

Maraş Et Sucuğunda Ekzopolisakkarit Üreten Mikroorganizmaların Tespiti

Zeynep KURT^{1a}, Özlem TURGAY^{2b*}

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, Türkiye

²Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye

^a<https://orcid.org/0000-0003-2652-5633>; ^b<https://orcid.org/0000-0003-2286-833X>

*Sorumlu yazar: ozlem@ksu.edu.tr

ÖZET

Ekzopolisakkaritler (EPS) de laktik asit bakterilerinin (LAB) fermentasyon sonucu hücre dışında oluşturdukları polisakkarit yapıda maddelerdir. EPS'ler prebiyotik özellik gösterdikleri gibi gıda endüstrisinde jelleştirici, emülsifiye edici, stabilizatör olarak da kullanılmaktadırlar. Ayrıca EPS'nin sağlık üzerine bağışıklık sistemini geliştirici, kolesterolü düşürücü, antiülser ve antitümör gibi olumlu etkilerinin olduğu belirtilmiştir. Genel olarak güvenilir kabul edilen (GRAS) özellikte olmaları da ekzopolisakkaritlerin önemini artırmaktadır. Bu çalışmada, fermente sucuk üretiminde hakim flora olan laktik asit bakterilerinden EPS üreten bakterileri türleri ve ürettikleri EPS miktarı tespit edilmiştir. Bu amaçla Kahramanmaraş piyasasındaki kasaplarda üretilen 10 farklı kasaptan elde edilen sucuk örneklerinden LAB izole edilmiş ve izole edilen laktik asit bakterilerinin ürettikleri ekzopolisakkarit miktarı fenol sülfürik asit yöntemi ile belirlenmiştir. Daha sonra izole edilen bakterilerin karakterizasyonu PCR ile yapılmıştır. Sonuç olarak 10 farklı kasaptan temin edilen sucuklarda *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Bacillus subtilis* bakterileri tespit edilmiştir. Bu sucuklardan izole edilen toplam 56 suşun ürettiği EPS miktarının 20,19 ile 109,10 ppm arasında değiştiği tespit edilmiştir. Kullanılan örnekler içerisinde hem en düşük hem de en yüksek EPS üreten suşun *L. plantarum* olduğu belirlenmiştir.

MAKALE BİLGİSİ

Araştırma Makalesi

Geliş : 27.07.2021

Kabul: 08.04.2022

Anahtar kelimeler:

Laktik asit bakterileri, ekzopolisakkarit, sucuk, *Lactobacillus plantarum*

Determination of Exopolysaccharide Producing Microorganisms in Maras Meat Sausages

ABSTRACT

Exopolysaccharides (EPS) are polysaccharides that synthesized extracellularly by lactic acid bacteria as a result of fermentation. These polysaccharides have prebiotic characteristics, also in food industry they are used as gelling agent, emulsifier, and stabilizer. Furthermore, they have a positive effect on health because of digestive, cholesterol lowering, anti-tumor, anti-ulcer properties. Also, they are generally recognized as safe (GRAS) property, for this reason their importance is rising. In fermented sausage, lactic acid bacteria are dominant flora like many fermented products. In this study, lactic acid bacteria that produced exopolysaccharide in fermented sausage and amount of exopolysaccharides produced by LAB which were dominant flora in that product were determined. For this purpose; LAB isolated from fermented sausages which were obtained from 10 different butchers that were located in Kahramanmaraş. Phenol-sulphuric acid method was used for determination of amount of produced EPS. After that; characterization of LAB was made with PCR. As a result; *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus* and *Bacillus subtilis* strains characterized from sausages that obtained from 10 different butchers in Kahramanmaraş. It was detected that; the amount of EPS which obtained from 56 strains was between 20.19-109.10 ppm. Also, it was detected that both of highest and lowest EPS producer strain was *L. plantarum*.

ARTICLE INFO

Research article

Received: 27.07.2021

Accepted: 08.04.2022

Keywords:

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

GİRİŞ

Et ve et ürünleri içerdiği elzem proteinler, yüksek biyolojik değer ve kendine özgü lezzet bileşenlerini nedeniyle beslenmede önemli bir yer tutmaktadır (Pürçüklü 2021). Ülkemizde etin yanı sıra et ürünleri de oldukça rağbet görmektedir. Tüketici tarafından en çok tercih edilen et ürünlerinin başında ise sucuk gelmektedir. Sucuğun yüksek oranda tercih edilmesi damak tadına uygunluğunun yanında fermente bir ürün olmasından dolayı içerdiği faydalı mikroorganizmaların fonksiyonel özelliklerinden de ileri gelmektedir. Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği'nde (Tebliğ No:2012/74) fermente sucuk "Büyükbaş ve küçükbaş hayvan etlerinin ve yağlarının kıyılarak lezzet vericiler ile karıştırıldıktan sonra doğal veya yapay kılıflara doldurularak belirli koşullarda fermantasyon ve kurutma işlemleri uygulanarak nem oranı %40 ve altına düşürülmüş, kesit yüzeyi mozaik görünümünde olan ısı işlem uygulanmamış fermente et ürünüdür" şeklinde tanımlanmıştır (Anonim 2012). Ticari olarak üretilen sucuklarda genellikle starter kültür eklenerek üretim yapılırsa da geleneksel yöntemde genellikle ürünün kendi yapısında bulunan mikroorganizmalar aktiflik göstermektedir. Geleneksel yolla üretilen sucuklar çoğu üründe olduğu gibi duyuşal özellikleri nedeniyle daha çok kabul görmektedir. Kahramanmaraş kasaplarında üretilen et sucukları Türk Patent ve Marka Kurumu tarafından "Maraş Et Sucuğu" olarak 2019'dan başlamak üzere 10 yıl süreyle tescillenmiştir.

