeşitleri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Denemede kullanılan yoğurtların üretim şekilleri ve elde edildikleri kaynaklar

Örnek No	Üretim Şekli	Kaynak
1	Ev Tipi Üretim	Ilıca/Erzurum
2	Ev Tipi Üretim	Yoncalık/Erzurum
3	Ev Tipi Üretim	Aşkale/Erzurum
4	Ev Tipi Üretim	Yakutiye/Erzurum
5	Ev Tipi Üretim	Yakutiye/Erzurum
6	Ev Tipi Üretim	Yakutiye/Erzurum
7	Ev Tipi Üretim	Çat/Erzurum
8	Ev Tipi Üretim	Yakutiye/Erzurum
9	Ev Tipi Üretim	Yakutiye/Erzurum
10	Ev Tipi Üretim	Yakutiye/Erzurum
11	Ev Tipi Üretim	Yakutiye/Erzurum
12	Ev Tipi Üretim	Yakutiye/Erzurum
13	Ev Tipi Üretim	Tortum/Erzurum
14	Ev Tipi Üretim	Yakutiye/Erzurum
15	Ev Tipi Üretim	Palandöken/Erzurum
16	Ev Tipi Üretim	Palandöken/Erzurum
17	Ev Tipi Üretim	Palandöken/Erzurum
18	Ev Tipi Üretim	Palandöken/Erzurum
19	Ev Tipi Üretim	Yakutiye/Erzurum
20	Ev Tipi Üretim	Yakutiye/Erzurum
21	Ev Tipi Üretim	Yakutiye/Erzurum
22	Ev Tipi Üretim	Palandöken/Erzurum
23	Endüstriyel Üretim	Yerel Firma
24	Endüstriyel Üretim	Ulusal Firma
25	Ev Tipi Üretim	Palandöken/Erzurum

Çizelge 3.1. (devam)

26	Ev Tipi Üretim	Aziziye/Erzurum
27	Ev Tipi Üretim	Yoncalık/Erzurum
28	Ev Tipi Üretim	Yakutiye/Erzurum
29	Ev Tipi Üretim	Yakutiye/Erzurum
30	Ev Tipi Üretim	Yakutiye/Erzurum
31	Ev Tipi Üretim	Tortum/Erzurum
32	Ev Tipi Üretim	Tortum/Erzurum
33	Ev Tipi Üretim	Tortum/Erzurum
34	Ev Tipi Üretim	Yakutiye/Erzurum
35	Ev Tipi Üretim	Yakutiye/Erzurum
36	Ev Tipi Üretim	Palandöken/Erzurum
37	Ev Tipi Üretim	Yakutiye/Erzurum
38	Ev Tipi Üretim	Yakutiye/Erzurum
39	Endüstriyel Üretim	Ulusal Firma
40	Endüstriyel Üretim	Ulusal Firma
41	Endüstriyel Üretim	Ulusal Firma
42	Endüstriyel Üretim	Ulusal Firma
43	Endüstriyel Üretim	Ulusal Firma
44	Endüstriyel Üretim	Ulusal Firma
45	Endüstriyel Üretim	Ulusal Firma
46	Endüstriyel Üretim	Yerel Firma
47	Endüstriyel Üretim	Yerel Firma
48	Endüstriyel Üretim	Ulusal Firma
49	Endüstriyel Üretim	Ulusal Firma
50	Endüstriyel Üretim	Yerel Firma

Çizelge 3.1’de görüldüğü üzere denemede kullanılan toplam 50 yoğurt örneğinin 36 tanesi evlerde yapılmış, 14 örnek endüstriyel üretimdir. Endüstriyel olarak üretilen 14 yoğurdun 10 tanesi ulusal firmalardan, 4 tanesi ise yerel firmalardan temin edilmiştir.

3.2. Metod

Erzurum ilinin çeşitli bölgelerinden toplanan yoğurt örnekleri buzdolabından çıkarılarak analiz sıcaklığına (oda sıcaklığı) gelmesi beklenmiştir. Örneklerde mikrobiyolojik analiz olarak; muhtemel laktik kok, muhtemel laktik basil, maya-küf, koliform sayımları yapılmıştır. Bunların yanında mikrobiyolojik özellikleri etkileyebilecek olan pH ve % asitlik gibi fizikokimyasal analizler de gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. Mikrobiyolojik analizler

Toplanan örneklerden 10 g steril stomacher poşetine alınıp üzerine 90 mL %0,85 steril fizyolojik tuzlu su (SFTS) ilave edilerek seyreltme işlemi yapılmıştır. 10^{-5} - 10^{-6} dilüsyonlarına kadar seyreltme yapıp istenilen besiyerlerine yayma ve dökme metotları kullanılarak ekim yapılmıştır. Her ekim 2 paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiştir (Harrigan 1998).

Mikrobiyolojik analizlerde kullanılan tüm malzemeler (cam-metal-plastik malzemeler, besiyerleri, çözeltiler vd.) 121°C 'da 15 d steril edildikten sonra kullanılmıştır.

İnkübasyon sonunda ise 30-300 arası koloni içeren petri plakları sayılmış ve sonuçlar log kob/g olarak verilmiştir.

3.2.1.a. Laktik asit bakterilerinin sayısı

LAB'ların sayımı için MRS (de man, Rogosa, Sharpe Agar) Agar (Oxoid) ve M17 Agar (Merck) kullanılmıştır. Yapılan ekimler sonrası MRS Agar anaerob şartlarda (Anaerocult A, Merck) 37°C 'de 2-3 gün, M17 Agar ise aerob şartlarda 37°C 'de 1-2 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda makroskobik ve mikroskobik muayene eşliğinde sayım yapılmıştır (Speck 1984; Pichhardt 2004; Cetin 2011).

3.2.1.b. Maya-küf sayısı

Maya ve küf sayımı için Potato Dekstrose Agar (PDA, Merck) sterilize edildikten sonra %10'luk steril laktik asit çözeltisi kullanılarak asitlendirilmiş (pH 3,5) ve petri plaklarına dökülmüştür. Petriler katılaştıktan sonra uygun dilüsyonlardan ekim yapılmış ve oda sıcaklığında (25°C) 5-7 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon boyunca üç petriden fazla istifleme yapılmamıştır. İnkübasyon sonunda gözlenen koloniler mikroskobik ve makroskobik özellikleri belirlenerek sayılmıştır (Speck 1984; Tournas *et al.* 1998).

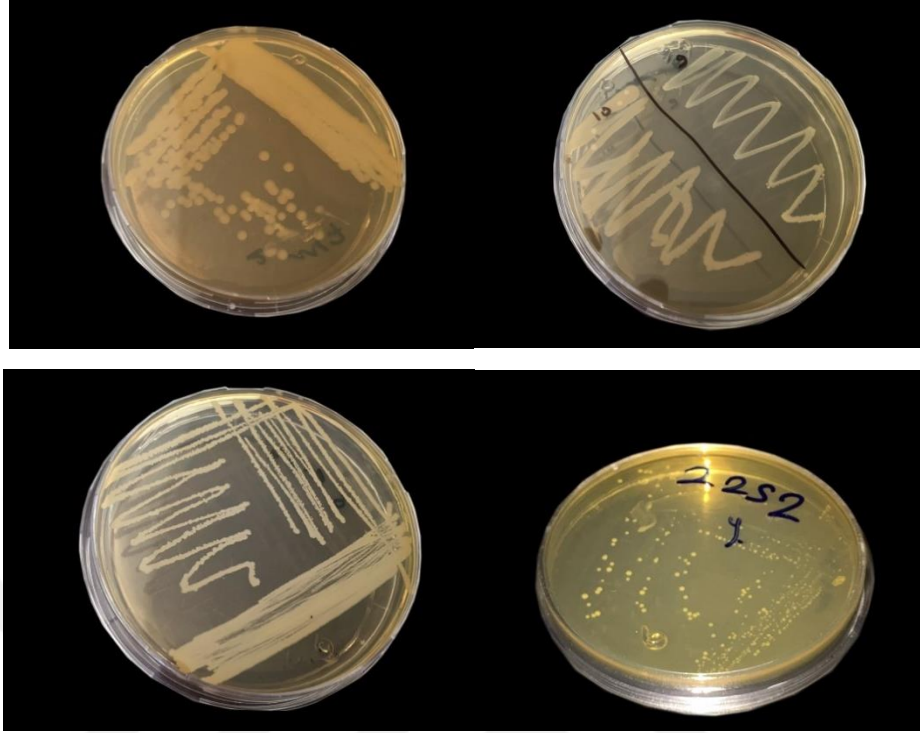
3.2.1.c. Koliform grubu bakteri sayımı

Bu amaçla petri plaklarına uygun dilüsyonlardan 1 mL alınarak üzerine hazırlanan ve 45°C'ye kadar soğuyan Violet Red Bile (VRB, Merck) agardan 15 mL dökülmüş ve homojen bir şekilde karıştırılmıştır. Agar katılaştıktan sonra üzerine 5 mL daha agar ilave edilerek 35-37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda tipik koloniler sayılarak numunelerin gramındaki koliform bakteri sayısı belirlenmiştir (Harrigan 1998).

3.2.1.d. LAB izolasyonu

LAB'ların izolasyonunda sayımı yapılan petrilerdeki kolonilerden makroskopik ve mikroskopik farklılıkları göz önünde bulundurularak rastgele şekilde seçimler yapılmıştır. Muhtemel laktik basiller için beyaz parlak koloniler, muhtemel laktik koklar için ise soluk beyaz kolonilere öncelik verilmiştir. İzolat seçiminde farklı yapıdaki koloniler seçilmeye çalışılmış ve seçilen suşlar üzerinde bazı tanımlama testleri uygulanmıştır. Şekil 3.1'de görüldüğü gibi, seçilen izolatlar saf halde elde edilinceye kadar üçlü çizim yapılmıştır (Ertürkmen ve Öner 2015).

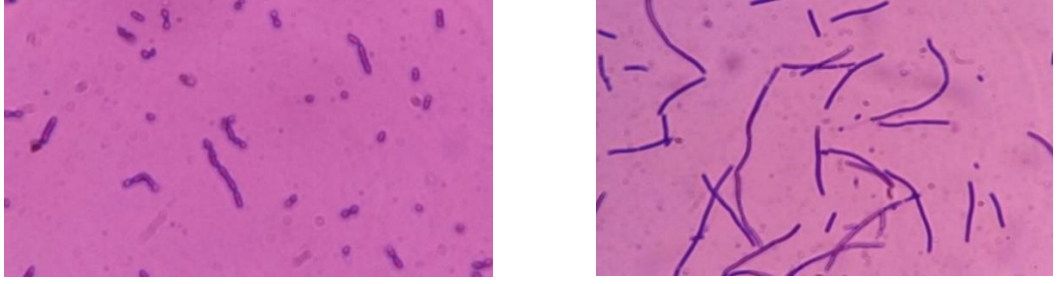
İzole edilen suşlar, -80°C'de 0,5 mL LB Broth (Merck) ve 0,5 mL %40'luk Gliserol (Merck) eşliğinde muhafaza edilmiştir. Böylelikle muhafaza solüsyonundaki gliserol oranı %20 olarak ayarlanmıştır (Cisem 2003).



