

BAZI LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİKLERİ VE AROMA MADDELERİ OLUŞTURMA ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Duygu Alp, Zübeyde Öner*

Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta, Türkiye

Geliş tarihi / *Received*: 02.05.2014

Düzeltilerek Geliş tarihi / *Received in revised form*: 10.05.2014

Kabul tarihi / *Accepted*: 13.05.2014

Özet

Bu çalışmada çiğ süttten üretilen Beyaz ve Kaşar peynirlerinden izole edilmiş ve tanımlamaları daha önceki çalışmalarda yapılmış 123 adet laktik asit bakterisinin antibiyotik dirençlilikleri belirlenmiştir. Antibiyotik direnç durumlarına göre seçilmiş 17 izolatın organik asit üretimleri tespit edilmiş, bunlar arasından seçilen 8 izolatın da aroma maddeleri üretimleri belirlenmiştir. Bu amaçla ilk aşamada 13 farklı antibiyotik (vankomisin, kloramfenikol, rifampisin, penisilin, tetrasiklin, eritromisin, novobiosin, oleandomisin, oksitetrasiklin nitrofurantoin, ampisilin, gentamisin ve siprofloksasin) kâğıt diskleri kullanılmış ve Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları çoklu antibiyotik direnç indeksi ile hesaplanmıştır. İzolatların organik asit üretim yetenekleri HPLC ile belirlenmiştir. Bunlar, genel olarak laktik asit üretmekle beraber malik, pirüvik ve asetik asit ürettikleri saptanmıştır. Seçilmiş izolatların aroma maddeleri üretim yetenekleri ise GC-MS ile belirlenmiştir. İzolatların çoğunlukla 1-bütanol-3-metil, 3-metilbütanal, asetik asit, etanol, izopropil alkol, n-bütanol ürettikleri tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Laktik asit bakterileri, antibiyotik, aroma, direnç, organik asit

DETERMINATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE AND AROMA PRODUCTION PROPERTIES OF SOME LACTIC ACID BACTERIA

Abstract

In this study, the antibiotic resistance of 123 lactic acid bacteria (which were isolated from Beyaz and Kashar cheeses made from raw milk and identified in the previous studies), was determined. The organic acid production of the 17 isolates, selected according to the antibiotic resistance, and the production of aroma in 8 of them were determined. For this purpose firstly, 13 different antibiotics (vancomycin, chloramphenicol, rifampicin, penicillin, tetracycline, erythromycin, novobiocin, oleandomycin, oxytetracycline, nitrofurantoin, ampicilline, gentamicin, ciprofloxacin) paper discs were used and Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test was applied. The antibiotic sensitivity was evaluated with Multiple Antibiotic Resistance Index. The organic acid production capabilities of the isolates were determined by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Although the isolates generally produce lactic acid, their malic, pyruvic and acetic acid production was also determined. The aroma production capabilities of the selected isolates were determined by GC-MS. The isolates have been found to produce mainly 1-butanol-3-methyl, 3-methylbutanal, acetic acid, ethanol, isopropyl alcohol, n-butanol.

Keywords: Lactic acid bacteria, antibiotic, aroma, resistance, organic acid

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*

✉ zubeydeoner@sdu.edu.tr,

☎ (+90) 246 211 1596,

☎ (+90) 246 211 1538

GİRİŞ

Mikrobiyel hastalıklara karşı antibiyotik kullanımı yaklaşık 50 yıldır devam etmektedir. Bu süre içerisinde antimikrobiyel maddelerin gereksiz ve hatalı şekilde kullanımı patojen bakterilerde antimikrobiyel direnç gelişimine neden olmuş ve bu direnç gerek insanlarda gerek çiftlik hayvanlarında önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir (1, 2).

Bakteriler, antibiyotiklere karşı doğal olarak dirençli olabilirler. Bu direnç, bakterinin temel özelliğidir. Kalıtsal değildir ve antibiyotik kullanımı ile ilişkisi yoktur. Genetik kaynaklı direnç kromozomal veya kromozom dışı elemanlara bağlı olabilir. Kromozomal direnç, bakteri kromozomunda kendiliğinden oluşan mutasyonlar sonucu görülür. Bakterilerde direnç mekanizmasının oluşması antibiyotiğin hedefi olan molekülün değişiminden, hücre duvarı geçirgenliğinin azalmasından, antibiyotiğin enzimatik yıkımından ve değişik metabolik yolların gelişmesinden ortaya çıkar (3, 4).