Mikroorganizmaların varlığının ve fermantasyon kimyasının 19. yüzyılda keşfedilmesiyle fermente ürünler hayatımıza girmiştir. Fermantasyon tekniği kullanılarak et ürünleri, süt ürünleri, tahıl ürünleri, alkollü içecekler gibi birçok fermente ürün küresel çapta üretilmektedir (Akgül 2020). Sucuk da bu ürünlerden biridir. Sucuk fermantasyonunda aktiflik gösteren mikroorganizma grupları laktobasiller, stafilokoklar, mikrokoklar, küf ve mayalardır (Leroy ve ark. 2006). Daha spesifik olarak ise sucuk fermantasyonunda baskın floranın laktik asit bakterileri olduğu (*Lactobacillus plantarum*, *L. curvatus*, *L. petosus*, *L. fermentum*, *L. brevis*, *Pediococcus pentosaceus*, *P. acidilactici*, *L. agilis*, *L. carnis*), baskın türlerin ise *L. sakei* ve *L. curvatus* türleri olduğu bilinmektedir (Evren ve ark. 2011; Erten ve ark. 2014). Bu mikroorganizma grupları sucuğun kendine has aroması, tadı, lezzeti ve tekstürel özelliklerinden sorumludur.

Laktik asit bakterileri, fermantasyon sistemleri, asit üretimi aside tolerans gibi özellikleri ile diğer mikroorganizmalarla güçlü bir şekilde mücadele edebilmektedir (Wright ve Axelsson 2019). Bu özellikleri ile de fermente ürünlerin çoğunda fermantasyonu yöneten bakteriler olarak rol almaktadırlar. Bazı gıdalarda doğal olarak bulunabildiği gibi bazı gıdalara starter kültür olarak ayrıca da eklenebilmektedirler. Laktik asit bakterileri fermantasyon sonucu oluşturdukları son ürünlerin etkisiyle buldukları ürüne birçok olumlu özelliğin kazandırılmasında öncü olurlar. Ayrıca bakteriyosin sentezi, antibiyotiklere dirençlilik, ekzopolisakkarit üretimi, bakteriyofaj dirençlilik, bağışıklık sisteminin geliştirilmesi, kolesterolün düzenlenmesi, kansere neden olan maddelerin detoksikasyonu ve probiyotik özelliklerinin olması hem sağlık açısından hem de raf ömrü, mikrobiyel güvenlik, yapı ve duyuşal özellikler açısından olumlu etkiler sağlamaktadırlar (Sağlam ve Karahan 2017).

Laktik asit bakterilerinin ürettiği metabolitlerin gıda endüstrisi için en önemli olanlarından biri de ekzopolisakkaritlerdir (EPS). Ekzopolisakkaritler fermente gıdalarda endüstriyel olarak teknolojik ve sağlık açısından birçok öneme sahiptir. Son ürünün kalite özelliklerinin artmasını ve yüksek verimli olmasını sağlamalarından, çok düşük konsantrasyonlarda kullanıldıklarında bile viskoz çözelti oluşturmalarından ve psödoplastik bir yapıya sahip olmalarından dolayı da önemleri artmaktadır. Uygun miktarlarda alındıklarında konakçıya sağlık açısından önemli faydalar sağlayan probiyotiklerden yaklaşık olarak 30 *Lactobacillus* cinsi bakterisinin EPS ürettiği gözlemlenmiştir (Badel, Bernardi ve Michaud 2011). Laktik asit bakterilerinden gelen EPS'nin kıvam verici, tekstür düzenleyici, prebiyotik olması nedeniyle sağlığa faydalı olması, üretiminin kolay maliyeti düşürücü etkisi olması ve en önemlisi 'GRAS' statüsünde olmasıdır (Wang ve ark. 2014; Yılmaz ve ark. 2014).

Ekzopolisakkaritler yoğurt, peynir, kefir, fermente sucuk, fermente *Polyporus umbellatus* mantarı gibi ürünlerin fermantasyon aşamasında sentezlenmektedirler. Sentezlenen ekzopolisakkaritlerin ürünlerin kalite özellikleri üzerinde etkisi olup olmadığını tespit edebilmek için tereyağı, kaymak, yoğurt, ayran gibi süt ürünleri başta olmak üzere, kek, ekmek, sucuk gibi ürünler üzerinde çalışmalar yapılmış ve ekzopolisakkarit üreten suşların bu ürünlerde kalite özellikleri üzerinde olumlu etkileri olduğu tespit edilmiştir. Konu ile ilgili yapılmış çalışmalar Çizelge 1'de özetlenmiştir.