Şekil 3.1. Saflaştırma işlemi için üçlü çizim yapılan suşlar

İzolatların makroskobik ve mikroskobik tanısı

LAB izolatlarının saf olarak elde edilebilmesi için koloniler üzerinde makroskobik ve mikroskobik incelemeler yapılmıştır. Makroskobik olarak; petri plağı üzerindeki koloninin fiziksel özellikleri not edilmiştir. Mikroskobik olarak ise; lam üzerine incelenmek istenen koloniden alınarak ışık mikroskopunda incelemeler yapılmış ve hücre şekli kaydedilmiştir (Jamaly *et al.* 2011). Mikroskobik olarak gözlemlenen bazı suşlar Şekil 3.2’de verilmiştir.



a: *Streptococcus thermophilus* (28S2), b: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (22M1)

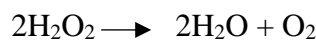
Şekil 3.2. Mikroskopik gözlemleri yapılan ve farklı hücre tipine sahip *Streptococcus thermophilus* 28S2 (solda) ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 22M1 (sağda) suşları

Gram boyama

LAB'ların gram özelliklerinin belirlenmesi amacıyla boyama işlemi yapılmıştır. Taze olarak lam üzerine alınan kültürler alev üzerinde fikse edilerek sabitlenmiş ve kristal viyole ile 1 dakika boyanmıştır. Daha sonra su ile yıkama işlemi yapılmış ve üzerine lügol çözeltisi damlatılarak 1 d beklenmiştir. Daha sonra etil alkolde bekletilerek son boya olan karbol füksin damlatılmış ve 25-30 s beklenmiştir. Boya uzaklaştırma işleminden sonra havada kurutulmuş ve 40X objektif ile ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Gram (+) LAB'lar mavi renkte, gram (-)'ler ise kırmızı renkte görülmüştür (Sert 2002).

Katalaz Testi

Katalaz, birçok mikroorganizma tarafından üretilen bir enzim olması nedeniyle katalaz eksikliği, suşların teşhisinde çokça kullanılmaktadır. Bu enzim, aşağıda görüldüğü gibi, hidrojen peroksiti (H_2O_2) su ve oksijene parçalamaktadır.



Denemede besiyerinde gelişmiş saf kültürlerin üzerine 1-2 damla %3'lük H₂O₂ (Merck) damlatılmış ve gaz oluşumu gözlemlenmiştir. Gaz oluşturan izolatlar katalaz pozitif, oluşturmayanlar negatif olarak kaydedilmiştir (Cisem 2003).

3.2.2. LAB'ların probiyotik özelliklerinin belirlenmesi

Daha önceki araştırmalarda, potansiyel probiyotiklerin değerlendirilmesinde mide asitliği ve safra tuzlarına dayanıklılık, bağırsak epitelyum dokusuna yapışma, gastrointestinal sisteme kolonizasyon yeteneği, antimikrobiyal maddelerin üretimi ve bağışıklığı güçlendirme yeteneği gibi testlerin yapılması önerilmiştir (Dunne *et al.* 2001). Bu çalışmada, elde edilen izolatların ön probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla mide ortamı ve safra tuzlarına dayanıklılıkları test edilmiştir.

3.2.2.a. Mide ortamına dayanıklılık

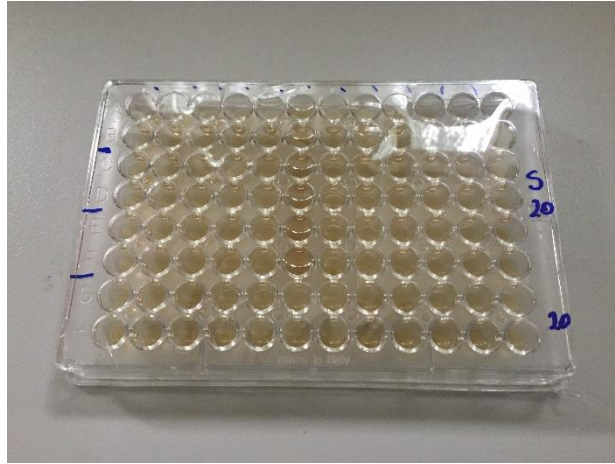
İzolatların mide ortamından geçerek ince bağırsağa ulaşabilme yeteneklerinin test edilebilmesi için mide ortamı simülasyon çözeltisi kullanılmıştır. Bu amaçla, 100 mL saf su içerisine %0,3 pepsin (w/v) ve %0,5 NaCl (w/v) ilave edilerek, HCl ile pH 2'ye ayarlanmış ve mide ortamı simülasyon çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti 0,45 µm çaplı filtreden geçirilip steril edildikten sonra kullanılmıştır (Elcioglu ve Kunduhoglu 2014).

Saflaştırılan suşlar 10⁸ kob/mL olacak şekilde SFTS içerisine alınmıştır. Bu solüsyondan mide ortamı simülasyonuna 1/10 oranında ilave edilerek 6 saat bekletilmiştir. Daha sonra uygun besiyerlerine (MRS, M17) ekilerek inkübe edilmiş ve sayım sonuçlarına göre mide ortamına dayanıklılıkları belirlenmiştir. Yapılan analiz sonuçlarına göre; %20-30 dayanıklılık gösteren suşlar +, %40-49 üreme gösteren suşlar ++, %50-60 gelişim gösterenler +++ şeklinde ifade edilmiştir. Hiç üreme göstermeyen suşlar ise – ile gösterilmiştir.

3.2.2.b. Safra tuzlarına dayanıklılık

Sindirim sisteminde bulunan safra tuzları, mikroorganizmaların gelişimini etkileyen bir diğer önemli faktördür. İzole edilen suşların probiyotik özelliklerinin belirlenmesinde safra tuzlarına dayanıklılık testi uygulanmıştır. Bu amaçla izolatlar; %0; %0,3; %0,5 ve %1'lik safra (Merck) içeren besiyerlerinde (MRS, M17, Merck) inkübe edilerek safra tuzlarına dayanıklılıkları test edilmiştir (Elcioglu ve Kunduhoglu 2014). İnkübasyon için 96'lık plateler kullanılmış ve okumalar plate reader'da (Epoch, BioTek) yapılarak absorbans değerlerine göre gelişim oranları belirlenmiştir. Analiz sonuçlarına göre; kör numunesi ile aynı absorbansı veren suşlar -, <1 absorbans gösteren suşlar +, 1 ve 1,5 arasında absorbans gösterenler ++, >1,5 absorbans gösterenler ise +++ şeklinde ifade edilmiştir.

Safra tuzlarına dayanıklılık testi için kullanılan 96'lık plate Şekil 3.3'de verilmiştir.



Şekil 3.3. İzole edilen suşların safra tuzlarına dayanıklılık testlerinde kullanılan plate

3.2.3. LAB'ların moleküler tanısı

Yoğurt örneklerinden izole edilen ve -80°C'de muhafaza edilen suşlar yeniden canlandırılarak moleküler tanısı yapılmıştır. Bu işlem genel olarak; DNA izolasyonu,

izolatların gruplandırılması ve tanılanması aşamalarını içermektedir. Gruplandırılması yapılan suşlardan birer örnek olacak şekilde sekanslama işlemi gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.a. İzolatların tekrar canlandırılması

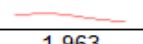
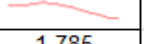


İzolatların taze olmaları amacıyla -80°C 'de bulunan stok kültürlerden uygun besiyerlerine (MRS, M17) çizim yapılarak inkübe edilmiş ve son olarak saflık kontrolü yapılmıştır. Saflıkları kontrol edilen genç izolatlar DNA izolasyonu için steril saf su içerisinde alınarak -20°C 'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3.b. İzolatlardan DNA izolasyonu

-20°C 'de saf su içerisinde tutulan kültür solüsyonundan $100\ \mu\text{L}$ alınarak $1,5\ \text{mL}$ 'lik ependorflarda $500\ \mu\text{L}$ steril saf su ile karıştırılmıştır. Süspansiyon $5000\times\text{g}$ 'de 3 d santrifüj edilerek fosfat tamponu ile 3 defa yıkanmıştır. Yıkama sonucu elde edilen bakteri süspansiyon içerisinde $0,5\ \text{mL}$ $6\ \text{M}$ üre ve $0,1\ \text{mL}$ $\%10$ SDS ilave edilerek 37°C 'de 20 d inkübe edilmiştir. Örnekler 95°C 'de 5 d tutulduktan sonra $8000\times\text{g}$ 'de 25°C 'de 10 d santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrası süpernatant kısmı atılmıştır. Ardından pellet üzerine $0,1\ \text{mL}$ $0,2\ \text{N}$ NaOH eklenerek 37°C 'de 10 d inkübe edilmiştir. Hücre yıkıntılarının (debris) ayrılması için $3000\times\text{g}$ 'de 25°C 'de 3 d santrifüj işlemi ardından süpernatant uzaklaştırılmıştır. DNA'nın saflaştırılması amacıyla $2,5$ hacim absolute (mutlak) alkol ilave edilerek -20°C 'de 2 saat bekletilmiştir. Beklemenin ardından $13200\times\text{g}$ 'de, 4°C 'de 15 d santrifüj edilmiş ve $\%70$ 'lik etanol ile yıkanmıştır. DNA pelleti oda sıcaklığında kuruduktan sonra $20\ \mu\text{L}$ Tris-EDTA (TE) tamponunda tekrar süspansiyon edilmiş ve PCR işlemine hazır hale getirilmiştir (Singh and Ramesh 2009).

DNA izolasyon işlemi sonrası elde edilen template DNA'ların PCR işlemi için kalitelerinin belirlenmesi amacıyla 260 ve $280\ \text{nm}$ dalga boylarında elde edilen absorbans değerlerinin oranları dikkate alınmıştır. Bu amaçla Take3 aparatı takılı Epoch

(BioTek) cihazından yararlanılmıştır. 260 ve 280 nm dalga boylarında ölçülen absorbans değerleri temsili olarak Şekil 3.4'te verilmiştir.

	2	3	
A	SPL1	SPL5	Well ID
			Spectrum
	1,963 25,714	1,785 55,105	260/280 ng/µL
B	SPL2	SPL6	Well ID
			Spectrum
	1,621 164,457	1,716 62,653	260/280 ng/µL

Şekil 3.4. Bazı suşlara ait 260/280 nm dalga boylarında alınan absorbans değerlerinin oranı

3.2.3.c. İzolatların moleküler yöntemlerle gruplandırılması ve tanısı

İzolatların tür ve suş bazında tanımlanmasının yapılması için RAPD PCR (randomly amplified polymorphic DNA) tekniği uygulanmış ve primer olarak (GTG)₅ primeri (5'-GTGGTGGTGGTGGTG-3') kullanılmıştır. PCR işleminde kullanılan süre ve sıcaklık döngüsü; 95°C'de 20 s (ayırılma), 50°C'de 60 s (bağlanma) ve 72°C'de 90 s (uzama) şeklindedir. PCR karışımı toplam 15 µL olacak şekilde hazırlanmıştır. Bu amaçla PCR tüpleri içerisine 7,5 µL master mix, 1 µL template DNA, 1 µL primer ((GTG)₅) ve 5,5 µL su ile PCR karışımı elde edilmiştir. Hazırlanan bu karışımdan 12-13 µL alınarak %2'lik agaroz jele yüklenmiştir. Yürütme işlemi 6 saat boyunca 35 V'luk gerilimde uygulanmıştır. Yürütme sonrasında UV ışık altında izolatların fingerprintleri kaydedilmiş ve benzer suşlar tespit edilmiştir. Oluşturulan her benzer gruptan bir adet temsili örnek sekans analizi için kullanılmıştır (Vasdiyeyi and Dea'k 2003).

Genotipik tanılama 16S rDNA-PCR yöntemi ile yapılmıştır. Bu amaçla 8F (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') ve 534 R (5'-ATT ACC GCG GCT GCT GGC-3') primerleri kullanılmıştır. Kathleen *et al.* (2014) tarafından önerilen işlemde PCR için toplam 25 µl reaksiyon karışımı belirtilmiş olup bu yönergeye uyulmuştur. PCR ürünleri DNA sekanslama işlemi hizmet alımı ile ABI 3130 Xl genetic analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçta edinilen

DNA dizileri Nation Center for Biotechnology Information (NCBI) ile Blast programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

3.2.4. Fizikokimyasal Analizler

Yoğurt örnekleri üzerinde, mikrobiyolojik çeşitlilik ve sayıyı etkileyebilecek öneme sahip fizikokimyasal özelliklerin belirlenmesi amacıyla pH ve %asitlik analizleri uygulanmıştır. Bu deneylerin yapılışı aşağıda sunulmuştur.

