



T.C.  
**BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
TR, Balıkesir University, Institute of Health Sciences



**ÇİĞ KEÇİ SÜTÜNDEN LAKTİK ASİT  
BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU,  
İDENTİFİKASYONU VE BAZI TEKNOLOJİK  
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SEVDE ÇELİK**

**Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı**

**Bilim Alan Kodu: 10102.10**



**BALIKESİR**

**2025**

**T.C.**  
**BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇİĞ KEÇİ SÜTÜNDEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN**  
**İZOLASYONU, İDENTİFİKASYONU VE BAZI TEKNOLOJİK**  
**ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**SEVDE ÇELİK**

**TEZ DANIŞMANI**  
**PROF. DR. OSMAN İRFAN İLHAK**

**İKİNCİ TEZ DANIŞMANI**  
**DOÇ. DR. MUKADDERAT GÖKMEN**

**Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı**

**Bilim Alan Kodu:10102.10**

**BALIKESİR**

**2025**



T.C.  
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ KABUL VE ONAY

Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı  
Çerçevesinde **Sevde ÇELİK** tarafından yürütülmüş ve tamamlanmış olan

**“Çiğ Keçi Sütünden Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Bazı  
Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi”**

başlıklı tez çalışması,  
Balıkesir Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin  
ilgili maddeleri uyarınca aşağıdaki jüri tarafından  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
olarak kabul edilmiştir.

**Tez Savunma Tarihi:** 17/06/2025

**TEZ SINAV JÜRİSİ**

Prof. Dr. Gülsüm ÖKSÜZTEPE  
Fırat Üniversitesi  
**(Başkan)**

Prof. Dr. Osman İrfan İLHAK  
Balıkesir Üniversitesi  
Üye **(Danışman)**

Dr. Öğr. Üyesi Nisanur EKTİK SEZEN  
Balıkesir Üniversitesi  
Üye

Yukarıdaki Yüksek Lisans Tezi,  
sınav jüri üyeleri tarafından imzalanarak 25/06/2025 tarihinde teslim edilmiştir.

Prof. Dr. Şükrü Metin PANCARCI  
Enstitü Müdürü

## BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıpları kabullendiğimi beyan ederim.

25/06/2025

İmza

Sevde ÇELİK

## TEŞEKKÜR

Balıkesir Üniversitesi'ndeki görevinden ayrılıncaya kadar tez çalışmamda ve tezin laboratuvar aşamasında desteğini, emeğini ve yardımlarını esirgemeyen ilk tez danışman hocam Sayın Doç. Dr. Mukadderat GÖKMEN'e, tez dönemimin son yılında danışman hocam olan ve bu süreci tamamlarken yardım ve emeklerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Osman İrfan İLHAK'a, çalışmam boyunca yardım ve desteklerini gördüğüm Veteriner Hekim Dr. Tevhide Elif GÜNER ve Dr. Öğr. Üyesi Nisanur EKTİK SEZEN'e, MALDI-TOF MS analizi için T.C. Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Cüneyt ÖZAKIN'a ve lisansüstü eğitimimin başlangıcından itibaren enstitü işlemlerinde yardımlarından dolayı Sayın Enstitü Sekreteri Fatma İŐLER'e teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca varlıklarını yanımda hissettiğim, tüm eğitim hayatımda bana destek olan, emek ve sevgilerini esirgemeyen çok kıymetli aileme ve yüksek lisans çalışmam boyunca yaşadığım tüm zorluklara rağmen yanımda olan, sevgisini ve sabrını esirgemeyen sevgili eşime sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No:</u>
İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET.....	v
ABSTRACT .....	vi
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	viii
TABLolar DİZİNİ .....	ix
1.GİRİŞ .....	1
2.GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Keçi Sütü.....	3
2.2. Keçi Sütü İçeriği.....	4
2.3. Keçi Sütü ve İnsan Sağlığı.....	5
2.4. Laktik Asit Bakterileri .....	6
2.4.1. Genel Özellikleri.....	6
2.4.2. Keçi Sütündeki Laktik Asit Bakterileri.....	7
2.5. LAB'nin Gıda Endüstrisinde Kullanım Alanları.....	8
2.6. LAB'nin Teknolojik Özellikleri .....	9
2.6.1. Asit Üretimi .....	9
2.6.2. Proteolitik Aktivite.....	10
2.6.3. Lipolitik Aktivite .....	10
2.6.4. Ekzopolisakkarit (EPS) Üretimi .....	11
2.6.5. Tuz Toleransı, pH Toleransı, Düşük Sıcaklıkta Gelişim .....	12
2.6.6. Aroma ve Tat Bileşenleri Oluşturma Potansiyeli .....	13
2.6.7. Antimikrobiyal Özellik.....	13
2.7. LAB'nin Tanımlanması.....	14
2.7.1. Geleneksel Fenotipik İdentifikasyon Yöntemleri .....	14
2.7.2. Moleküler Tanımlama Yöntemleri.....	15
2.7.3. Tür Düzeyinde Doğru Tanımlamanın Önemi .....	16
3.GEREÇ VE YÖNTEM .....	18