Çizelge 1. Konu ile ilgili yapılmış çalışmalar.

| Ürün | Amaç | Sonuç |
|--|--|--|
| Sucuk (Dertli ve ark. 2016) | EPS'nin mikrobiyal, tekstürel, fizikokimyasal ve mikroyapısal özelliklere etkisi. | Bu çalışmayla EPS üretiminin sucuğun son özellikleri üzerinde önemli etkileri olduğu belirlenmiştir. |
| Tereyağı ve Kaymak (Tosun 2016) | Tereyağı ve kaymak üretiminde EPS kullanımının etkisi. | EPS'nin, kaymak ve tereyağında tekstür düzeltici ve aroma artırıcı doğal bir gıda katkı maddesi olarak ticari olanlarının yerine kullanılabileceğini tespit etmiştir. |
| Tulum Peyniri (İspirli 2016) | Tulum peyniri örneklerindeki LAB türlerini izole ederek tanımlamak. | İzole edilen suşlar <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. brevis</i> , <i>Weissella paramesenteroides</i> , <i>Lactococcus garvieae</i> ve <i>L. crustorum</i> . EPS üretim miktarının birbirine yakın olduğunu belirtmiştir. |
| Dondurma, Ayran, Sucuk (Yılmaz ve ark. 2014) | Farklı inkübasyon koşullarında dondurma, ayran ve sucuk üretiminde EPS üreten suşların etkisi. | Ayran, dondurma ve sucuk üretiminde EPS üreten suşların kullanımının ürün özelliklerini olumlu etkilediğini ortaya çıkarmışlardır |
| Süt ve Süt Ürünleri (Pektaş 2014) | Süt ve süt ürünlerinden izole edilen 163 LAB' sinin ekzopolisakkarit üretme yeteneklerini tespit etmek | İzolatların EPS değerlerini 46,65-53,17 ppm arasında bulmuştur |
| Lab Suşları (Mıdık 2011) | Suşların, farklı fermantasyon koşullarında [pH (5.0, 6.0, 7.0), sıcaklık (20°, 30°, 37°C), inkübasyon süresi (48, 120, 192 saat) geliştirilmelerinin EPS üretim miktarlarına etkisini incelemek. | EPS üretimi için en uygun değerlerin pH için 6.0, sıcaklık için 30° C olduğunu belirtmiştir. Fakat en yüksek EPS üretimi için inkübasyon süresinin suşlara göre farklılık gösterdiğini tespit etmiştir. |

Bu çalışmada Kahramanmaraş piyasasında üretilen sucuklardaki laktik asit bakterilerinin yöresel farklılıklardan dolayı ekzopolisakkarit üretim miktarında bir farklılık olup olmadığı ve bu laktik asit bakterilerinin sucukta ekzopolisakkarit üretim yeteneklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada 2019 yılı yaz aylarında Kahramanmaraş piyasasında bulunan 10 farklı kasaptan temin edilen Maraş et sucuğu kullanılmıştır.

LAB'nin izolasyonu

Laboratuvara getirilen sucuk örneklerinden 5g tartılarak 45g fizyolojik tuzlu su içerisinde iyice ezildikten sonra sıvı kısmından 1mL alınarak fizyolojik tuzlu su ile hazırlanmış olan dilüsyon sıvısıyla 10⁻⁶'ya kadar seyreltilmiştir. Hazırlanan dilüsyonlardan laktik asit bakterilerinin izolasyonu için MRS ve M17 agar ve broth besiyerleri kullanılmıştır. Önce hazırlanan dilüsyonlardan agara yayma yöntemi ile ekim yapılmış ve 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra oluşan koloniler brotha alınarak zenginleştirme yapılmıştır. Zenginleştirilen koloniler vortex ile iyice karıştırıldıktan sonra tek koloniye düşürmek için agara çizme yöntemiyle ekim yapılarak aynı şartlarda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda oluşan koloniler brotha alınarak zenginleştirme yapılmıştır. Son olarak zenginleştirilen koloniler yatık olarak hazırlanan agara alınarak aynı şartlarda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda elde edilen saf kolonilerin EPS tayinleri yapılmıştır (Şengül 2001).

EPS tayini

Elde edilen saf koloniler MRS ve M17 broth ortamında 37±1°C'de 24 saat inkübe edilerek iki kez ard arda aktifleştirilmiştir. Aktifleştirilen örneklerden 1 ml ependorf tüplerine aktarılarak, 100°C'de 10-15 dk bekletildikten sonra oda sıcaklığına gelinceye kadar soğutulmuş ve 1 ml örnek üzerine %85'lik Trikloroasetik asit (TCA)'dan %0.17 oranında ilave edilerek, 12000 rpm'de 25 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmından 0.5 ml alınarak diğer bir ependorf tüpüne konulmuş üzerine eşit hacimde etanol ilave edilmiş, 12000 rpm'de 25 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant dökülerek tekrar 0.5 mL etanol ilave edilmiş ve ikinci etanol presipitasyonu için 12000 rpm'de 25 dk santrifüj yapılmıştır. Pelletler 1 ml steril saf suda çözülükten sonra fenol sülfürik asit metodu uygulanmıştır (Torino ve ark. 2001). Örneklerin üzerine önce 0,5 ml fenol ve daha sonra hızlı bir şekilde 5 ml H₂SO₄ ilave edilmiş, 10 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra vorteks ile iyice çalkalanarak, 25-30°C'de 10-20 dakika bekletilmiştir. Süre