3.2.4.a. pH

Yoğurt örneklerinin pH'sını belirlemek için uygun probu pH-metre (Hanna pH-211) kullanılmıştır. Ölçümlerden önce pH-metre standart tampon çözeltileri (pH 4 ve pH 7) ile kalibre edilmiş ve oda sıcaklığında ölçümler yapılmıştır. pH-metre probu saf su ile yıkanıp kurulandıktan sonra örnek içerisine daldırılıp pH değerinin sabitlenmesi beklenmiştir. Sabitlenen pH değerleri not edilmiştir (Savello *et al.* 1989).

3.2.4.b. % Asitlik Tayini

Karıştırılarak homojenize edilen yoğurt örneklerinden erlen içerisine 10 g civarı tartılarak üzerine %1'lik fenolftaleinden 3-4 damla damlatılmıştır. Karışım önceden hazırlanmış 0,1 N NaOH çözeltisi ile titre edilmiştir. Pembe renk oluşup 15-20 s kaybolmayıncaya kadar titrasyona devam edilmiş ve harcanan NaOH miktarları not edilmiştir. Hesaplama aşağıda verilen formüle göre yapılmış ve yoğurt örneklerinin asitlik dereceleri % laktik asit cinsinden hesaplanmıştır (Metin 2009).

$$\% \text{ Laktik asit} = (V \times 0,009 \times 100) / m$$

V: Titrasyonda kullanılan 0,1 N NaOH çözeltisi (mL)

m: Titrasyonda kullanılan yoğurt miktarı (g)

3.2.5. İstatistik analizler

Araştırma sonucunda elde edilen veriler one-way ANOVA testi uygulanmıştır. İstatistiksel analizler, SPSS version 17.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).



4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Çalışmada, Erzurum ilinin çeşitli bölgelerinden toplanmış 50 adet yoğurt örneğine (36 evlerde üretilmiş, 14 endüstriyel olarak üretilmiş) ait muhtemel laktik kok ve laktik basil, koliform grubu, maya-küf sayım sonuçları log kob/g cinsinden aşağıda verilmiştir. Bunların yanında probiyotiklik, gram özellik, katalaz testi ve moleküler tanı sonuçları da aşağıda sunulmuştur.

4.1. Mikrobiyolojik Bulgular

Evlerde ve endüstriyel olarak üretilen yoğurt örneklerine ait mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir. Mikrobiyolojik sayım sonuçları log kob/g olarak sunulmuştur.

Yoğurt örneklerinde bulunan laktik basil ve laktik kok sayılarına ait ortalamalar, sırasıyla, 6,56 log kob/g ve 4,96 log kob/g olarak belirlenmiştir. Fermente Süt Ürünleri Tebliğine göre yoğurttan bulunması gereken toplam spesifik mikroorganizma sayısı en az 10^7 kob/g'dır. Bu sonuçlara göre toplanan yoğurt numunelerinden elde edilen toplam laktik basil ve laktik kok sayıları; 5, 20, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 36, 37, 38, 39, 41, 43, 44, 45, 46, 47, 49 ve 50 numaralı örnekler hariç olmak üzere, Fermente Süt Ürünleri Tebliği'ne uygunluk göstermektedir (Anonim 2009). Bunlardan 21, 24, 29, 34 numaralı örneklerde toplam spesifik mikroorganizma sayılarının standartların altında çıkmasının nedeni, bu örneklerde laktik koklara rastlanmamış olmasıdır. Laktik kokların tespit edilememesinin nedeni olarak fermentasyonun sonlarına doğru asitliğin artmasıyla beraber laktik basillerin sayısındaki artış gösterilebilir. Bunların yanında, 23, 24, 39, 41, 43, 44, 45, 46, 47, 49 ve 50 numaralı örneklerin piyasada yoğunlukla bulunan endüstriyel ürünler olması ve bu yoğurttan diğer numunelerin de mayalanmış olma ihtimali, bu örneklerde spesifik mikroorganizma sayısının düşük olmasının nedenleri arasında sayılabilir.

Çizelge 4.1. Yoğurt örneklerinden elde edilen mikrobiyolojik sayım sonuçları (log kob/g)

Numune	Tekrar	LAKTİK BASİL	LAKTİK KOK	MAYA-KÜF	KOLIFORM
1	1	6,68	7,90	4,90	<1
	2	6,55	8,00	4,80	<1
2	1	7,05	5,48	<2	<1
	2	7,00	5,66	<2	<1
3	1	7,37	6,72	3,24	<1
	2	7,39	6,52	3,36	<1
4	1	7,28	6,90	5,78	<1
	2	6,91	6,98	5,16	<1
5	1	6,85	6,18	<2	<1
	2	6,50	6,35	<2	<1
6	1	6,63	7,37	5,95	<1
	2	6,55	7,45	5,66	<1
7	1	7,31	<2	4,26	<1
	2	7,26	<2	4,32	<1
8	1	7,28	<2	<2	<1
	2	7,65	<2	<2	<1
9	1	7,30	6,26	4,30	<1
	2	7,24	6,22	4,41	<1
10	1	7,40	1,60	3,33	<1
	2	7,63	1,86	3,65	<1
11	1	6,46	8,00	<2	<1
	2	6,41	7,89	<2	<1
12	1	7,63	8,00	5,45	<1
	2	7,60	8,06	5,67	<1
13	1	6,56	7,33	6,23	<1
	2	6,36	7,21	6,45	<1
14	1	7,27	6,45	5,00	<1
	2	7,25	6,32	4,92	<1
15	1	7,49	7,47	2,34	<1
	2	7,62	7,49	2,10	<1
16	1	7,23	6,47	5,15	<1
	2	7,36	6,90	5,23	<1
17	1	7,40	6,48	<2	<1
	2	7,23	6,67	<2	<1
18	1	8,00	7,48	4,97	<1
	2	7,69	7,25	5,09	<1

Çizelge 4.1. (devam)

Numune	Tekrar	LAKTİK BASİL	LAKTİK KOK	MAYA-KÜF	KOLİFORM
19	1	7,32	6,93	<2	<1
	2	7,63	6,65	<2	<1
20	1	6,69	6,54	<2	<1
	2	6,57	6,38	<2	<1
21	1	5,35	<2	<2	<1
	2	5,39	<2	<2	<1
22	1	7,70	3,70	5,39	<1
	2	7,55	3,78	5,27	<1
23	1	4,64	4,32	<2	<1
	2	4,63	4,71	<2	<1
24	1	6,59	<2	<2	<1
	2	6,68	<2	<2	<1
25	1	6,17	4,30	2,65	<1
	2	6,31	4,47	2,39	<1
26	1	6,41	6,56	5,48	<1
	2	6,23	6,79	5,63	<1
27	1	6,93	3,57	2,46	<1
	2	6,80	3,46	2,34	<1
28	1	7,04	5,00	<2	<1
	2	6,98	5,23	<2	<1
29	1	6,75	<2	<2	<1
	2	6,63	<2	<2	<1
30	1	5,48	5,46	<2	<1
	2	5,25	5,63	<2	<1
31	1	5,78	5,70	4,18	<1
	2	5,69	5,43	3,98	<1
32	1	6,92	4,15	4,15	<1
	2	6,85	4,31	4,22	<1
33	1	5,60	6,11	5,32	<1
	2	5,73	6,14	5,49	<1
34	1	6,18	<2	4,18	<1
	2	6,31	<2	4,29	<1
35	1	6,98	1,48	1,00	<1
	2	7,09	1,62	1,34	<1
36	1	6,54	1,00	<2	<1
	2	6,31	1,07	<2	<1

Çizelge 4.1. (devam)

Numune	Tekrar	LAKTİK BASIL	LAKTİK KOK	MAYA-KÜF	KOLIFORM
37	1	6,65	4,59	4,67	<1
	2	6,50	4,66	4,91	<1
38	1	5,95	6,32	5,70	<1
	2	5,63	6,29	5,61	<1
39	1	4,00	6,36	<2	<1
	2	4,19	6,22	<2	<1
40	1	6,11	7,23	<2	<1
	2	6,31	7,29	<2	<1
41	1	5,08	4,00	<2	<1
	2	5,30	3,65	<2	<1
42	1	7,27	6,28	<2	<1
	2	7,38	6,17	<2	<1
43	1	6,00	5,95	<2	<1
	2	5,86	5,81	<2	<1
44	1	6,54	5,30	<2	<1
	2	6,63	5,14	<2	<1
45	1	6,48	3,48	<2	<1
	2	6,67	3,59	<2	<1
46	1	6,45	5,85	<2	<1
	2	6,29	5,37	<2	<1
47	1	6,54	5,30	<2	<1
	2	6,79	5,48	<2	<1
48	1	6,49	7,08	<2	<1
	2	6,68	7,34	<2	<1
49	1	5,30	6,26	<2	<1
	2	5,39	6,18	<2	<1
50	1	5,20	3,00	3,00	<1
	2	5,38	2,86	3,27	<1
Min.		4,00	<2	<2	<1
Max.		8,00	8,06	6,45	<1
Ev Ort.		6,80 ^{a**}	4,95 ^a	2,95 ^{a**}	<1
End. Ort.		5,96 ^{b**}	5,00 ^a	0,22 ^{b**}	<1
Ortalama		6,56	4,96	2,19	<1
Std.Sapma		0,82	2,44	2,38	-

<1 ve <2: Tespit Edilebilir Seviyenin Altında;

Ev Ort: Evlerde Üretilen Yoğurtların Ortalaması;

End. Ort.: Endüstriyel Olarak Üretilen Yoğurtların Ortalaması

a,b: Aynı Sütunda Farklı Üstel Harflerle Gösterilen Ortalamalar Birbirinden Farklıdır.

*p<0,05, **p<0,01 Düzeyinde Önemli

Tüm örneklere ait ortalama laktik basil sayısı 6,56 log kob/g olarak, bunun yanında minimum ve maksimum değerler sırasıyla, 4,00 ve 8,00 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Örnekler ev yapımı ve endüstriyel üretim olarak ayrıldığında, örneklerde bulunan laktik basil sayıları, ev yapımı yoğurtlar için ortalama 6,80; endüstriyel olarak üretilenlerin ise 5,96 log kob/g olduğu saptanmıştır. Ev yapımı ve endüstriyel yoğurtların laktik basil sayım ortalamaları arasındaki farklılığın önemli olduğu gözlemlenmiştir ($p < 0,01$).

Mikrobiyolojik sayım sonuçlarına göre, tüm örneklere ait ortalama laktik kok sayıları 4,96 log kob/g bulunmuştur. Ev (4,95 log kob/g) ve endüstriyel (5,00 log kob/g) olarak üretilen yoğurtlardan elde edilen sonuçlara göre laktik kok sayılarının ortalamaları genel ortalamaya yakınlık göstermektedir. Ev yapımı yoğurtlar ile endüstriyel yoğurtların ortalama laktik kok sayıları arasında önemli bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$). Elde edilen tüm örneklerde yapılan mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre laktik kok sayıları en düşük < 2 , en yüksek 8,06 log kob/g olduğu tespit edilmiştir.

Türk Standartları Enstitüsü tarafından belirtilen TS ISO 9232 standardına göre, yoğurda özgü mikroorganizmalar *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus*'dur. Bu çalışmada kullanılan bazı yoğurtların (7, 8, 21, 24, 29, 34) TSE standardına uygunluk göstermediği anlaşılmıştır.