Laktik asit bakterileri (LAB)'nin birçok türü doğal olarak plazmit taşır. Bu plazmitler çoğunlukla bakterinin metabolik aktivitesi için gerekli enzimleri kodlayan genleri taşırlar. Ancak bazı türler bu genlerin yanı sıra çeşitli antibiyotiklere karşı direnç geliştirmeyi sağlayan genleri taşıyan plazmitleri de içerirler. Bu bakteriler çeşitli gıda ürünlerinde değişik amaçlar için kullanıldığında potansiyel direnç taşıyıcı ve aktarıcı olarak iş görebilirler (5).

Laktik asit bakterileri çeşitli gıdalardaki faaliyetleri sonucu karbonhidratlardan laktik asit üretme yeteneğine sahiptirler. Tür özelliklerine bağlı olarak, laktik asidin yanı sıra asetik asit, karbondioksit, alkol, tat ve aroma maddeleri de üretebilmektedirler. Bunun yanı sıra laktik asit bakterileri, ürettikleri asit ve bazı antimikrobiyel maddeler sayesinde, gıdaların bozulmasında rol oynayan mikroorganizmalar üzerinde çift yönlü etkiye, patojen mikroorganizmalar üzerinde de antogonistik etkiye sahiptirler. Bu faktörler sebebiyle, gıda kaynaklı mikrobiyel hastalıklar düşünüldüğünde laktik asit bakterilerinin faaliyetiyle üretilen fermente gıdalar insan sağlığı açısından daha güvenilir gıdalar olarak kabul edilebilir (6, 7). Laktik asit bakterileri süt ve süt ürünlerinde aroma oluşturma özelliklerinden dolayı başlatıcı kültür olarak kullanılmaktadır. Aroma, ürünün lezzetinin algılanmasında önemli bir rol oynamaktadır. Ürünün karakteristik

aroması ise üretim sırasında ve olgunlaşma aşamasında karmaşık biyokimyasal reaksiyonlar sonucunda oluşur.

Bu çalışmada, daha önceki çalışmalardan izole edilmiş laktik asit bakterilerinin, başlatıcı kültür olma özelliklerinin belirlenmesi amacı ile antibiyotik direnç özellikleri, organik asit ve aroma madde üretimleri incelenmiştir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Turhan (6) ve Ertürkmen (8) tarafından çiğ süt kullanılarak üretilen Beyaz ve Kaşar peynirlerinden izole edilmiş ve fenotipik karakteristiklerine göre tanımlamaları yapılmış, asitlik oluşturma, proteolitik aktivite, dekarboksilaz aktiviteleri belirlenmiş olan 123 adet laktik asit bakterisi, bu çalışmada materyal olarak kullanılmıştır. Antibiyotik direncinin ölçülmesinde, Isparta ve çevresinde sıkça kullanılan antibiyotikler ile farklı etki mekanizmasına sahip olanlar seçilmiştir. Organik asit tayini için kullanılan standartlar pirüvik asit, malik asit, laktik asit ve asetik asit (Merck)'tir.

Antibiyotik dirençlilik için kullanılan kâğıt diskler (Merck); eritromisin (15 µg), tetrasiklin (30 µg), vankomisin (30 µg), siprofloksasin (5 µg), kloramfenikol (30 µg), gentamisin (120 µg), nitrofurantoin (300 µg), rifampisin (5 µg), ampicilin (10 µg), oleandomisin (15 µg), novobiosin (30 µg), oksitetrasiklin (30 µg) ve penisilin (10 µg)'dir.

Metot

Bakterilerin geliştirilmesi

Denemeler süresince kullanılan laktokok ve enterokoklar M17 Broth besiyerinde (Merck), laktobasiller ise MRS Broth besiyerinde (Merck) geliştirilmiştir (6, 9).

Laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliğinin belirlenmesi

Laktik asit bakterilerinin antibiyotiklere karşı direncini saptamak için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır (10). Aktifleştirilmiş izolatlar 0.5 McFarland türbidite standardına getirilmiş ve her izolattan ayrı ayrı olmak üzere 0.2 mL alınarak M17 Agar/ MRS Agara yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. Daha sonra, antibiyotik diskler, merkezleri arasında en az 24 mm olacak şekilde

katı besiyerlerine yerleştirilmiş ve Petri kutuları 37 °C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda antibiyotik diskleri etrafında oluşan inhibisyon zon çapları NCCLS doküman M2-A9 kriterine göre değerlendirilmiş ve bunun doğrultusunda bakteri suşları dirençli, orta derecede duyarlı ve duyarlı olarak gruplandırılmıştır. Kontrol olarak *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) kullanılmıştır (10).

Çoklu antibiyotik direnç indeksinin hesaplanması

Çoklu antibiyotik direnci, dirençli izolatların sayısının, değerlendirilen antibiyotik sayısına bölümüyle hesaplanmıştır. Çoklu antibiyotik direnç indeksi (MARI) 0.20'den büyük olanların yoğun antibiyotik kullanılan bir kaynaktan izole edildiği ve antibiyotik direncine bağlı olarak yüksek riskli organizmalar olduğu; çoklu antibiyotik direnç indeksi 0.20 ve 0.20'den küçük olanların ise nadiren antibiyotik kullanılan ya da kullanılmayan kaynaklardan izole edildiği kabul edilmektedir. Bu çalışmada antibiyotik dirençlilikleri belirlenen izolatların çoklu antibiyotik direnç indeksleri hesaplanmıştır (11, 12).

Organik asit tayini

Örnekler Narvhus 1998'e göre hazırlanmıştır (13). Analiz Kamınarides (14)' in çalışmasından modifiye edilmiştir. HPLC (LC-20AT, Shimadzu) ile analiz yapılmıştır.

Aroma tayini

Aroma tayini GC-MS'de yapılmıştır. Çalışma şartları aşağıda Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. GC-MS çalışma şartları

Enjeksiyon bloğu	250 °C
Dedektör	250 °C
Akış hızı	1.6 mL/dk
Dedektör	70eV
İyonlaştırma türü	EI
Kullanılan gaz	Helyum
Kullanılan kolon	HP 5MS30 m; 0.25 mm; 0.25 µm
Başlangıç sıcaklığı 40 °C	40 °C den 250 °C'a dk 2 °C'lik artışla 250 °C'de 5 dakika bekleme. Toplam 59.9 dk
Kullanılan kütüphaneler	Wiley, Nist, Tutor

İstatistiksel değerlendirmeler

Antibiyotik dirençlilik analizi sonuçları SPSS 17.0 programı kullanılarak analiz edilmiştir (Khi-Kare uyum testi). Yapılan organik asit analizi sonucunda elde edilen veriler SPSS 17.0 programı kullanılarak analiz edilmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Materyal olarak kullanılan LAB arasında starter kültür üretimine uygun olabileceği düşünülen izolatların antibiyotik direnç testleri, organik asit üretimleri ve aroma oluşumları bu çalışma kapsamında incelenmiştir.

Antibiyotik dirençlilik sonuçları

Çizelge 2'de incelenen 123 laktik asit bakterisinden 13 farklı antibiyotiğe karşı dirençli olanların sayıları verilmiştir.

Çoklu antibiyotik direnç indeks sonuçları

Lc. lactis İLc16, *Lc. lactis* PeLc2, *Lc. lactis* PeLc6, *Lc. lactis* PeLc15, *E. durans* PeE26, *E. faecium* PeE32, *Lb. plantarum* PeLb75 kodlu 7 izolatın MARI sonuçları 0.20'den büyük çıkmıştır. Ayrıca yapılan istatistik analiz sonucunda (SPSS 17.0 Khi-Kare testi) bakterilerin, antibiyotik dirençlilikleri arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