bitiminden sonra örneklerin OD değerleri 490 nm dalga boyunda iki paralelli olarak ölçülmüş ve absorbans değerleri elde edilmiştir. EPS üretim miktarlarını belirlemek için 0-100 ppm arasında değişen oranlarda glikoz kullanılarak fenol sülfürik asit metodu uygulanmış ve standart glikoz eğrisi çıkarılmıştır. Ardından elde edilen absorbans değerleri elde edilen kalibrasyon grafiğinde yerine yazılarak örnekte bulunan EPS miktarı ppm cinsinden belirlenmiştir.

PCR ile tanımlama yapılması

Bakteri örneklerinden DNA izolasyonu Luang In ve Deeseenthum'a göre yapılmıştır (Luang In ve Deeseenthum 2016). İzole edilen DNA'ların agaroz jel elektroforezi Devrim ve arkadaşlarının (2007) yöntemine göre yapılmıştır. Çalışmada kullanılan 25 bakteri örneği için DNA Sekans Analizi uygulanarak nükleotid dizilimi çıkarılmıştır. Bu PCR sonrasında Manjula ve arkadaşlarının yöntemi ile sefadex prüfikasyonu yapılmıştır (Manjula ve ark. 2011). Elde edilen DNA nükleotidlerinin NCBI Nükleotid BLAST ile tanımlaması yapılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

İzole Edilen Suşlardan Elde Edilen Toplam EPS

Çalışmada İzole edilen toplam 56 suşun EPS üretim miktarları belirlenmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 2.'de gösterilmiştir. Çizelgedeki harfler farklı kasapları, sayılar ise suşların elde edildikleri dilüsyon oranını ifade etmektedir.

Çizelge 2. Elde edilen izolatların EPS üretim miktarı

| No | Örnek | EPS miktarı (ppm) | No | Örnek | EPS miktarı (ppm) |
|----|-------|-------------------|----|-------|-------------------|
| 1 | A41 | 28.27 | 29 | C5 | 33.97 |
| 2 | A42 | 44.36 | 30 | C61 | 38.01 |
| 3 | A43 | 43.40 | 31 | C62 | 85.90 |
| 4 | A44 | 31.47 | 32 | C63 | 36.15 |
| 5 | A45 | 45.00 | 33 | C64 | 45.64 |
| 6 | A51 | 38.90 | 34 | C66 | 44.49 |
| 7 | A52 | 34.55 | 35 | D4 | 43.66 |
| 8 | B41 | 45.96 | 36 | E65 | 48.78 |
| 9 | B42 | 63.01 | 37 | F61 | 47.12 |
| 10 | B43 | 36.86 | 38 | F62 | 50.32 |
| 11 | B44 | 42.56 | 39 | G5 | 38.65 |
| 12 | B45 | 109.10 | 40 | H41 | 34.74 |
| 13 | B51 | 34.23 | 41 | H42 | 43.46 |
| 14 | B52 | 35.06 | 42 | H43 | 54.29 |
| 15 | B53 | 54.81 | 43 | H51 | 52.95 |
| 16 | B54 | 73.40 | 44 | H52 | 32.69 |
| 17 | B55 | 20.19 | 45 | H53 | 24.42 |
| 18 | B56 | 91.09 | 46 | H61 | 33.08 |
| 19 | B57 | 74.81 | 47 | H62 | 30.00 |
| 20 | B58 | 30.00 | 48 | I94 | 30.13 |
| 21 | B59 | 40.26 | 49 | I95 | 25.04 |
| 22 | B61 | 80.13 | 50 | I6 | 29.10 |
| 23 | B62 | 36.60 | 51 | J4 | 30.58 |
| 24 | B63 | 43.53 | 52 | J51 | 30.06 |
| 25 | B64 | 70.26 | 53 | J52 | 43.08 |
| 26 | B65 | 58.08 | 54 | J53 | 20.26 |
| 27 | B66 | 52.24 | 55 | J61 | 22.24 |
| 28 | C4 | 51.09 | 56 | J62 | 24.10 |

Değerler incelendiğinde suşların ürettiği EPS miktarının 20.19 ile 109.10 ppm arasında değiştiği görülmektedir. Literatürde geleneksel yöntemlerle üretilmiş sucuklarda EPS miktarı ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Fakat EPS üreten suşlar eklenerek üretilen sucuklarda EPS'in etkisinin araştırıldığı bir çalışmada elde edilen EPS miktarı 4.68

ppm ile 15.97 ppm arasında değişmektedir (Yılmaz ve ark. 2014). Bu değerlere bakılarak geleneksel yöntemlerle üretilen sucuklarda EPS üretim miktarının, EPS üreten suş eklenerek üretilen sucuklardaki EPS üretim miktarından yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca EPS'in sucuğun özellikleri üzerine etkisinin de araştırıldığı bu çalışmada sucuk üretiminde EPS üreten suş kullanılmasının sucukların sertlik, gamsılık ve çiğnenebilirlik değerlerini önemli derecede artırdığı belirtilmektedir. Buradan çalışmamızda kullanılan sucukların EPS üretiminin daha yüksek olmasından dolayı belirtilen özelliklerinin de daha yüksek olduğu düşünülmektedir.