Fermente Süt Ürünleri Tebliğine göre yoğurtlarda maya bulunmamalıdır (Anonim 2009). Ancak yoğurt örneklerimizin %50'sinde maya tespit edilmiştir ve tüm numuneler düşünüldüğünde tespit edilen maya sayısı ortalama 2,19 log kob/g'dır. Analizin yapılma mevsiminin yaz olması veya yoğurt örneklerinin taze olmaması gibi nedenlerden dolayı numunelerde maya tespit edilmiş olabilir. Bunların yanında örneklerde küf tespit edilmemiştir.

Ev yapımı olarak üretilen örneklerin maya-küf sayıları 2,95; endüstriyel olarak üretilenlerin ise 0,22 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Endüstriyel olarak üretilen yoğurtların 1 tanesinde (50 numaralı örnek) maya tespit edilmişken, evde yapılan yoğurt

örneklerinden 24 tanesinde (1, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 22, 25, 26, 27, 31, 32, 33, 34, 35, 37, 38 numaralı örnekler) maya-küf tespit edilmiştir. Ev yapımı yoğurtların ortalama maya-küf sayısının endüstriyel yoğurtlardan istatistiksel olarak önemli seviyede daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0,01$). Endüstriyel olarak üretilen yoğurtlarda bulunan maya-küf sayılarının genel ortalamasının altında olmasının nedeni üretim ortamlarının daha temiz olmasından kaynaklanabilir.

Örneklerin hiçbirisinde koliform grubu bakterilere rastlanmamıştır. Bunun nedeni olarak yoğurdun ısıtılmış işlem görmüş ve asitliği yüksek bir ürün olması gösterilebilir.

Celik (2007)'in yoğurt örneklerinde gerçekleştirdiği mikrobiyolojik analizlere göre muhtemel laktik kok ve laktik basil sayım sonuçları, sırasıyla, 9,08 ve 8,80 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Okuklu (2014) tarafından yapılan çalışmada, 13 yoğurt örneğinden 453 koloni seçilmiş ve bunların 170'i saflaştırılabilmektedir. MRS Agarda yapılan sayım sonuçlarının ortalaması 7,15 iken, M17 Agarda 7,10 log kob/g'dır. Bizim çalışmamızda ise 242 izolattan 198'i tekrar canlandırılabilmiştir. Yapılan mikrobiyolojik sayım sonuçlarımızın ise daha düşük (laktik basiller için 6,56, laktik koklar için 4,96 log kob/g) olduğu görülmektedir. Bunun nedeni olarak, çalışmamızda kullanılan yoğurtların asitliğinin yüksek olması gösterilebilir.

Tulumoglu (1996) yoğurt örnekleri üzerinde gerçekleştirdiği çalışmada yoğurtlarda 1,8-3,8 log kob/g *Streptococcus*, 5,6-8,6 log kob/g *Lactobacillus*, 0,00-6,6 log kob/g maya-küf tespit edilmiştir. Bir örnekte 0,57 log kob/g koliform grubu bakteri saptanmıştır. Bizim çalışmamız ile karşılaştırıldığında laktik basil sayıları uygunluk gösterirken, çalışmamızda laktik kok sayıları daha fazla bulunmuştur. Maya-küf sayım sonuçlarımız ise ortalama olarak daha düşük seviyede olduğu görülmektedir. Ayrıca, yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda, çalışmamızda, koliform grubu mikroorganizmalar tespit edilmemiştir.

Sert vd (2017) tarafından yapılan çalışmada, yoğurt örneklerinin laktik basil ve laktik kok sayıları sırasıyla, 6,82 ve 6,32-6,99 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Laktik basil

sayıları açısında çalışmamızda bulunan değerler bu çalışmaya uygunluk göstermektedir. Ancak laktik kok sayısı bakımından çalışmamızda bulunan ortalama değerin daha düşük olduğu saptanmıştır.

Yu *et al.* (2015) yaptıkları çalışmada, Rusya'nın çeşitli bölgelerinden topladıkları geleneksel yöntemlerle üretilen fermente süt ürünlerinden izole ettikleri LAB'ların tanılamasını amaçlamışlardır. Elde edilen LAB sayıları 3,18 ile 9,77 log kob/g arasında olduğu tespit edilmiştir.

Toplam 260 yoğurt örneğinin mikrobiyolojik özelliklerinin incelendiği Hislioglu (2007) tarafından yapılan çalışmada, evlerde üretilen yoğurt örneklerinin maya-küf sayısı ortalama 2,38 log kob/g olarak bulunmuştur. Çalışmamızda ise ortalama 2,19 log kob/g olan maya-küf sayısı benzer çalışmalar ile uygunluk göstermektedir.

4.2. Probiyotik Özellik Test Bulguları

Deneme boyunca toplam 242 izolat elde edilmiş, ancak 44 tanesi tekrar canlandırma işleminde geri kazanılamamıştır. Dolayısıyla çalışmada 198 izolat daha ileriki testler için kullanılmıştır. Denemede kullanılan toplam 198 izolatın 94'ü M17, 104'i ise MRS Agar kaynaklı olduğu görülmektedir.

Elde edilen laktik koklara uygulanan gram özellik, katalaz testi, mide ortamına ve safra tuzlarına dayanıklılık test sonuçları Çizelge 4.2 verilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre yoğurt örneklerinden izole edilen suşların tamamının gram (+) ve katalaz negatif olduğu tespit edilmiştir.

İzole edilen laktik kok suşlarının %24,5'i mide ortamında canlılığını sürdürmüştür. Canlılığını sürdürebilen bu suşların; %4,3'ü (toplamda %1,1) çok iyi üreme, %13'ü (toplamda %3,2) iyi üreme ve %82,6'sı (toplamda %20,2) zayıf üreme göstermiştir.

Safra tuzlarına dayanıklılık açısından laktik kokların %61'i safra tuzlarında gelişim göstermiştir. Safra tuzlarına dayanıklılık testi için %0,3, %0,5 ve %1 olmak üzere üç farklı konsantrasyonda safra içeren besiyerleri kullanılmıştır. %0,3 safra konsantrasyonunda, laktik kokların %4,1'i çok iyi üreme, %6,4'iyi üreme ve %23,3'ü ise zayıf üreme göstermiştir. %0,5 safra konsantrasyonunda; laktik kokların %1,7'si çok iyi üreme, %11'i iyi üreme, %21'i ise zayıf üreme göstermiştir. %1 safra konsantrasyonunda ise; laktik kokların, %1,7'si çok iyi üreme, %5,8'i iyi üreme, %25'i ise zayıf üreme göstermiştir.



Çizelge 4.2. Yoğurt örneklerinden izole edilen laktik kokların fenotipik ve bazı probiyotik özellikleri

İzolat	Hücre Morfolojisi	Gram Özelliği	Katalaz Testi	Mide Ortamı	Safra Tuzlarında Gelişim (%)		
					0,3	0,5	1
1S1	Streptokok	+	-	-	-	-	-
1S2	Streptokok	+	-	+++	+	+	+
1S3	Streptokok	+	-	-	-	-	-
1S4	Streptokok	+	-	-	-	-	-
2S1	Streptokok	+	-	-	+	+	+
2S2	Basil	+	-	+	+	+	+
2S3	Streptokok	+	-	-	-	-	-
2S4	Streptokok	+	-	+	+	+	+
3S2	Streptokok	+	-	-	+	+	+
4S1	Streptokok	+	-	-	-	-	-
5S1	Streptokok	+	-	-	-	-	-
5S2	Streptokok	+	-	-	-	-	-
5S3	Streptokok	+	-	-	+	+	+
6S1	Streptokok	+	-	-	-	-	-
8S1	Basil	+	-	-	+	+	+
8S2	Basil	+	-	-	+	+	+
9S1	Basil	+	-	-	+	+	+
9S2	Streptokok	+	-	-	-	-	-
9S3	Streptokok	+	-	-	-	-	-
9S5	Streptokok	+	-	+	+++	++	++
10S1	Streptokok	+	-	-	-	-	-
10S2	Streptokok	+	-	-	+	+	+
11S1	Streptokok	+	-	-	+	+	+

Çizelge 4.2. (devam)

İzolat	Hücre Morfolojisi	Gram Özellik	Katalaz Testi	Mide Ortamı	Safra Tuzlarında Gelişim (%)		
					0,3	0,5	1
11S2	Streptokok	+	-	-	+++	++	+
11S3	Streptokok	+	-	-	+++	+++	+++
11S4	Streptokok	+	-	-	-	++	-
12S2	Streptokok	+	-	-	+	+	+
14S1	Streptokok	+	-	-	-	-	-
14S2	Streptokok	+	-	-	+	++	++
15S1	Streptokok	+	-	-	+	+	+
16S1	Streptokok	+	-	-	+	+	-
16S2	Streptokok	+	-	-	+++	++	++
17S1	Streptokok	+	-	-	-	-	-
17S2	Streptokok	+	-	-	-	-	-
17S3	Streptokok	+	-	-	+	+	-
18S1	Streptokok	+	-	-	-	+	-
18S2	Streptokok	+	-	-	-	+	-
18S3	Streptokok	+	-	-	-	-	-
19S1	Streptokok	+	-	-	-	-	-
19S2	Streptokok	+	-	-	-	+	-
20S1	Streptokok	+	-	-	-	+	-
20S2	Streptokok	+	-	-	+	+	+
20S4	Streptokok	+	-	-	++	+	+
20S5	Streptokok	+	-	-	+++	++	++
20S6	Streptokok	+	-	-	+	+	+
21S1	Basil	+	-	-	-	-	-

Çizelge 4.2. (devam)

İzolant	Hücre Morfolojisi	Gram Özellik	Katalaz Testi	Mide Ortamı	Safra Tuzlarında Gelişim (%)		
					0,3	0,5	1
22S1	Basil	+	-	-	+	+	+
23S2	Basil	+	-	+	+	+	+
25S1	Streptokok	+	-	-	-	-	-
25S2	Streptokok	+	-	-	-	-	-
26S1	Streptokok	+	-	-	++	++	+
27S1	Streptokok	+	-	-	++	++	+
27S2	Streptokok	+	-	-	+	+	+
28S1	Basil	+	-	-	+	+	+
28S2	Streptokok	+	-	+	++	+	+
30S1	Streptokok	+	-	-	-	-	-
30S2	Streptokok	+	-	+	-	-	-
30S3	Streptokok	+	-	+	+	+	+
30S4	Streptokok	+	-	-	++	++	++
30S5	Streptokok	+	-	-	+++	+++	+++
31S1	Streptokok	+	-	-	-	-	-
32S1	Streptokok	+	-	-	+	+	+
33S2	Streptokok	+	-	-	+	-	-
35S2	Streptokok	+	-	+	+	+	+
36S1	Streptokok	+	-	+	++	++	++
36S2	Streptokok	+	-	-	+	-	-
36S3	Streptokok	+	-	+	+	+	+
37S1	Streptokok	+	-	-	-	-	-
37S2	Streptokok	+	-	-	-	-	-

Çizelge 4.2. (devam)

İzolant	Hücre Morfolojisi	Gram Özellik	Katalaz Testi	Mide Ortamı	Safra Tuzlarında Gelişim (%)		
					0,3	0,5	1
39S1	Streptokok	+	-	-	+	-	-
39S2	Streptokok	+	-	+	++	++	++
41S1	Streptokok	+	-	-	+++	+++	+++
41S2	Streptokok	+	-	-	-	-	-
42S1	Streptokok	+	-	+	+	+	+
42S2	Streptokok	+	-	-	++	++	++
42S3	Streptokok	+	-	+	+	+	+
43S1	Streptokok	+	-	-	+	+	+
43S2	Streptokok	+	-	+	++	+	+
44S1	Streptokok	+	-	++	+	-	-
44S2	Streptokok	+	-	-	-	-	-
45S1	Streptokok	+	-	+	++	++	+
45S2	Basil	+	-	-	-	-	-
45S3	Streptokok	+	-	+	+	+	+
45S4	Streptokok	+	-	-	+	+	+
46S1	Streptokok	+	-	-	+	+	+
46S3	Streptokok	+	-	+	+	+	+
47S1	Streptokok	+	-	+	++	++	++
47S2	Streptokok	+	-	-	+	+	+
48S1	Streptokok	+	-	-	-	-	-
48S2	Streptokok	+	-	+	-	-	-
48S3	Streptokok	+	-	-	-	-	-
48S4	Streptokok	+	-	-	-	-	-

Çizelge 4.2. (devam)

İzolat	Hücre Morfolojisi	Gram Özellik	Katalaz Testi	Mide Ortamı	Safra Tuzlarında Gelişim (%)		
					0,3	0,5	1
48S5	Streptokok	+	-	+	+	+	+
49S2	Streptokok	+	-	+	+	+	+

- : Üreme görülmemiştir (Absorbans değeri=kör numune)

+ : Zayıf üreme (Absorbans değeri <1)

++ : İyi üreme (1 < Absorbans değeri < 1,5)

+++ : Çok iyi üreme (1,5 < Absorbans değeri)

Mide ortamı için; +: 20-30%; ++: 40-49%; +++: 50-60%; -: Üreme görülmemiştir.