Organik asit üretim sonuçları

Denemelerde kullanılan laktik asit bakterilerinin laktik asidin yanı sıra pirüvik asit, asetik asit ve malik asit de ürettikleri tespit edilmiştir. Yapılan istatistik analiz sonucunda (SPSS 17.0), bakterilerin ürettikleri organik asitler arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Pirüvik asit, laktik asit, asetik asit ve malik asit standart karışımları yapılmış ve kromatogramları Şekil 1'de verilmiştir. Malik asit 3 farklı türevi olduğu için kromatogramda 11, 16 ve 19. dakikalarda malik asit pikleri belirlenmiştir. Çizelge 3'te organik asit ortalama miktarları (µg/mL), Şekil 2'de ise *Lc. lactis* PeLc10 izolatına ait organik asit kromatogramı verilmiştir.

Beyaz peynirden ve kaşar peynirinden izole edilen izolatlar birbirinden farklı organik asit üretmişlerdir. Kaşar peynirinden izole edilen bakterilerin laktik asidin yanı sıra ağırlıklı olarak asetik asit ve pirüvik asit ürettikleri, beyaz peynirden izole edilenlerin ise laktik asidin yanında ağırlıklı olarak malik asit ürettiği belirlenmiştir.

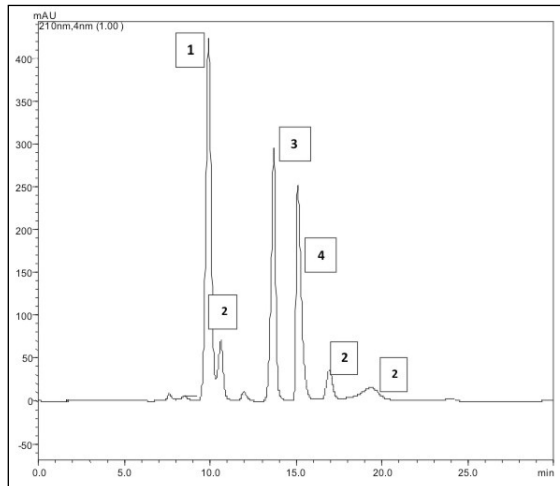
Çiğ sütün bileşiminde yer almadığı halde peynirlerde bulunan asetik asit; sitrat, laktoz ve aminoasitlerden üretilir(4). Yapılan çalışmalarda Kaşar peynirlerinin organik asitleri arasında asetik asit bulunduğu gösterilmiştir(15). İzolasyon kaynağı kaşar peyniri olan laktokoklar arasında asetik asit üreten izolatların bulunması ileriki

Çizelge 2. Laktik asit bakterilerinden antibiyotiklere dirençli bulunanların sayısı

Antibiyotik	Laktobasil (33)	Laktokok (46)	Enterokok (44)	Toplam (123)
Eritromisin 15 mg	3	3	2	8
Tetrasiklin 30 mg	7	19	19	45
Vankomisin 30 mg	28	17	6	51
Siprofloksasin 5 mg	25	10	10	45
Kloramfenikol 30 mg	0	0	1	1
Gentamisin 120 mg	13	8	18	39
Nitrofurantoin 300 mg	4	2	4	10
Rifampisin 5 mg	2	29	14	45
Ampisilin 10 mg	0	1	0	1
Oleandomisin 15 mg	0	2	3	5
Oksitetrasiklin 30 mg	2	4	4	10
Novobiosin 30 mg	6	21	25	52
Penisilin 10 mg	8	21	24	53

Çizelge 3. İzolatların organik asit oluşturma miktarları (µg/mL)