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

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

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

Kılıç ve Dönmez, (2019) yaptıkları çalışmada; geliştirdikleri bakterinin en düşük sıcaklıkta (20°C), 189.8 ppm EPS ürettiğini belirlemişlerdir. Sıcaklığı arttırdıklarında ise mikroorganizma tarafından oluşturulan polimerin azaldığını tespit etmişlerdir. Sıcaklık 30°C olduğunda ise üretilen EPS bir miktar daha azalarak 186.7 ppm olduğunu bulmuşlardır. Ortamın sıcaklığı daha da arttırıldığında (40°C) bakterinin ürettiği EPS miktarını, 142.2 ppm olarak tespit etmişlerdir. Bu çalışmaya bakılarak çalışmamızda üretilen EPS miktarının diğer çalışmalarla sınır olarak örtüşmesini fakat alt sınıra yakın değerler bulmamızı mikroorganizmaları 37°C'de geliştirmemizden veya çalışmaların ve sucukların üretiminin yaz aylarında yani nispeten yüksek sıcaklıkta yapılmasına bağlayabiliriz.

Tuşar (2021) yaptığı çalışmada farklı besiyerlerinde, farklı karbon kaynakları (fruktoz, galaktoz, glikoz, ksiloz, laktoz, maltoz, sükroz) ve farklı oranlarda maya özütü (%0.05, %0.1, %0.15 ve %0.2) kullanarak çeşitli bakterilerin EPS üretimini gözlemlemiştir. Buna göre *B. licheniformis* 2ÇS bakterisi için elde edilen en iyi sonuç %0.2- sükroz 121 mg/mL, *B. zhangzhounesis* 2ÇA bakterisi için en iyi sonuç %0.15-sükroz 45 mg/mL, *B. licheniformis* 2ÇS bakterisi için elde edilen en iyi sonuçlar %0.15- sükroz 12.1 mg/mL, %0.15- fruktoz 12.1 mg/mL, *B. licheniformis* 3ÇA2 bakterisi için en iyi sonuç %0.15- sükroz 32.4 mg/mL EPS tespit edilmiştir.

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

EPS Üreten Suşların Tanımlanması

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

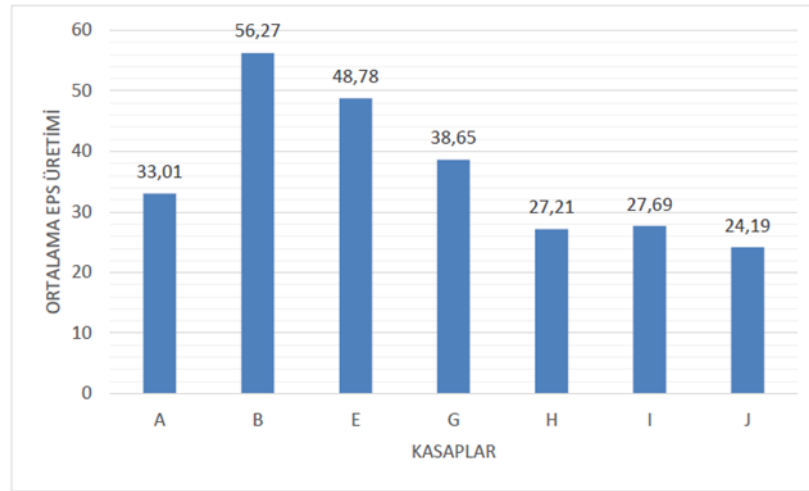
Çizelge 3. PCR tanımlama sonucu ve EPS üretim miktarları