Yoğurt örneklerinden izole edilen laktik basillerin bazı fenotipik ve bazı probiyotik özellikleri analiz sonuçları Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre yoğurt örneklerinden izole edilen suşların tamamı gram (+) ve katalaz negatif olarak tespit edilmiştir.

Laktik basil suşları üzerinde yapılan mide ortamına dayanıklılık test sonuçlarına göre; izolatların %45,2’si mide ortamında canlılıklarını sürdürebilmişlerdir. Bunların %4,3’ü (toplamda %1,9) çok iyi üreme, %2,1’i (toplamda %1) iyi üreme, %93,6’sı (toplamda %42,3) ise zayıf üreme göstermiştir.

Örneklerden izole edilen laktik basillerin %37,5’i safra tuzlarında üreme göstermiştir. %0,3 safra konsantrasyonunda, bu izolatların %4,3’ü iyi üreme, %33,3’ü zayıf üreme göstermiştir. %0,5 safra konsantrasyonunda, dirençli laktik basillerin %2,6’sı iyi üreme, %31,6’sı ise zayıf üreme göstermiştir. %1 safra konsantrasyonunda ise; laktik basillerin %0,8’si iyi üreme, %29,3’ü ise zayıf üreme göstermiştir. Ayrıca, hiçbir izolat safra konsantrasyonunda çok iyi üreme gösterememiştir.

Çizelge 4.3. Yoğurt örneklerinden izole edilen laktik basillerin fenotipik ve bazı probiyotik özellikleri

İzolat	Hücre Morfolojisi	Gram Özelliği	Katalaz Testi	Mide Ortamı	Safra Tuzlarında Gelişim (%)		
					0,3	0,5	1
1M1	Streptokok	+	-	-	-	-	-
1M3	Streptokok	+	-	-	-	-	-
2M1	Basil	+	-	-	-	-	-
3M2	Basil	+	-	+	-	-	-
4M1	Basil	+	-	+	-	-	-
4M2	Basil	+	-	-	-	-	-
5M1	Basil	+	-	+	-	-	-
5M4	Basil	+	-	-	-	-	-
5M5	Basil	+	-	+	+	+	-
6M1	Basil	+	-	+	-	-	-
6M2	Basil	+	-	+	-	-	-
6M3	Basil	+	-	+	+	-	-
7M1	Basil	+	-	+	+	+	-
7M2	Basil	+	-	+	+	-	-
8M2	Basil	+	-	+	-	-	-
8M3	Basil	+	-	+	+	-	-
8M5	Basil	+	-	-	-	-	-
8M6	Basil	+	-	-	-	-	-

Çizelge 4.3. (devam)

İzolant	Hücre Morfolojisi	Gram Özelliği	Katalaz Testi	Mide Ortamı	Safra Tuzlarında Gelişim (%)		
					0,3	0,5	1
9M1	Basil	+	-	+	-	-	-
9M2	Basil	+	-	+	+	+	-
9M3	Basil	+	-	+	-	-	-
9M4	Basil	+	-	+	+	+	+
10M1	Basil	+	-	+	-	-	-
10M2	Basil	+	-	+	+	+	-
10M3	Basil	+	-	+	+	+	+
10M4	Basil	+	-	+	+	+	-
10M5	Basil	+	-	+	-	-	-
10M6	Basil	+	-	+	+	+	+
11M1	Basil	+	-	-	+	+	-
11M2	Basil	+	-	+	+	+	-
12M1	Basil	+	-	+	-	-	-
12M2	Basil	+	-	-	-	-	-
12M3	Basil	+	-	+	+	+	+
14M3	Basil	+	-	+	++	++	+
14M5	Basil	+	-	+	-	-	-
15M1	Basil	+	-	-	-	-	-
15M3	Basil	+	-	-	-	-	-
16M1	Basil	+	-	-	-	-	-
16M2	Basil	+	-	+	-	-	-
16M3	Basil	+	-	+	-	-	-

Çizelge 4.3. (devam)

İzolant	Hücre Morfolojisi	Gram Özelliği	Katalaz Testi	Mide Ortamı	Safra Tuzlarında Gelişim (%)		
					0,3	0,5	1
17M2	Basil	+	-	-	+	+	+
17M3	Basil	+	-	+	-	-	-
18M3	Basil	+	-	-	-	-	-
19M4	Basil	+	-	+	-	-	-
20M2	Streptokok	+	-	-	-	-	-
21M1	Basil	+	-	-	-	-	-
21M2	Basil	+	-	-	-	-	-
21M3	Basil	+	-	-	-	-	-
22M1	Basil	+	-	+++	++	++	+
22M2	Basil	+	-	-	-	-	-
23M1	Streptokok	+	-	-	-	-	-
23M2	Streptokok	+	-	+	-	-	-
23M3	Basil	+	-	-	-	-	-
25M1	Streptokok	+	-	-	+	+	+
25M2	Basil	+	-	+	-	-	-
25M3	Basil	+	-	-	+	+	+
26M1	Basil	+	-	+	+	+	-
26M2	Basil	+	-	-	-	-	-
27M2	Basil	+	-	-	-	-	-
27M3	Basil	+	-	-	+	+	+
27M4	Basil	+	-	+	+	+	+

Çizelge 4.3. (devam)

İzolant	Hücre Morfolojisi	Gram Özelliği	Katalaz Testi	Mide Ortamı	Safra Tuzlarında Gelişim (%)		
					0,3	0,5	1
27M5	Basil	+	-	-	-	-	-
28M1	Basil	+	-	-	-	-	-
29M1	Basil	+	-	-	++	+	+
29M3	Basil	+	-	-	-	-	-
29M4	Basil	+	-	+	+	+	+
30M1	Basil	+	-	++	+	+	+
30M2	Basil	+	-	-	-	-	-
30M3	Streptokok	+	-	-	-	-	-
30M4	Basil	+	-	-	+	+	+
31M1	Basil	+	-	-	+	+	+
32M1	Basil	+	-	-	-	-	-
32M2	Basil	+	-	-	+	+	+
33M1	Basil	+	-	+++	++	++	++
33M2	Basil	+	-	+	+	+	+
34M1	Basil	+	-	-	+	+	+
34M2	Basil	+	-	+	+	+	+
35M2	Basil	+	-	+	+	+	-
35M3	Basil	+	-	-	+	+	+
35M4	Basil	+	-	-	+	+	-
36M2	Basil	+	-	-	+	+	+
36M3	Basil	+	-	-	+	+	+

Çizelge 4.3. (devam)

İzolant	Hücre Morfolojisi	Gram Özelliği	Katalaz Testi	Mide Ortamı	Safra Tuzlarında Gelişim (%)		
					0,3	0,5	1
37M1	Basil	+	-	-	-	-	-
37M2	Basil	+	-	-	-	-	-
38M2	Basil	+	-	+	+	+	+
39M2	Streptokok	+	-	-	-	-	-
40M1	Basil	+	-	-	-	-	-
40M2	Basil	+	-	-	-	-	-
41M1	Streptokok	+	-	+	+	+	+
41M2	Basil	+	-	-	-	-	-
42M1	Streptokok	+	-	+	+	+	-
42M2	Basil	+	-	-	+	-	-
43M1	Streptokok	+	-	-	-	-	-
43M2	Streptokok	+	-	-	-	-	-
44M1	Streptokok	+	-	-	-	-	-
44M2	Streptokok	+	-	+	-	-	-
46M1	Basil	+	-	-	-	-	-
46M2	Streptokok	+	-	-	+	+	+
47M1	Basil	+	-	-	-	-	-
47M2	Basil	+	-	-	-	-	-
48M1	Basil	+	-	+	-	-	-
48M2	Streptokok	+	-	-	++	+	+
49M1	Streptokok	+	-	-	-	-	-

Çizelge 4.3. (devam)

İzolot	Hücre Morfolojisi	Gram Özellik	Katalaz Testi	Mide Ortamı	Safra Tuzlarında Gelişim (%)		
					0,3	0,5	1
50M1	Basil	+	-	+	+	+	+

- : Üreme görülmemiştir (Absorbans değeri=kör numune)

+ : Zayıf üreme (Absorbans değeri <1)

++ : İyi üreme (1 < Absorbans değeri < 1,5)

+++ : Çok iyi üreme (1,5 < Absorbans değeri)

Mide ortamı için; +: 20-30%; ++: 40-49%; +++: 50-60%; -: Üreme görülmemiştir.

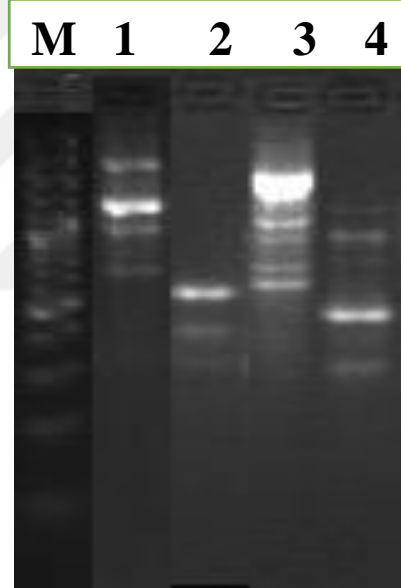
İzolatların probiyotik özellikleri değerlendirilirken, mide ortamı ve en az %0,3 safra tuzlarına dayanıklılık gösteren suşlar probiyotik olarak belirlenmiştir. Buna göre; yoğurt örneklerinde izole edilen suşların %24,2'sinin (48 izolat; 5M5, 6M3, 7M1, 7M2, 8M3, 9M2, 9M4, 10M2, 10M3, 10M4, 10M6, 11M2, 12M3, 14M3, 22M1, 26M1, 27M4, 29M4, 30M1, 33M1, 33M2, 34M2, 35M2, 38M2, 41M1, 42M1, 50M1, 1S2, 2S2, 2S4, 9S5, 23S2, 28S2, 30S3, 35S2, 36S1, 36S3, 39S2, 42S1, 42S3, 43S2, 44S1, 45S1, 45S3, 46S3, 47S1, 48S5, 49S2) hem mideye hem de safra tuzlarına dayanıklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Bu suşların, mide ve safra tuzlarına dayanıklılık açısından, probiyotik olarak değerlendirilebileceği görülmüştür.