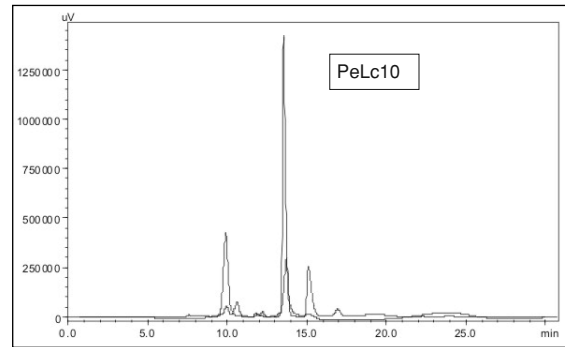
	Pirüvik asit	Malik asit	Laktik asit	Asetik asit
İlc20	52.637	39.4	1621.807	78.180
İlc16	50.35	35.575	1641.548	48.041
İlb78	33.209	24.323	1680.717	41.172
İlb76	32.032	24.514	1740.808	51.055
İlb70	44.714	30.338	1746.473	40.423
İlb67	31.338	23.534	1670.896	37.868
İlb65	35.464	28.336	1767.298	40.770
İE45	59.597	25.991	1825.262	30.777
İE39	63.892	29.210	1619.466	69.407
İE25	62.660	28.233	1571.045	53.132
PeLc2	51.919	25.796	1807.775	40.547
PeLc10	63.979	28.353	1433.468	34.086
PeLc6	69.325	27.326	1668.587	43.062
PeLc15	55.167	24.723	1786.664	40.050
PeLb75	33.230	40.122	2118.700	41.407
PeE32	55.324	25.718	1751.252	45.279
PEe26	51.453	24.945	1894.939	38.432



Şekil 1. (1) Pirüvik asit, (2) Malik asit, (3) Laktik asit, (4) Asetik asit

çalışmalarda başlatıcı kültür kombinasyonu oluşumunda faydalı olabileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

Peynirle ilgili yapılan çalışmalarda yüksek oranda laktik asidin yanı sıra asetik, sitrik, bütirik propiyonik ve süksinik asitlerin peynirlerde yer aldığı belirlenmiştir (4, 15). *L. lactis* subsp. *lactis* ve *L. lactis* subsp. *cremoris* laktozu glukoz ve

Şekil 2. *Lc. lactis* PeLc10'e ait organik asit kromatogramı

galaktoza metabolize etmesi sonucunda açığa çıkan glukoz genellikle EMP (Embden–Meyerhof Parnas) galaktoz ise tagatoz yolu ile parçalanır. Laktobasillerde ise galaktoz, Leloir yolu ile glukoz 6 fosfata dönüşür (16). Buna bağlı olarak üretilen organik asitler birbirinden farklılık gösterir.

Ong ve arkadaşları çalışmalarında (4), *L. acidophilus*, *L. casei*, *Bifidobacterium longum* eklenerek probiyotik Çedar peyniri ve kontrol grubu ile arasındaki organik asit miktarlarını kıyaslamışlardır. Mikroorganizmaların eklendiği peynirlerde kontrol grubu peynirlere kıyasla daha yüksek miktarda laktik asit ve asetik asit bulunmuştur. Buffa ve

ark. (17), peynir yapımında kullanılan süte 3 farklı yöntem uygulamış ve 60 gün boyunca depolanan peynirlerde yüksek basınç uygulanan süttten yapılan peynirdeki laktik asit miktarı, çiğ süttten yapılan ve pastörize süttten yapılan peynirlerden daha yüksek bulunmuştur. Çiğ süttten üretilen peynirde ise ağırlıklı olarak propiyonik ve asetik asit tespit edilmiştir. Pastörize süttten elde edilen peynirde ise diğer peynirlere kıyasla yüksek miktarda malik asit ve bütirik asit tespit edilmiştir.

Aroma tayini sonuçları

Antibiyotik duyarlılık, organik asit üretimi açısından, başlatıcı kültür için uygun olduğu düşünülen 8 adet laktik asit bakterisinin aroma madde üretimleri GC-MS ile tespit edilmiştir. Sonuçlar Çizelge 4'de verilmiştir. Çizelgeden görülebileceği gibi belirlenen aroma maddeleri farklı kimyasal madde gruplarında yer almaktadır. Bunlar genel olarak aldehitler, ketonlar, esterler ve asitlerden oluşmaktadır. Genel olarak aroma maddesi olarak 1-bütanol-3-metil, 3-metilbütanal, asetik asit, etanol, izopropil alkol, n-bütanol oluşturulduğu belirlenmiştir.