| No | İzolat Kodu | Tanımlama Sonucu | Doğruluk Yüzdesi | EPS Miktarı (ppm) |
|----|-------------|---------------------------------|------------------|-------------------|
| 1 | A42 | <i>Bacillus subtilis</i> | 98% | 44.36 |
| 2 | A44 | <i>Lactobacillus plantarum</i> | 98% | 31.47 |
| 3 | A52 | <i>L. plantarum</i> | 96% | 34.55 |
| 4 | B45 | <i>L. plantarum</i> | 97% | 109.1 |
| 5 | B55 | <i>L. plantarum</i> | 96% | 20.19 |
| 6 | B56 | Tanımlanamadı | | 91.09 |
| 7 | B63 | <i>L. plantarum</i> | 97% | 43.53 |
| 8 | B64 | <i>B. subtilis</i> | 97% | 70.26 |
| 9 | B66 | <i>L. plantarum</i> | 97% | 52.24 |
| 10 | C4 | <i>Pediococcus acidilactici</i> | 99% | 51.09 |
| 11 | C62 | <i>P. acidilactici</i> | 96% | 85.90 |
| 12 | C63 | Tanımlanamadı | | 36.15 |
| 13 | E65 | <i>L. plantarum</i> | 96% | 48.78 |
| 14 | F62 | <i>P. acidilactici</i> | 97% | 50.32 |
| 15 | G5 | <i>L. plantarum</i> | 87% | 38.65 |
| 16 | D4 | Tanımlanamadı | | 43.33 |
| 17 | H43 | <i>B. subtilis</i> | 97% | 54.29 |
| 18 | H52 | <i>P. pentosaceus</i> | 97% | 32.69 |
| 19 | H53 | <i>L. plantarum</i> | 97% | 24.42 |
| 20 | H62 | <i>L. plantarum</i> | 90% | 30.00 |
| 21 | I4 | <i>L. plantarum</i> | 97% | 30.13 |
| 22 | I5 | <i>L. plantarum</i> | 97% | 25.04 |
| 23 | J51 | <i>L. plantarum</i> | 98% | 30.06 |
| 24 | J53 | <i>L. plantarum</i> | 98% | 20.26 |
| 25 | J61 | <i>L. plantarum</i> | 97% | 22.24 |

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

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

Fermente et ürünlerinde, laktobasiller içerisinde güvenilirliği, farklı şekerleri kullanabilme yetenekleri, çeşitli ortamlara kolay adapte olabilmesi, sahip olduğu prebiyotik özellik ve ayrıca EPS üretme yeteneklerinden dolayı *L. plantarum* türü ön plana çıkmaktadır (de Vries ve ark. 2006). Sonuçlarda da görüldüğü gibi en yüksek EPS üretimi yapan B45 koduna sahip suşun tanımlanması sonucu *L. plantarum* türüne ait olduğu belirlenmiştir. *L. plantarum* suşlarının ürettiği ortalama EPS miktarının kasaplara göre değişimi farklılık göstermektedir. Bu bilgiler ışığında geleneksel sucukların üretiminde belli bir prosedür izlenmediğinden fermantasyon şartlarının değişkenlik gösterdiği göz önünde bulundurularak aynı suşun farklı fermantasyon şartlarında ürettiği EPS miktarının dikkate değer oranda değişkenlik gösterdiği sonucuna ulaşılabilir.



Şekil 1. *L. plantarum* suşunun farklı kasaplardan elde edilen sucuklardaki ortalama EPS üretimi (ppm)

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

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

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

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

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

B. subtilis'in sucukta kullanımının faydalı olacağı ve bu yüzden ürettiği EPS miktarının da kayda değer olduğu düşünülmektedir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, sucuk yapılırken kullanılan etin doğal florasına ait olan LAB izole edilmiş, bir kısmı tanımlanmış ve bu bakterilerin çeşitliliği ve EPS üretim kabiliyetleri belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda en yüksek EPS üretimine sahip olan bakterinin B numunesinden alınan *L. plantarum* türüne ait olduğu tespit edilmiş ve genel EPS üretiminin literatürdeki diğer gıdalarla benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca toplamda 4 farklı tür tespit edilmiş ve en fazla suş çeşidi H kasabından elde edilen sucukta (3 tür) gözlemlenmiştir. Burada farklı farklı olarak *B. subtilis* suşu göze çarpmaktadır, sucuk üretiminde özellikle kullanılan bir suş olmamasına rağmen dikkate değer oranda EPS üreten ve koruyucu, prebiyotik gibi farklı özellikleri de olan bu suşun et ürünlerinde kullanımı üzerine araştırmalar yapılabilir. Çalışmamızda geleneksel yöntemlerle üretilen sucuklardaki LAB'lerin dikkate değer oranda EPS ürettiği görülmüştür. Bu çalışma gelecekte EPS üretiminin sucuktaki etkilerini belirlemek üzerine veya geleneksel yöntemlerle üretilen sucukların kalite özelliklerinin optimizasyonu üzerine yapılabilecek çalışmalara ışık tutacak niteliktedir. Ayrıca araştırmalar içerisinde her suşun ürüne farklı özellikler kattığı ve farklı işlevlerde kullanılabilecek EPS üretebildikleri fark edilmiştir. Buna bağlı olarak çalışmamızda izole edilen suşların ürettikleri EPS türleri ve bunların sucuğun ve diğer et ürünlerinin kaliteleri üzerine etkileri araştırılabilir ya da çalışmamızda kullanılan bazı sucuklarda suş çeşitliliğinin fazla olmasını etkileyen faktörler üzerine de çalışmalar yapılabilir. Tüm bu sebeplerle sonuç kısmında önerilen çalışmaların yapılmasının EPS kullanımı üzerine yeni uygulamaların ortaya çıkmasını sağlayacağı düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, KSÜ Araştırma Projeleri Yönetim Birimince 2019/4-9 YLS no'lu yüksek lisans projesi olarak desteklenmiştir.