Okuklu (2014) yaptığı çalışmada, izole edilen suşların mide ortamı ve safra tuzlarına dayanıklılığını test etmiştir. Analiz sonuçlarına göre; mide ortamına, izolatlarının 29 tanesinin, safra tuzlarına ise izolatlarının 17 tanesinin direnç gösterdiği bulunmuştur. Bizim çalışmamızda izole edilen suşların 70'inin mide ortamına, 107 tanesinin ise safra tuzlarına dayanıklılık gösterdiği tespit edilmiştir.

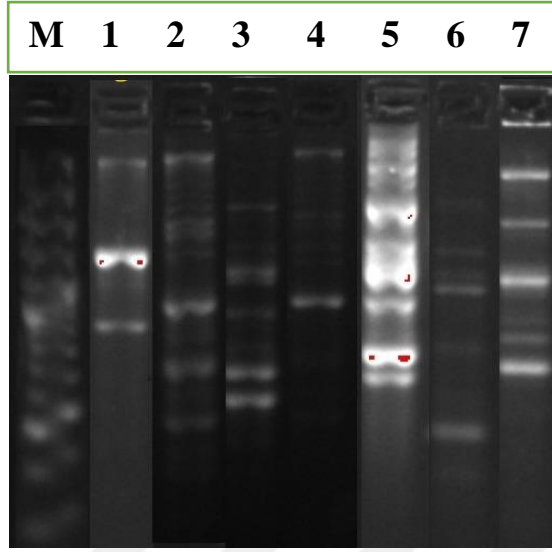
Kuda *et al.* (2016) Japonya'nın sahil kesimlerinden topladıkları fermente ürünlerden elde ettikleri 138 izolat üzerinde asitliğe direnç testi uygulamışlardır. Bu izolatların 10 tanesinin asitliğe dirençli oldukları yapılan çalışmada belirlenmiştir.

4.3. Moleküler Tanı Bulguları

Çalışmada izole edilen toplam 198 izolat elde edildikleri besiyeri çeşidine göre (94'ü M17, 104'ü ise MRS Agar kaynaklı) DNA fingerprintleri elde dilmek üzere GTG₅ (5'-GTGGTGGTGGTGGTG-3') primeri ile analiz edilmişlerdir. Analiz sonucu elde edilen ve farklı suş oldukları düşünülen izolatlar gruplandırılarak temsili bir numune 16S rDNA PCR işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen ampliconlar sekans işlemi tamamlanmak üzere hizmet alımı yapılacak firmaya gönderilmiştir. Aşağıdaki şekillerde (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2) elde edilen izolatlara ait farklı fingerprintler görülmektedir.



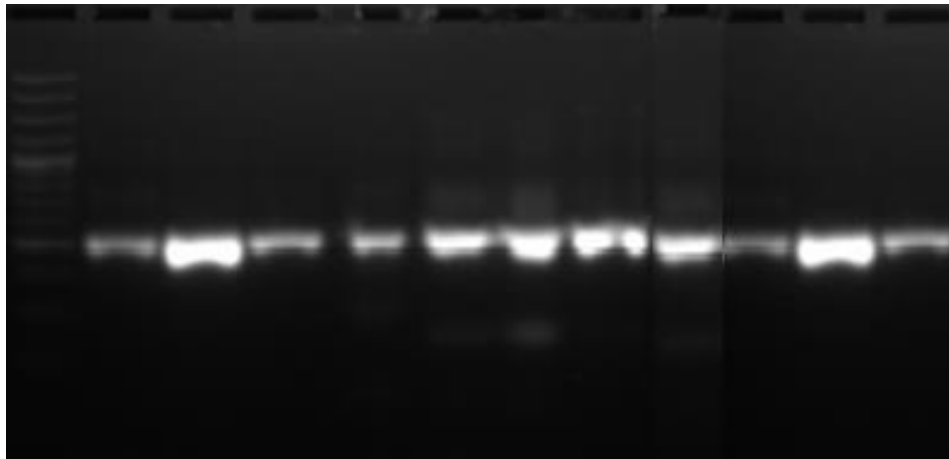
Şekil 4.1. Laktik basil gruplarından farklı DNA parmak izine (fingerprint) sahip izolatların agaroz jel görüntüsü



Şekil 4.2. Laktik kok gruplarından farklı DNA parmak izine (fingerprint) sahip izolatların agaroz jel görüntüsü

Görüldüğü üzere çalışmada; 4 farklı laktik basil ve 7 farklı laktik kok suş tipi belirlenmiştir. Böylece yoğurt örneklerinin suş bazında çeşitliliği de ortaya koyulmuştur.

Farklı suşların tespitinden sonra genotipik tanılama için yapılan 16S-rDNA PCR işlemine ait bantlar Şekil 4.3'te verilmiştir. Elde edilen suşların hedef bölgelerinin amplifikasyonu gerçekleştirilen temsili suşlar, sekans işlemlerini gerçekleştirilmek üzere hizmet alımı gerçekleştirilecek ilgili firmaya gönderilmiştir.



Şekil 4.3. 16S-rDNA PCR işlemine ait temsili parmak izi sonuçları

Yoğurt örneklerinden izole edilen muhtemel laktik basil ve laktik kokların moleküler tanılama sonuçları, sırasıyla, Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Laktik Basil İzolatlarının Genetik Tanı Sonuçları

Sıra	Genetik Tanı Sonucu	Genetik benzerlik oranı (%)	Sekans ID	Temsil ettiği izolat sayısı	Temsil ettiği izolatların numaraları
1	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	99	LS974 444.1	23	2S2, 4M2, 5M1, 6M2, 7M2, 8M2, <u>8M3</u> , 9M3, 12M3, 14M3, 14M5, 17M2, 18M3, 19M4, 27M5, 28M1, 30M4, 31M1, 32M1, 41M2, 46M1, 48M1, 50M1
2	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	100	LT899 687.1	22	8M5, 8M6, 9M1, 9M2, 10M1, 10M2, 10M6, 11M1, 15M3, 16M1, 22S1, 22M2, 23M3, 25M2, 25M3, <u>27M2</u> , 27M3, 28S1, 32M2, 33M1, 36M3, 37M1
3	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	100	CP016 393.1	23	2M1, 3M2, 4M1, 5M4, 5M5, 8S1, 8S2, 9S1, 10M4, 10M5, 12M1, 12M2, 21M1, 22M1, 29M1, 29M3, 30M1, 30M2, 34M1, <u>35M3</u> , 35M4, 36M2, 45S2
4	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	98	CP013 610.1	27	6M1, 6M3, 7M1, 9M4, 10M3, 11M2, 15M1, 16M2, <u>16M3</u> , 17M3, 21M2, 21M3, 26M1, 26M2, 21S1, 23S2, 27M4, 29M4, 33M2, 34M2, 37M2, 38M2, 40M1, 40M2, 42M2, 47M1, 47M2

Altı çizili numaralar sekans işlemi için gönderilen temsili izolatları ifade etmektedir.

Çizelge 4.5. Laktik Kok İzolatlarının Genetik Tanı Sonuçları

Sıra	Genetik Tanı Sonucu	Genetik benzerlik	Sekans ID	Temsil ettiği izolat sayısı % oranı	Temsil ettiği izolatların numaraları
1	<i>Streptococcus thermophilus</i>	99	LS974444.1	19	1S1, 1M3, 3S2, 4S1, 5S2, <u>10S2</u> , 16S1, 17S2, 20S6, 25S1, 28S2, 35S2, 36S2, 39S2, 43S1, 44S1, 48S1, 48M2, 49M1
2	<i>Streptococcus thermophilus</i>	100	LS483339.1	13	2S1, 2S4, 6S1, 33S2, 36S1, 37S1, <u>37S2</u> , 41S1, 42S2, 42S3, 44M2, 46M2
3	<i>Streptococcus thermophilus</i>	99	MF798950.1	15	1S4, 5S1, 9S2, 9S3, <u>14S2</u> , 30S5, 31S1, 39S1, 43M1, 43M2, 44M1, 45S3, 46S3, 47S2, 49S2
4	<i>Streptococcus thermophilus</i>	99	CP006819.1	15	1S2, 1S3, 2S3, 9S5, 10S1, 16S2, <u>17S1</u> , 18S1, 20S1, 30S3, 30S4, 41M1, 42M1, 46S1, 47S1
5	<i>Streptococcus thermophilus</i>	99	LC096241.1	15	11S1, 19S2, 20M2, 23M1, 23M2, 30S1, 30S2, <u>32S1</u> , 41S2, 42S1, 43S2, 44S2, 45S1, 45S4
6	<i>Streptococcus thermophilus</i>	99	CP025216.1	14	11S3, 11S4, 12S2, 14S1, 18S3, 19S1, 20S2, 30M3, <u>36S3</u> , 39M2, 48S2, 48S3, 48S4, 48S5
7	<i>Streptococcus thermophilus</i>	99	MF798811.1	13	1M1, 5S3, 11S2, 15S1, 17S3, 18S2, <u>20S4</u> , 20S5, 25M1, 25S2, 26S1, 27S1, 27S2

Altı çizili numaralar sekans işlemi için gönderilen temsili izolatları ifade etmektedir.

Tablolardan da görüldüğü üzere (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5'te) elde edilen izolatlar yoğurt üretiminde kullanılan suşlar olup toplam 11 farklı alt türden oluşmaktadır.

Georgalaki *et al.* (2017) yaptıkları çalışmada, yoğurt örnekleri üzerinden çalışılmış ve 53 suş izole edilmiştir. Tanılama işlemi sonucunda bu suşların *Lactobacillus*, *Enterococcus spp.*, *S. thermophilus* ve *L. lactis* oldukları tespit edilmiştir.

Kuda *et al.* (2016) Japonya'nın sahil kesimlerinden elde ettikleri fermente ürünlerden izole edilen LAB'lar üzerinde tanılama işlemi yapmışlardır. 138 LAB izolatının tanılanması sonucu 6 farklı *L. plantarum* ve 4 farklı *L. lactis* suşu tespit edilmiştir.

Yu *et al.* (2015) tarafından yapılan çalışmada, Rusya'da geleneksel yöntemlerle üretilmiş fermente süt ürünleri toplanmış ve MRS-M17 besiyerleri kullanılarak 599 muhtemel LAB izole edilmiştir. İzolatlar içerisinde baskın suşlar *L. helveticus* ve *L. plantarum* olarak tespit edilmiştir.

4.4. Fizikokimyasal Bulgular

Yoğurt örneklerinin fizikokimyasal analizler uygulanmış ve sonuçlar Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Yoğurt örneklerinin pH sonuçları minimum 3,12; maksimum 4,46; ortalama 3,74 olarak tespit edilmiştir. Evlerde yapılmış yoğurtların pH sonuçlarının ortalaması 3,76; endüstriyel olarak üretilen yoğurtların ise 3,69 olduğu gözlemlenmiştir.