3.1. Gereçler .....	18
3.1.1. Keçi Sütü Temini .....	18
3.1.2. Besiyerleri ve Kimyasallar .....	18
3.1.2.1. Besiyerleri .....	18
3.1.2.2. Kimyasallar.....	19
3.1.2.3. Antibiyotik Diskleri .....	20
3.1.2.4. Gram Boyama Reaktifleri.....	20
3.2. Yöntem.....	20
3.2.1. Süt Örneklerinin Toplanması ve Analizi .....	20
3.2.2. Mikrobiyolojik Analizler .....	21
3.2.2.1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri (TAMB) Sayımı .....	21
3.2.2.2. LAB'nin İzolasyonu.....	21
3.2.3. LAB İzolatlarının Tanımlanması ve Saklanması .....	22
3.2.3.1. LAB İzolatlarının Ön İdentifikasyonu.....	22
3.2.3.2. LAB İzolatlarının Saklanması.....	23
3.2.3.3. LAB İzolatlarının Moleküler Tanımlanması .....	23
3.2.4. LAB İzolatlarının Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi .....	24
3.2.4.1. Asit Üretim Yeteneği .....	25
3.2.4.2. Proteolitik Aktivite .....	25
3.2.4.6. Farklı Sıcaklıklarda Gelişme Yeteneği.....	26
3.2.4.7. Farklı pH Değerlerinde Gelişme Yeteneği.....	26
3.2.4.8. Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme Yeteneği .....	27
3.2.4.9. Antibiyotik Dirençlilik Testi .....	27
3.2.4.10. Antimikrobiyal Aktivite Analizi.....	27
4.BULGULAR.....	29
4.1. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.....	29
4.1.1.TAMB, <i>Lactobacillus</i> spp. ve <i>Lactococcus/Streptococcus</i> spp. Sayım Sonuçları.....	29
4.2. LAB'nin İzolasyonu .....	32
4.3. MALDI-TOF MS Yöntemi ile İzolatların Tanımlanma Sonuçları .....	33
4.4. İzole Edilen Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	37
4.4.1. İzolatların Asit Oluşturma Kapasitesi Sonuçları .....	38

4.4.2. İzolatların Proteolitik Aktivite Sonuçları .....	40
4.4.3. İzolatların EPS Üretimi Sonuçları .....	41
4.4.4. İzolatların Farklı Sıcaklıklarda Gelişebilme Yeteneği.....	42
4.4.5. İzolatların Farklı pH Değerlerinde Gelişebilme Yetenekleri .....	43
4.4.6. İzolatların Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Gelişebilme Yetenekleri .....	44
4.4.7. İzolatların Antibiyotik Dirençlilik Yetenekleri .....	45
4.4.8. İzolatların Antimikrobiyal Aktivite Yetenekleri .....	47
<b>5.TARTIŞMA .....</b>	<b>49</b>
5.1. Mikrobiyolojik Analizler .....	49
5.2. Teknolojik Özellikler .....	52
<b>6.SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>61</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>63</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>75</b>