ETİK BEYAN

“Maraş Et Sucuğunda Ekzopolisakkarit Üreten Mikroorganizmaların Tespiti” başlıklı çalışmanın yazım sürecinde bilimsel kurallara, etik ve alıntı kurallarına uyulmuş; toplanan veriler üzerinde herhangi bir tahrifat yapılmamış ve bu çalışma herhangi başka bir akademik yayın ortamına değerlendirme için gönderilmemiştir. Bu araştırma doküman analizi ve betimsel incelemeye dayalı olarak yapıldığından etik kurul kararı zorunluluğu bulunmamaktadır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

YAZAR KATKISI

Tüm yazarlar eşit katkı sağlamıştır.

KAYNAKLAR

- Ahi S 2011. Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Ekzopolisakkarit (EPS) Üretimi ile Antibiyotik Dirençliliklerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Akepaer M 2015. Bazı *Enterococcus Lactococcus* ve *Pediococcus* bakterilerinin probiyotik özelliklerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Akgül Hİ 2020. Tereyağlarından ekzopolisakkarit (EPS) üreten laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve tereyağı üretiminde starter kültür olarak kullanılabilirliğinin araştırılması, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Anonim 2012. Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği, Tebliğ No: 2012/74, Resmi Gazete, 5 Aralık 2012, Sayı: 28488.
- Badel S, Bernardi T, Michaud P 2011. New perspectives for Lactobacilli exopolysaccharides, *Biotechnology Advances*, 29: 54-66.
- Bai L, Wang L, Ji S 2016. Structural elucidation and antioxidant activities of transactions, *Chemical Engineering Transactions*, 55: 61-66.
- Behera SS, Ray RC, Zdolec N 2018. *Lactobacillus plantarum* with functional properties: an approach to increase safety and shelf-life of fermented foods, *Hindawi Biomed Research International*, 1-18.
- De Vries M, Vaughan EE, Kleerebezem M, and de Vosa WM 2006. Review *Lactobacillus plantarum* survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract. *International Dairy Journal*, 16, 1018-1028.
- Demir E, Kaygusuz E, Kılıç G, Yüce S, Soyuçok A 2017. Yoğurt Örneklerinden İzole Edilmiş Laktik Asit Bakterilerinin Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması ve Ekzopolisakkarit Üretimlerinin Belirlenmesi. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 8 (Ek Sayı 1): 262-267.

- Dertli E, Yılmaz MT, Tatlısu NB, Toker OS, Cankurt H, Sağdıç O 2016. Effects of in situ exopolysaccharide production and fermentation conditions on physicochemical, microbiological, textural and microstructural properties of Turkish-type fermented sausage. *Meat Science*, 121: 156-165.
- Evren M, Apan M, Tutkun E, Evren S 2011. Geleneksel fermente gıdalarda bulunan laktik asit bakterileri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 9(1): 11-17.
- Erten H, Ağırman B, Gündüz CPB, Çarşamba E, Sert S, Bircan S, Tangüler H 2014. Importance of yeasts and lactic acid bacteria in food processing, in A. Malik et al. (Eds.). *Food Processing: Strategies for Quality Assessment*, 351-360.
- Fan Y, Zhao L, Ma Q, Li X, Shi H, Zhou T, Zhang J, Ji C 2013. Effects of *Bacillus subtilis* ANSB060 on growth performance, meat quality and aflatoxin residues in broilers fed moldy peanut meal naturally contaminated with aflatoxins. *Food and Chemical Toxicology*, 59:748-753.
- Feldmane J, Semjonovs P, Ciprovica I 2013. "Potential of exopolysaccharides in yoghurt production" In Proceedings of World Academy of Science, Engineering and Technology, 80p. 299.
- Gao X, Ma Q, Zhao L, Lei Y, Shan Y, Ji C 2011. Isolation of *Bacillus subtilis*: screening for aflatoxins B-1, M-1, and G (1) detoxification. *European Food Research and Technology*, 232: 957-962.
- İspirli H 2016. Erzincan tulum peynirinden laktik asit bakterilerinin (LAB) izolasyonu, moleküler metotlarla tanımlanması ve ekzopolisakkarit (EPS) üretim potansiyellerinin genetik olarak belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bayburt.
- Kara Ü 2017. Ekzopolisakkarit üreten laktik asit bakterilerinin ekmek kalitesine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Kahramanmaraş.
- Kılıç NK, Dönmez G 2019. Farklı Ortam Koşullarının *Micrococcus sp.* Ekzopolisakkarit Üretimine Etkisi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 40-46. DOI:10.35414/akufemubid.387249.
- Kıran F, Osmanagaoglu O 2011. Laktik asit bakterilerinin (LAB) identifikasyonunda /tıplendirmesinde kullanılan moleküler yöntemler. *Erciyes University Journal of Institute of Science and Technology*, 27(1): 62-74.
- Kim K, Lee G, Thanh HD, Kim JH, Konkitt M, Yoon S, Park M, Yang S, Park E, Kim W 2017. Exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* LRCC5310 offers protection against rotavirus-induced diarrhea and regulates inflammatory response, *Journal of Dairy Science*, 101: 1-11.
- Kuşaklı S 2011. *Bacillus subtilis*'in peyniraltı suyu içerisinde fermantasyonu ile polisakkarit ve surfaktin üretiminin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya.
- Leroy F, Verluysen J, De Vuyst L 2006. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 106: 270-285.
- Luang InV, Deeseenthum S 2016. Exopolysaccharide-producing isolates from Thai milk kefir and their antioxidant activities. *LWT- Food Science and Technology*. 73: 592-601.
- Devrim AK, Arslantaş A, Kaya N, Necefoğlu H 2007. Effect of cobalthydroxybenzoate complex on genomic DNA, *Asian Journal of Chemistry*, 19(3): 2374- 2380.
- Manjula A, Sathyavathi S, Gunasekaran P, Rajendhran J 2011. Comparison of seven methods of DNA extraction from termitarium for functional metagenomic DNA library construction. *Journal of scientific and industrial research*, 70: 945-951.
- Mıdık F 2011. Bazı laktik asit bakterilerinin ekzopolisakkarit (EPS) üretimi yönünden incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Nithya V, Halami P 2013. Evaluation of the probiotic characteristics of *Bacillus* species isolated from different food sources, *Annals of Microbiology*, 63:129- 137.
- Uğurlu Ö 2017. Geleneksel peynirlerden izole edilen laktik asit bakterilerinin ekzopolisakkarit üretme potansiyellerinin moleküler olarak belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Urdaci MC, Bressollier P, Pinchuk I, 2004. *Bacillus clausii* probiotic strains: Antimicrobial and immunomodulatory activities, *Journal of Clinical Gastroenterology*, 38: 86-90.
- Pektaş S 2014. Süt ve süt ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin ekzopolisakkarit üretim yeteneklerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Pham PL, Dupont I, Roy D, Lapointe G, Cerning J 2000. Production of exopolysaccharide by *Lactobacillus rhamnosus* R and analysis of its enzymatic degradation during prolonged fermentation, *Applied And Environmental Microbiology*, 66(6): 2302-2310.
- Pürçüklü P 2021. Doğal bir antioksidan olarak defne yaprağı ekstraktının fermente sucuğa ilave edilmesinin bazı kalite özellikleri ve biyojen amin içeriği üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Rasmussen S, Nielsen HB, Jarmer H, 2009. The transcriptionally active regions in the genome of *Bacillus subtilis*, *Molecular Microbiology*, 73(6): 1043-1057.
- Sağlam H, Karahan AG 2017. Laktik asit bakterilerinin plazmidleri ve bunların özellikleri. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(2), 252-285.