Yoğurt örneklerinden elde edilen % asitlik sonuçlarına göre; minimum, maksimum ve ortalama değerleri, sırasıyla, 0,37; 1,56 ve 1,17'dir. Evlerde üretilmiş yoğurtların % asitlik analiz sonuçlarının ortalaması 1,16 iken, endüstriyel yoğurtların 1,17 olduğu bulunmuştur. Ortalama pH ve % asitlik değerleri bakımından ev yapımı ve endüstriyel yoğurtlar arasında farklılıkların bulunduğu, fakat bu farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Celik (2007) tarafından yapılan çalışmada, 20 yoğurt örneğinin pH değerlerinin ortalaması 4,4 olarak bulunmuştur. Dincel (2012)'in yaptığı çalışmada; 38 yoğurt örneği ile çalışılmış ve analiz sonuçlarına göre ortalama pH değeri 4,23; ortalama % asitlik değeri ise 1,17 olarak bulunmuştur. Herdem (2006) tarafından yapılan çalışmada ise, geleneksel olarak üretilen 50 yoğurt örneği üzerinde çalışılmıştır. Çalışma sonucu elde edilen ortalama % asitlik 1,40; ortalama pH 4,02 bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise pH ortalama 3,74; % asitlik ortalama 1,17 olarak tespit edilmiştir. Yoğurt örneklerinin çoğunlukla evlerden toplanmış olması, tarafımızca üretilmemiş olması ve muhafaza şartları gibi nedenler pH değerlerinin düşük olmasının nedeni olarak düşünülebilir. pH değerlerinin arasındaki farka rağmen çalışmamızda bulunan ortalama % asitlik değeri diğer çalışmalarla uygunluk göstermektedir.

Çizelge 4.6. Yoğurt numunelerinin fizikokimyasal analiz sonuçları

Numune	Tekrar	pH	% Asitlik	Numune	Tekrar	pH	% Asitlik	Numune	Tekrar	pH	% Asitlik
1	1	4,08	0,95	19	1	4,06	0,86	37	1	3,18	1,25
	2	4,06	0,96		2	4,09	0,85		2	3,19	1,24
2	1	3,83	1,10	20	1	4,45	0,37	38	1	3,12	1,33
	2	3,81	1,08		2	4,46	0,38		2	3,15	1,32
3	1	4,15	1,10	21	1	4,41	0,72	39	1	3,68	1,17
	2	4,10	1,07		2	4,40	0,71		2	3,68	1,18
4	1	3,79	1,33	22	1	3,98	1,34	40	1	3,41	1,08
	2	3,83	1,35		2	3,98	1,35		2	3,40	1,08
5	1	4,06	1,16	23	1	3,60	1,50	41	1	3,40	1,32
	2	4,08	1,16		2	3,62	1,49		2	3,42	1,32
6	1	3,94	1,21	24	1	3,52	0,87	42	1	3,58	1,45
	2	3,89	1,22		2	3,50	0,88		2	3,59	1,45
7	1	3,80	1,13	25	1	3,40	1,41	43	1	3,72	0,98
	2	3,81	1,12		2	3,40	1,40		2	3,71	1,00
8	1	4,15	0,84	26	1	3,22	1,29	44	1	3,93	1,27
	2	4,20	0,85		2	3,25	1,29		2	3,92	1,25
9	1	3,90	1,16	27	1	3,35	1,16	45	1	3,78	1,06
	2	3,86	1,18		2	3,36	1,14		2	3,77	1,05
10	1	4,09	0,99	28	1	3,32	1,18	46	1	3,59	1,04
	2	4,11	1,01		2	3,30	1,19		2	3,58	1,03
11	1	3,95	1,26	29	1	3,60	1,26	47	1	3,47	1,14
	2	3,88	1,25		2	3,62	1,25		2	3,48	1,13
12	1	3,74	1,37	30	1	3,83	1,10	48	1	3,66	1,02
	2	3,67	1,36		2	3,82	1,08		2	3,65	1,01
13	1	3,90	1,21	31	1	3,47	1,15	49	1	4,31	1,00
	2	3,92	1,20		2	3,44	1,16		2	4,30	0,99
14	1	3,85	1,41	32	1	3,40	1,27	50	1	3,98	1,47
	2	3,85	1,40		2	3,41	1,28		2	3,99	1,47
15	1	3,91	1,15	33	1	3,43	1,27	Min.		3,12	0,37
	2	3,86	1,15		2	3,43	1,27	Max.		4,46	1,56
16	1	4,01	1,15	34	1	3,43	1,11	Ev Ort.		3,76 ^a	1,16 ^a
	2	4,03	1,17		2	3,42	1,10				
17	1	3,90	1,13	35	1	3,60	1,28	End. Ort.		3,69 ^a	1,17 ^a
	2	3,91	1,11		2	3,63	1,28	Ortalama		3,74	1,17
18	1	3,60	1,55	36	1	3,34	1,38	Std. Sapma		0,31	0,21
	2	3,65	1,56		2	3,35	1,39				

5. SONUÇ

Erzurum ilinin çeşitli bölgelerinden 36'sı ev yapımı, 14'ü endüstriyel üretim olmak üzere toplam 50 yoğurt örneği toplanmıştır. Elde edilen yoğurt örnekleri laboratuvara getirilerek bazı fizikokimyasal ve mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır. Bu amaçla örneklerde toplam muhtemel laktik basil, laktik kok, maya-küf ve koliform grubu mikroorganizma sayımları gerçekleştirilmiştir. Fizikokimyasal analizlerden ise pH ve % asitlik yapılmıştır. İzole edilen mikroorganizmalar ileri çalışmalarda kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir. Bu amaçla LAB grubuna ait 198 bakteri izolatu elde edilmiştir. Bunların 94 tanesi M17 ve 104 tanesi MRS besiyerinden izole edilmiştir.

Çalışmamızda izole edilen bakteri kültürleri Atatürk Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarında kültür koleksiyonuna eklenmiştir. İzolatlar %20'lik gliserol çözeltisi içinde – 80°C'de depolanmıştır.

Yapılan analizler sonucunda aşağıda belirtilen bulgular tespit edilmiş olup ilgili sonuçlara varılmıştır.

✓ Toplam 198 suşun %24,2'sinin (48 izolat) mide ve safra bariyerlerini geçebildiği tespit edilmiştir. Böylece ileri probiyotik çalışmalar tamamlandığında kullanım imkanı olan yeterli sayıda suş izole edilebildiği görülmektedir.

✓ Yoğurt örneklerinden izole edilen; 5M5, 6M3, 7M1, 7M2, 8M3, 9M2, 9M4, 10M2, 10M3, 10M4, 10M6, 11M2, 12M3, 14M3, 22M1, 26M1, 27M4, 29M4, 30M1, 33M1, 33M2, 34M2, 35M2, 38M2, 41M1, 42M1, 50M1, 1S2, 2S2, 2S4, 9S5, 23S2, 28S2, 30S3, 35S2, 36S1, 36S3, 39S2, 42S1, 42S3, 43S2, 44S1, 45S1, 45S3, 46S3, 47S1, 48S5, 49S2 numaralı suşların daha sonraki çalışmalar veya üretimde potansiyel probiyotik olarak kullanılabilceği anlaşılmıştır.

- ✓ Çalışmada endüstriyel örneklerde olduğu gibi ev tipi örneklerde de tek suş izolasyonu saptanmıştır. Yani ürünün oluşturulmasında tek bir tür bakteri kullanılmıştır. Bu durum endüstriyel yoğurtların mayalamada kullanıldığını ve genel yoğurt kültürümüzün de bu yolla değişime uğradığı fikrini doğrulamaktadır. Böylece zamanla endüstriyel ürünlerden mayalama işlemi arttıkça geleneksel suşlarımızın da kaybolacağı gerçeği ile karşı karşıya olduğumuz ortaya çıkmaktadır. Dolayısı ile yoğurt orjinli izolasyon çalışmaları her zamankinden fazla öneme sahip görülmektedir.
- ✓ Çalışmada, 4 farklı laktik basil ve 7 farklı laktik kok suş tipi belirlenmiştir. Böylece yoğurt örneklerinin suş bazında çeşitliliği de ortaya koyulmuştur. Elde edilen izolatların beklendiği üzere *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* suşlarına ait olduğu görülmüştür.
- ✓ Örneklerin hiç birisinde koliform grubu bakterinin tespit edilmemiş olması yoğurdun genel olarak güvenli bir ürün olduğu düşüncesini tekrar teyit etmiştir.
- ✓ Yoğurt geniş tüketim miktarı nedeni ile probiyotik olarak üretilmesi durumunda toplum sağlığını olumlu etkileyecek öneme sahiptir. Dolayısı ile elde edilecek probiyotik karakterde suşların yoğurt üretiminde kullanılması hem ülkemiz ekonomisi hem de toplum sağlığı açısından özel öneme sahiptir.

KAYNAKLAR

- Al-Bayati, A. A. K., 2014. Isolation and Molecular Identification of Some Lactic Acid Bacteria From Traditionally Made Fermented Food. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Anonim, 2009. T.C. Resmi Gazete, Fermente Süt Ürünleri Tebliği, 27143.
- Argyri, A. A., Zoumpopoulou, G., Karatzas, K.-A. G., Tsakalidou, E., Nychas, G.-J. E., Panagou, E. Z., Tassou, C. C., 2013. Selection of potential probiotic lactic acid bacteria from fermented olives by in vitro tests. *Food Microbiology*, 33(2), 282-291.
- Arslan, S., 2017. Türkiye'nin Farklı Yörelerinden Toplanan Beyaz Peynir Örneklerinden Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Moleküler Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Bai, L., Ji, S., 2017. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Koumiss in Eastern Inner Mongolia of China. *AIP Conference Proceedings*, 1794(1).
- Boke, H., Aslim, B., Alp, G., 2010. The Role of Resistance to Bile Salts and Acid Tolerance of Exopolysaccharides (Eps) Produced by Yogurt Starter Bacteria. *Archives of Biological Sciences*, 62(2), 323-328.
- Bölükbaşı, B., 2007. Trakya Bölgesinde Farklı Köylerden Alınan Yoğurtlardan Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, Bunların EPS (Ekzopolisakkarit) Üretim Kapiliyetlerinin Belirlenmesi ve Bu Bakteriler Kullanılarak Ayran Üretimine Uygun Kombinasyonlarının Seçilmesi Üzerine Bir Arastırma. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Brink, M., Todorov, S. D., Martin, J. H., Senekal, M., Dicks, L. M. T., 2006. The effect of prebiotics on production of antimicrobial compounds, resistance to growth at low pH and in the presence of bile, and adhesion of probiotic cells to intestinal mucus. *Journal of Applied Microbiology*, 100(4), 813-820.
- Celik, E. S., 2007. Determination Of Aroma Compounds And Exopolysaccharides Formation By Lactic Acid Bacteria Isolated From Traditional Yogurt. Yüksek Lisans Tezi, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mimarlık ve Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Cetin, B., 2011. Production of probiotic mixed pickles (Tursu) and microbiological properties. *African Journal of Biotechnology*, 10(66), 14926-14931.
- Cho, Y. H., Hong, S. M., Kim, C. H., 2013. Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Kimchi, Korean Traditional Fermented Food to Apply into Fermented Dairy Products. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 33(1), 75-82.
- Cisem, B., 2003. Isolation and Molecular Characterization of Lactic Acid Bacteria From Cheese. Yüksek Lisans Tezi, İzmir Institute of Technology, İzmir.
- De Sant'Anna, F. M., Acurcio, L. B., Alvim, L. B., De Castro, R. D., De Oliveira, L. G., Da Silva, A. M., Souza, M. R., 2017. Assessment of the probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from Minas artisanal cheese produced in the Campo das Vertentes region, Brazil. *International Journal of Dairy Technology*, 70(4), 592-601.