## ÖZET

### ÇİĞ KEÇİ SÜTÜNDEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU, İDENTİFİKASYONU VE BAZI TEKNOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Süt endüstrisindeki ürünlerin mikrobiyal güvenliği, ürün stabilitesi, ürüne özgü aroma ve tat kazandırılmasında büyük rol oynayan otokton starter kültürlerin üretilmesi son derece önemlidir. Bu kültürler aynı zamanda geleneksel üretimle modern teknolojiyi birleştirirken mikrobiyal çeşitlilik ve biyolojik mirasın korunmasına, yerel ürünün kalitesinin artmasına yardımcı olmaktadır. Bu araştırmanın amacı, çiğ keçi sütünde doğal olarak bulunan laktik asit bakterilerini izole etmek ve tanımlanan izolatlar arasından seçilenlerin bazı teknolojik özelliklerini belirlemektir. Bunun için farklı işletmelerden alınan çiğ keçi sütü numunelerinin mikrobiyolojik analizleri yapılmış, teknolojik özellikleri test edilmiştir. Numunelerden izole edilen ve ön tanımlama testleri sonucunda potansiyel laktik asit bakterisi olabileceği değerlendirilen 87 izolat, MALDI-TOF MS yöntemi kullanılarak tanımlanmıştır. Bu sonuca göre keçi sütünde baskın mikroflorayı %26.4 ile *Enterococcus* spp., %21.8 ile *Lactococcus* spp. ve %12.6 ile *Lactobacillus* spp. cinsi bakterilerin oluşturduğu tespit edilmiştir. Tür düzeyine bakıldığında en baskın suşların %16.1 ile *E. faecium*, %11.5 ile *Lc. lactis* ve %5.7 ile *L. reuteri*, %4.7 ile *Lp. plantarum* oldukları görülmüştür. Aroma bileşikleri, bakteriyosin ve asit üretmeleri ile proteolitik ve antimikrobiyal aktivite yetenekleri, sütü fermente edebilme özellikleri göz önünde bulundurularak starter kültür oluşturma potansiyellerine göre seçilen 19 LAB izolatu *Lc. lactis*, *L. reuteri* ve *Lp. plantarum* cinsleri olacak şekilde seçilmiştir. Sonuç olarak elde edilen laktik asit bakteri izolatlarından bazılarının gıda endüstrisinde starter kültür olarak işlev gösterebilme potansiyellerinin olduğu görülmüştür. Bu izolatların süt ürünlerinin üretiminde gösterecekleri etki ve performanslarının ayrıca test edilip değerlendirilmesinin uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

*Anahtar kelimeler: Çiğ keçi sütü, laktik asit bakterileri, MALDI-TOF MS, tanımlama, teknolojik özellikler.*

## ABSTRACT

### ISOLATION, IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF LACTIC ACID BACTERIA FROM RAW GOAT MILK

It is extremely important to produce autochthonous starter cultures that play a major role in the microbial safety, product stability, product-specific aroma and taste of products in the dairy industry. These cultures also help to protect microbial diversity and biological heritage and increase the quality of the local product while combining traditional production with modern technology. The aim of this research was to isolate lactic acid bacteria naturally found in raw goat milk and to determine some technological properties of selected isolates among the identified isolates. For this purpose, microbiological analyses of raw goat milk samples taken from different farms were carried out and technological properties were tested. A total of 87 isolates, obtained from the samples and presumed to be potential lactic acid bacteria based on preliminary tests, were identified using the MALDI-TOF MS technique. According to this result, the dominant microflora in goat milk was found to be *Enterococcus* spp. with 26.4%, *Lactococcus* spp. with 21.8% and *Lactobacillus* spp. with 12.6%. At the species level, the most dominant strains were *E. faecium* with 16.1%, *Lc. lactis* with 11.5% and *L. reuteri* with 5.7%, *Lp. plantarum* with 4.7%. The 19 LAB isolates were selected as *Lc. lactis*, *L. reuteri* and *Lp. plantarum* genera according to their potential to form starter cultures by considering their ability to produce flavour compounds, bacteriocins and acids, their ability to produce proteolytic and antimicrobial activity and their ability to ferment milk. As a result, it was observed that some of the lactic acid bacteria isolates obtained have the potential to function as starter cultures in the food industry. It was concluded that the effect and performance of these isolates in the production of dairy products should be tested and evaluated additionally.

*Keywords: Raw goat milk, lactic acid bacteria, MALDI-TOF MS, identification, technological properties.*

## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
°C	: Santigrat Derece
ATCC	: American Type Culture Collection (Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu)
ATP	: Adenozin Trifosfat
CFS	: Cell-Free Supernatant (Hücre İçermeyen Supernatant)
CSP	: Cold Shock Protein (Soğuk Şok Proteini)
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EFSA	: European Food Safety Authority (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi)
EPS	: Ekzopolisakkarit
FAO	: Food and Agriculture Organization (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü)
FAOSTAT	: Food and Agriculture Organization Statistics (Gıda ve Tarım Örgütü Kurumsal İstatistik Veritabanı)
GRAS	: Generally Recognized as Safe (Genel Olarak Güvenli Kabul Edilen)
Kob	: Koloni Oluşturan Birim
<i>L. reuteri</i>	: <i>Limosilactobacillus reuteri</i>
LAB	: Laktik Asit Bakterileri
<i>Lc. lactis</i>	: <i>Lactococcus lactis</i>
log	: Logaritma
<i>Lp. plantarum</i>	: <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>