- Soyuçok A, Ekiz T, Başığit-Kılıç G 2016. Nisan. Ekzopolisakkaritlerin özellikleri ve gıda endüstrisindeki önemi. DOI: 10.17100/nevbiltek.211029.
- Şengül M, 2001. Tulum Peynirinden İzole ve İdentifiye Edilen Bazı Laktik Asit Bakterisi Suşlarının Starter Kültür Özellikleri ve Peynirlerin Bazı Özelliklerinin Tespiti, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Torino M, Taranto M, Sesma F, Valdez G, 2001. Heterofermentative pattern and exopolysaccharide production by *Lactobacillus helveticus* 15807 in response to environmental pH. Journal of Applied Microbiology, 91(5): 846-852.
- Tosun F 2016. Ekzopolisakkarit Üreten Laktik Kültürlerin Tereyağı, Yayık Tereyağı ve Kaymağın Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi, Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Tuşar FR 2021. Çeşitli Mezofilik ve Termofilik Bakterilerde Ekzopolisakkarit Üretimi, Optimizasyonu ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.
- Yılmaz T 2018. *Lactobacillus plantarum* suşları tarafından üretilen ekzopolisakkaritlerin sağlık üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- Yılmaz MT, Yetim H, Arıcı M, Sağdıç O 2014. Ekzopolisakkarit (EPS) üreten laktik asit bakterilerinin bazı gıdaların tekstürel, reolojik ve mikroyapısal özelliklerine etkisi, Tübitak Projesi. Program Kodu: 1001 Proje No: 112O169. İstanbul.
- Zannini E, Waters DM, Coffey A, Arendt EK 2016. Production, properties and industrial food application of lactic acid bacteria derived exopolysaccharides. Applied Microbiology and Biotachnology. 100: 1121-1135.
- Zehir D 2017. Tarhanadan İzole Edilen Bazı Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Ekzopolisakkaritlerin Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- Zhang Z, Liu Z, Tao X, Wei H 2016. Characterization and sulfated modification of an exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* ZDY2013 and its biological activities. Carbohydrate Polymers. 153: 25-33.
- Wang X, Shao C, Liu L, Guo X, Xu, Lu X 2017. Optimization, partial characterization and antioxidant activity of an exopolysaccharide from 77 *Lactobacillus plantarum* KX041. International Journal of Biological Macromolecules, 103: 1173-1184.
- Wright AV, Axelsson L 2019. Lactic acid bacteria: An introduction. In: Lactic acid bacteria microbiological and functional aspects, fifth edition. Ed: Vinderola, G, Ouwehand AC, Salminen S, Wright AV, Crc pres, Boca raton, FL, 1-16.