Yüceer ve ark. (18), Ezine peynirinin aroma karakterizasyonunu yapmış ve bu çalışmada gaz kromatografisi olfaktometri ile belirlenen aroma aktif bileşenlerin çoğunlukla aldehitler, ketonlar, esterler ve asitler olduğunu ve tespit ettikleri yüksek aroma yoğunluğuna sahip bazı aroma maddeleri asetaldehit (yeşil elma), diasetil (tereyağı), hekzanal (kesilmiş çimen), etilbütanoat (şekerli sakız), dimetil sülfid (kaynamış mısır), (Z)-4-heptenal (okside yağ), 1-okten-3-on (mantar), asetik asit (sirke) ve bütirik asit (ransit) olarak bildirmişlerdir.

Kesenaş ve ark. (19), beyaz peynirdeki aroma bileşikleri üzerine destek kültür olarak peynir teknelerinin her birine ayrı ayrı *Yarrowia lipolytica*, *Debaryomyces hansenii* ve *Kluyveromyces marxianus* türü mayalar aşılamış, kontrol örneği de dahil olmak üzere 4 farklı beyaz peynir üretmiş ve 90 gün süren olgunlaşma boyunca örneklerdeki uçucu aroma bileşiklerini saptamışlardır. Özellikle *Y. lipolytica* ve *D. hansenii*'nin peynir ortamında doğrusal aldehitlerin ve metil ketonların oluşmasında etkili mayalar oldukları sonucuna varmışlardır. Karahan ve ark.

Çizelge 4. Seçilmiş izolatların aroma madde üretimleri (%)

Aroma Maddeleri	<i>Lc. lactis</i> PeLc2	<i>E. faecium</i> PeE32	<i>E. faecalis</i> IE25	<i>Lc. lactis</i> PeLc15	<i>Lb. plantarum</i> PeLb75	<i>Lc. lactis</i> PeLc6	<i>Lc. lactis</i> ILc16	<i>E. durans</i> PeE26
1 Alpha.-L-Galactopyranoside, methyl 6-deoxy-					1.10			
2 1,4-Dimethyl-5-oxabicyclo (2.1.0) pentane				0.25				
3 1-Butanol	5.86							
4 1-Butanol, 3-methyl-	2.95	3.63	10.06	4.23	6.61			
5 1-Decyn-4-ol	1.49							
6 1-Hexene (CAS) Hexene-1								0.20
7 1-Pentanol			0.43	0.54	0.49	0.28	0.33	
8 1-Pentene, 2-methoxy	0.43							
9 1-Propanol, 2-methyl-		0.59						
10 2 (Cyanomethylamino) pentanedinitrile	0.28							
11 2,2-Dimethylhexane							0.27	
12 2,3-Butanedione	1.31							
13 2,3-Dithiabutane					0.81			
14 2,3-Pentanedione					0.29			
15 2,4-Dimethyl-1-hexene	1.11							
16 2,5-Dimethylpyrazine				1.61				
17 2,5-Dimethylpyrazine							0.77	
18 2-Bromopropane						0.50		
19 2-Butanone					1.26		1.35	
20 2-Chloro-2-methylnonate					0.36			
21 2-Furanmethanol					0.64			
22 2-Heptanone			0.45		0.76		0.17	
23 2-Hydroxy -Isocaproic Acid Methyl Ester	2.48		0.92					
24 2-Methyl, 1-butanol-		2.73		1.78		3.24	2.02	0.29
25 2-Propanol (CAS) Isopropyl alcohol								24.69
26 2-Propen-1-ol						0.47		
27 2-Propen-1-ol, 3,3-difluoro-, acetate					0.36			
28 3,4-Dimethyl-2-hexanone	0.55							
29 3-Methyl, 1-butanol-			3.76		3.24	5.30	4.27	0.93
30 3-Methylbutanal		2.07	9.32	4.51	1.76	5.08	2.52	1.94
31 3-Penten-2-one, 4-methyl-				0.16				
32 6-Methyl-5-hepten-2-one			0.61				0.30	
33 7-Hydroxy-7-phenyl-3,9-diisopropyl-2,10-dioxadispiro								0.88