- Demir, E., Kaygusuz, E., Basyigit Kılıc, G., Yuce, S., Soyucok, 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(1), 262-267.
- Demirci, A., 2017. Ağrı Yöresindeki Bazı Yoğurt Örneklerinde Çeşitli Bakterilerinin İzolasyon ve Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ağrı.
- Demirci, M., Simsek, O., 1997. Süt İşleme Teknolojisi, Hasad Yayıncılık Ltd. Şti., İstanbul.
- Dincel, S., 2012. Chemical And Rheological Properties Of Yoghurt Produced By Lactic Acid Cultures Isolated From Traditional Turkish Yoghurt. Master's Thesis, Food Engineering Department, Middle East Technical University.
- Dunne, C., O'Mahony, L., Murphy, L., Thornton, G., Morrissey, D., O'Halloran, S., Collins, J. K., 2001. In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. The American Journal of Clinical Nutrition, 73(2), 386-392.
- Elcioglu, O., Kunduhoglu, B., 2014. Probiotic Characteristics of Natural Lactobacilli Isolated From Traditional Kargi Tulum Cheese. Italian Journal of Food Science, 26(1), 31-40.
- Erkkila, S., Petaja, E., 2000. Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use. Meat Science, 55(3), 297-300.
- Erkus, O., 2007. Isolation, Phenotypic and Genotypic Characterization of Yoghurt Starter Bacteria. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Ertürkmen, P., Öner, Z., 2015. Beyaz Peynir Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Başlatıcı (Starter) Kültür Özelliklerinin Biyokimyasal Yöntemlerle Belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 19(3), 9-16.
- Evren, M., Apan, M., Tutkun, E., Evren, S., 2011. Geleneksel Fermente Gıdalarda Bulunan Laktik Asit Bakterileri. Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi, 9(1), 11-17.
- Fooks, L. J., Fuller, R., Gibson, G. R., 1999. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. International Dairy Journal, 9, 53-61.
- Fuller, R., 1989. Probiotic in man and animals. Journal of Applied Bacteriology, 66, 365-378.
- Fuller, R., 1991. Probiotics in human medicine. Gut, 32, 439-442.
- Georgalakis, M., Zoumpopoulou, G., Mavrogonatou, E., Van Driessche G., Voula, A., Rania, A., Marina, P., Maria, K., Eugenia, M., Dimitris, K., Bart, D., Konstantinos, P., Tsakalidou, E., 2017. Evaluation of the antihypertensive angiotensin-converting enzyme inhibitory (ACE-I) activity and other probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditional Greek dairy products. International Dairy Journal, 75, 10-21.
- Gobbetti, M., Di Cagno, R., De Angelis, M., 2010. Functional Microorganisms for Functional Food Quality. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 50, 716-727.
- Harrigan, W. F., 1998. Laboratory Methods in Food Microbiology. Academic Press, San Diego, USA.

- He, S. B., Hong, X. Y., Huang, T. X., Zhang, W. Q., Zhou, Y. X., Wu, L. N., Yan, X. M., 2017. Rapid quantification of live/dead lactic acid bacteria in probiotic products using high-sensitivity flow cytometry. *Methods and Applications in Fluorescence*, 5(2), 1-9.
- Herdem, A., 2006. Farkli Yörelere Toplanan Geleneksel Yöntemle Üretilen Yoğurt Örneklerinin Bazı Niteliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Hislioglu, E. G., 2007. Ağrı İlinde Tüketime Sunulan Yoğurtların Kimyasal Ve Mikrobiyolojik Kalitesi. Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.
- İspirli, H., 2016. Erzincan Tulum Peynirinden Laktik Asit Bakterilerinin (Lab) İzolasyonu, Moleküler Metotlarla Tanımlanması Ve Ekzopolisakarit (Eps) Üretim Potansiyellerinin Genetik Olarak Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bayburt.
- İspirli, H., Dertli, E., 2017. Isolation and identification of exopolysaccharide producer lactic acid bacteria from Turkish yogurt. *Journal of Food Process and Preservation*, 42(1).
- Iyer, C., Kailasapathy, K., 2005. Effect of Co-encapsulation of Probiotics with Prebiotics on Increasing the Viability of Encapsulated Bacteria under In Vitro Acidic and Bile Salt Conditions and in Yogurt. *Journal of Food Science*, 70(1), M18-M23.
- Jahangiri, L., Sudagar, M., Ashayerizadeh, O., Kolangi, H., Tabarraei, A., 2018. Isolation of Probiotic Bacteria from Guppy *Poecilia reticulata* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18(6), 809-815.
- Jamaly, N., Benjouad, A., Bouksaim, M., 2011. Probiotic Potential of Lactobacillus strains Isolated from Known Popular Traditional Moroccan Dairy Products. *British Microbiology Research Journal*, 1(4), 79-94.
- Kathleen, M. M., Samuel, L., Felecia, C., Ng K. H., Lesley, M. B., Kasing, A., 2014. (GTG)₅-PCR analysis and 16S rRNA sequencing of bacteria from Sarawak aquaculture environment. *International Food Research Journal*, 21(3), 915-920.
- Kaur, M., Singh, H., Jangra, M., Kaur, L., Jaswal, P., Dureja, C., Pinnaka, A. K., 2017. Lactic acid bacteria isolated from yak milk show probiotic potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(20), 7635-7652.
- Kuda, T., Kataoka, M., Nemoto, M., Kawahara, M., Takahashi, H., Kimura, B., 2016. Isolation of lactic acid bacteria from plants of the coastal Satoumi regions for use as starter cultures in fermented milk and soymilk production. *Food Science and Technology*, 68, 202-207.
- Meira, Q. G. S., Magnani, M., de Medeiros Junior, F. C., Queiroga, R. d. C. R. d. E., Madruga, M. S., Gullón, B., de Souza, E. L., 2015. Effects of added Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium lactis probiotics on the quality characteristics of goat ricotta and their survival under simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 76, 828-838.
- Metin, M., 2009. Sütün Yapısı ve Özellikleri. 2. Baskı, Ege Üniversitesi Yayınları, Ege Meslek Yüksekokulu No:28, İzmir.

- Muyanja, C. M. B. K., Narvhus, J. A., Treimo, J., Langsrud, T., 2003. Isolation, characterisation and identification of lactic acid bacteria from bushera: a Ugandan traditional fermented beverage. *International Journal of Food Microbiology*, 80(3), 201-210.
- Niamah, A. K., Sahi, A. A., Al-Sharifi, A. S. N., 2017. Effect of Feeding Soy Milk Fermented by Probiotic Bacteria on Some Blood Criteria and Weight of Experimental Animals. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 9(3), 284-291.
- Ojha, K. S., Kerry, J. P., Duffy, G., Beresford, T., Tiwari, B. K., 2015. Technological advances for enhancing quality and safety of fermented meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 44(1), 105-116.
- Okuklu, B., 2014. Isolation, Characterization, and Screening Probiotic Properties Of Artisanal Yoghurt Starter Strains From Urla Region. Yüksek Lisans Tezi, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, İzmir.
- Oz, E., Kaban, G., Baris, O., Kaya, M., 2017. Isolation and identification of lactic acid bacteria from pastırma. *Food Control*, 77, 158-162.
- Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E., Kotzekidou, P., 2003. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Science*, 65(2), 859-867.
- Pichhardt, K., 2004. Gıda mikrobiyolojisi (Gıda Endüstrisi için Temel Esaslar ve Uygulamalar) (çevirenler: Y. Sekin, N. Karagözlü), Literatür Yayıncılık, İstanbul, Türkiye.
- Priyodip, P., Prakash, P. Y., Balaji, S., 2017. Phytases of Probiotic Bacteria: Characteristics and Beneficial Aspects. *Indian Journal of Microbiology*, 57(2), 148-154.
- Puupponen-Pimia, R., Aura, A. M., Oksman-Caldentey, K. M., Myllarinen, P., Saarela, M., Mattila-Sanholm, T., Poutanen, K., 2002. Development of functional ingredients for gut health. *Trends in Food Science & Technology*, 13, 3–11.
- Rolfe, D. R., 2000. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *The Journal of Nutrition*, 130(2), 396–402.
- Salminen, S., Isolauri, E., Salminen, E., 1996. Probiotics and stabilization of the gut mucosal barrier. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 5, 53-56.
- Savello, P. A., Ernstrom, C. A., Kalab, M., 1989. Microstructure and meltability of model process cheese made with rennet and acid casein. *Journal of Dairy Science*, 72, 1-11.
- Sert, D., Mercan, E., Dertli, E., 2017. Characterization of lactic acid bacteria from yogurt-like product fermented with pine cone and determination of their role on physicochemical, textural and microbiological properties of product. *Food Science and Technology*, 78, 70-76.
- Sert, S., 2002. Genel Mikrobiyoloji Laboratuvar Notları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 138 (Üçüncü Baskı), Erzurum.
- Singh, A. K., Ramesh, A., 2009. Evaluation of a facile method of template DNA preparation for PCR-based detection and typing of lactic acid bacteria. *Food Microbiology*, 26, 504–513.
- Speck, M. L., 1984. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association, Washington.

- Thamacharoensuk, T., Taweechotipatr, M., Kajikawa, A., Okada, S., Tanasupawat, S., 2017. Induction of cellular immunity interleukin-12, antiproliferative effect, and related probiotic properties of lactic acid bacteria isolated in Thailand. *Annals of Microbiology*, 67(8), 511-518.
- Tournas, V., Stack, M. E., Mislivec, P. B., Koch, H. A., Bandler, R., 1998. *Yeasts, Molds and Mycotoxins*, (Bacteriological Analytical Manual), FDA ed. Gaithersburg, MD, USA pp. 227-234.
- TSE, TS ISO 9232, 2004. Yoğurt – Yoğurda Özgü Mikroorganizmaların (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus*) Belirlenmesi.
- Tulumoglu, S., 1996. Silivri yoğurdundan izole edilen laktik asit bakterilerinin metabolik ve antimikrobiyal aktiviteleri. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- TÜİK, 2018. Türkiye İstatistik Kurumu. Ankara.
- Vasdinyei, R., Deák, T., 2003. Characterization of Yeast Isolates Originating from Hungarian Dairy Products Using Traditional and Molecular Identification Techniques. *International Journal of Food Microbiology*, 86, 123–130.
- Vizoso Pinto, M. G., Franz, C. M. A. P., Schillinger, U., Holzappel, W. H., 2006. *Lactobacillus* spp. with in vitro probiotic properties from human faeces and traditional fermented products. *International Journal of Food Microbiology*, 109(3), 205-214.
- Wang, D., Liu, W., Ren, Y., De, L., Zhang, D., Yang, Y., Menghe, B., 2016. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Traditional Dairy Products in Baotou and Bayannur of Midwestern Inner Mongolia and q-PCR Analysis of Predominant Species. *Korean J. Food Sci. An*, 36(4), 499-507.
- Yang, M. L., Jiang, R., Liu, M., Chen, S. J., He, L., Ao, X. L., Zhou, K., 2017. Study of the Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Chinese Traditional Fermented Pickles. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(3).
- Yu, J., Wang, H. M., Zha, M. S., Qing, Y. T., Bai, N., Ren, Y., Xi, X. X., Lui, J., Menghe, B. L. G., Zhang, H. P., 2015. Molecular identification and quantification of lactic acid bacteria in traditional fermented dairy foods of Russia. *Journal of Dairy Science*, 98(8), 5143-5154.
- Zhao, Q. Z., Wang, J. S., Zhao, M. M., Jiang, Y. M., Chun, C., 2006. Effect of Casein Hydrolysates on Yogurt Fermentation and Texture Properties during Storage. *Food Technol. Biotechnol.*, 44(3), 429–434.
- Zorba, M., Hancioglu, O., Genc, M., Karapinar, M., Ova, G., 2003. The use of starter cultures in the fermentation of boza, a traditional Turkish beverage. *Process Biochemistry*, 38, 1405-1411.

ÖZGEÇMİŞ

1992 yılında Erzurum ilinde dünyaya geldi. İlk ve orta öğretimini ılıca ilçesinde tamamladıktan sonra yüksek Atatürk Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünü kazandı. 2015 yılında fakülteden mezun olup aynı yıl lisansüstü eğitim almaya hakkazandı. İlk yıl İngilizce hazırlık eğitiminden sonra şuan yüksek lisans tez aşamasında öğrenim görmeye devam etmektedir.