Çizelge 4. Devam

Aroma Maddeleri	<i>Lc. lactis</i> PeLc2	<i>E. faecium</i> PeE32	<i>E. faecalis</i> İE25	<i>Lc. lactis</i> PeLc15	<i>Lb. plantarum</i> PeLb75	<i>Lc. lactis</i> PeLc6	<i>Lc. lactis</i> İLc16	<i>E. durans</i> PeE26
34 Acetaldehyde							0.71	
35 Acetic acid					11.34			
36 Acetoin	9.77			1.60	12.06			
37 Acetol					0.56	0.10		
38 Ammonium carbamate		4.69						
39 Amylol	0.60							
40 Benzaldehyde							0.11	
41 Benzeneacetaldehyde			0.48					
42 Butanal, 3-methyl	0.64							
43 Diacetyl				2.99	5.29			
44 Disulfide, dimethyl			0.73			0.05	0.38	
45 Disulfide, dimethyl (CAS)2,3-Dithiabutane				2.24				
46 Ethanol	9.44	17.92	9.79	2.97		14.35	17.72	7.60
47 Ethyl acetate		0.82	0.80			2.42	1.31	0.36
48 Ethylic acid		2.25				0.88	2.06	
49 Furfuryl alcohol	1.07		0.42	0.58		0.50	0.55	
50 Heptan-2-one						0.08		
51 Hexane (CAS) n-Hexane								57.93
52 Iso Butyraldehyde							0.83	
53 Isobutyl alcohol	0.25		0.61	0.67	0.73	0.58	0.75	
54 Isobutyric acid				0.48			0.08	
55 Isopropyl alcohol	60.28	59.86	44.00	59.85	39.18	53.50	56.26	
56 Isovaleric acid				0.18	0.48			
57 Methyl ethyl ketone		0.89		1.75				
58 Methyl propyl ketone					0.74			
59 n-Butanal			1.12	1.32		0.76		
60 n-Butanol		4.56	7.77	8.36	6.28	5.21	4.03	1.54
61 n-Butyric acid				0.16	0.42		0.16	
62 n-Heptanal						0.24		
63 n-Hexane					0.29			
64 Nonan-2-ol					2.06			
65 Pentane, 2,2,4-trimethyl-						1.08		1.71
66 Pentane, 2,4-dimethyl-						2.93		
67 Pentanoic acid, 2-hydroxy-4-methyl-, methyl ester (CAS) 2-hydroxy				1.36			0.57	
68 Phenylmethanal	1.09		0.59	0.37				
69 Phytene	0.40							
70 Propanal, 2-methyl- (CAS) Isobutanal								0.95
71 Propanedioic acid ester							0.30	
72 Propanedioic acid, oxo-, bis(1-methylethyl) ester				0.52				
73 Propanoic acid, 2-methyl					0.31			
74 Propiolic acid					2.60			
75 Pyruvaldehyde			4.79					
76 S-Methyl thioacetate							0.12	
77 Tetranitromethane			2.26	3.51		2.46	2.07	
78 Vinly Formate								0.96
79 Vinyl Formate			1.11					

(20), laktik asit bakterilerinin aroma maddeleri tayinini, HS-GC ile belirlenmiş ve izolatların ağırlıklı olarak etanol ve asetaldehit ürettiklerini tespit etmiştir. Bu çalışmada 79 farklı aroma maddesi belirlenmiştir. Bulunan sonuçlar; Yüceer ve ark. (18), Karahan ve ark. (20) ve Hayaloğlu (21) çalışmaları ile paralellik göstermektedir.

SONUÇ

Yapılan bu çalışma ile daha önceden asitlik oluşturma, proteolitik aktivite, dekarboksilaz aktiviteleri belirlenmiş olan mikroorganizmaların antibiyotiğe dirençliliği; organik asit oluşturma

yetenekleri ve aroma madde üretim seviyeleri belirlenmiştir. Bu özellikler dikkate alınarak 4 adet *Lc. lactis* ve birer adet *Lb. plantarum*, *E. faecalis*, *E. durans*, *E. faecium* olmak üzere 8 adet laktik asit bakterisinin başlatıcı kültür olabilme özelliğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Böylece, ileride yapılacak peynir çalışmaları için güçlü bir başlatıcı kültür koleksiyonu oluşturulmuştur.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Mathur S, Rameshwar S. 2005. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria. A review. *Int J of Food Microbiol.* 105:281-295.
2. Demirtürk N, Demirdal T. 2004. Antibiyotiklerde direnç sorunu. *Kocatepe Tıp Dergisi* 5: 17-21.
3. Yüce A. 2001. Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. *Klinik Dergisi* 14 (2): 41-46.
4. Ong L, Shah NP. 2009. Probiotic Cheddar Cheese: Influence of Ripening Temperatures on Survival of Probiotic Microorganisms, Cheese Composition and Organic Acid Profiles. *Food Sci Technol.* 42: 1260-1268.
5. Gögebakan B. 2003. Peynir ve İnsan Örneklerinden Elde Edilen *Lactobacillus* Cinsi Bakterilerin Antibiyotik Dirençliliklerinin Araştırılması. Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep, Türkiye, 77s.
6. Turhan İ. 2012. Kaşar Peyniri Üretimi için Starter Kültür İzolasyonu ve İzolatların FTIR Spektroskopisi ile Tanısının Yapılması. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Isparta, Türkiye, 143s.
7. Turantaş F. 2003. Fermantasyonda rol oynayan mikroorganizmalar. Gıda Mikrobiyolojisi. Ünlütürk A.(baş editör), Mengi Tan Basımevi. Çınarlı İzmir, Türkiye, 425-430s.
8. Ertürkmen, P. 2014. Beyaz Peynir Üretimi İçin Starter Kültür İzolasyonu ve Bu Kültürlerin Peynirin Özellikleri Üzerine Etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, Isparta, Türkiye, 143s.
9. Tunail N. 2009. Mikrobiyoloji, Danone Enstitüsü Derneği, Ankara, 434s.
10. Demirpek U. 2012. Antimikrobiyal duyarlılık testleri. *Klinik Dergisi* 49: 107-112.
11. Matyar F, Kaya A, Dinçer S. 2007. Distribution and antibacterial drug resistance of *Aeromonas* spp. from fresh and brackish waters in southern Turkey. *Annals of Microbiol* 57(3): 443-447.
12. Tatlı D. 2009. Geleneksel Süt Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlerinin Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye, 81s.
13. Narhvus JA, Osteraas K, Mutukumira T, Abrahamsen RK. 1998. Production of fermented milk using a malty compound-producing strain of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, isolated from zimbabwean naturally fermented milk. *Int J of Food Microbiol.* 41: 73-80.
14. Kaminarides S, Stamou P. 2007. Original Article Comparison of the Characteristics of Set Type Yoghurt Made From Ovine Milk of Different Fat Content. *Int J of Food Sci and Technol.* 42:1019-1028.
15. Andiç S, Tunçtürk Y, Gençcelep H. 2011. The effect of different packaging methods on the formation of biogenic amines and organic acids in Kashar cheese. *J of Dairy Sci,* 94(4): 1668-1678.
16. McSweeney P, Fox LH, Fox PF. 2004. Metabolism of residual lactose and of lactate and citrate. Cheese: Chemistry, physics and microbiology 1: 361-371.
17. Buffa M, Guamis B, Saldo J, Trujillo AJ. 2004. Changes in organic acids during ripening of cheeses made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats' milk. *Lebensm-Wiss Technol.* 37: 247-253.
18. Yüceer KY, Tuncel B, Gunecer O, Engin B, Isleten M, Yasar K, Mendes M. 2009. Characterization of aroma-active compounds, sensory properties, and proteolysis in Ezine cheese. *J of Dairy Sci.* 92: 4146-4157.
19. Kesenkaş H, Akbulut N. 2006. Destek kültür olarak kullanılan bazı mayaların beyaz peynir aroması üzerine etkileri. *Ege Üni. Ziraat Fak. Dergisi,* 43 (2): 73-84.
20. Karahan AG, Kart A, Başyigit G. 2004. Laktik asit bakterilerinin oluşturdukları aroma maddelerinin belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Proje No: 326.
21. Hayaloglu AA, Tolub C, Yasar K. 2013. Influence of goat breeds and starter culture systems on gross composition and proteolysis in Gokceada goat cheese during ripening. *Small Ruminant Res.* 113: 231-238.