MALDI-TOF MS	: Matriks Assisted Lazer Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (Matriks Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometrisi)
mL	: Mililitre
mtDNA	: Mitokondriyal DNA
NaCl	: Sodyum Klorür
NGS	: Next-Generation Sequencing (Yeni Nesil Dizileme)
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
RNA	: Ribonükleik Asit
Rpm	: Revolutions Per Minute (Dakikadaki Devir Sayısı)
rRNA	: Ribozomal RNA
SCFA	: Short-Chain Fatty Acid (Kısa zincirli Yağ Asidi)
TAMB	: Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
WHO	: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No:

Şekil 4. 1. Tanımlanan LAB izolatlarının cins düzeyinde dağılımı. ....36

## TABLolar DİZİNİ

### Sayfa No:

<b>Tablo 3. 1.</b> Çalışmada Kullanılan Besiyerleri. ....	19
<b>Tablo 3. 2.</b> Çalışmada Kullanılan Antibiyotik Diskleri. ....	20
<b>Tablo 4. 1.</b> Çiğ keçi sütü örneklerinin TAMB, Lactobacillus spp. ve Lactococcus/Streptococcus spp. sayıları ( $\log_{10}$ kob/mL). ....	30
<b>Tablo 4. 2.</b> Çiğ keçi sütü örneklerinin TAMB, Lactobacillus spp. ve Lactococcus/Streptococcus spp. sayıları için minimum, maksimum ve ortalama değerler ( $\log_{10}$ kob/mL). ....	32
<b>Tablo 4. 3.</b> MALDI-TOF MS yöntemi ile izolatların identifikasyon sonuçları. ....	33
<b>Tablo 4. 4.</b> Tanımlanan LAB şüpheli izolatların cins ve tür düzeyinde dağılımı. ....	37
<b>Tablo 4. 5.</b> Çiğ keçi sütünden izole edilen ve teknolojik özellikleri açısından değerlendirilen LAB izolatları. ....	38
<b>Tablo 4. 6.</b> LAB izolatlarının UHT inek sütü içerisinde 0., 3., 6. ve 24. saat sonunda ölçülen pH değerleri. ....	39
<b>Tablo 4. 7.</b> LAB izolatlarının %10 Skim Milk içeren MRS agar'da oluşturduğu zon çapları (mm). ....	40
<b>Tablo 4. 8.</b> LAB izolatlarının EPS üretim durumları. ....	41
<b>Tablo 4. 9.</b> LAB izolatlarının 10 ve 45°C'lerde 48 saat içerisinde gelişebilme durumları. ....	42
<b>Tablo 4. 10.</b> LAB izolatlarının pH 3.9 ve 9.6 değerlerinde 30°C'de 48 saat içerisinde gelişebilme durumları. ....	43
<b>Tablo 4. 11.</b> LAB izolatlarının farklı NaCl (%2 ve %6.5) konsantrasyonlarında 30°C'de 24 saat içerisinde gelişebilme durumları. ....	44
<b>Tablo 4. 12.</b> LAB İzolatlarının antibiyotik dirençlilik değerleri (zon çapları mm cinsinde). ....	46
<b>Tablo 4. 13.</b> LAB izolatlarının bazı patojen bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite değerleri (zon çapları mm cinsinde). ....	47

## 1. GİRİŞ

Keçiler (*Capra hircus*) insanlık tarihindeki ilk evcilleştirilen hayvan türlerinden biri olup yaklaşık 10.000 yıl önce Bereketli Hilal bölgesinde evcilleştirilmiştir (Zeder ve Hesse, 2000). Günümüzde Antarktika dışında hemen her kıtada bulunmakta, farklı iklim ve coğrafi koşullarda başarıyla yetiştirilebilmektedir (Food and Agriculture Organization Statistics [FAOSTAT], 2013). Et, süt, kıl, deri gibi çok yönlü ürünleri ile özellikle kırsal kesimlerin ekonomisine katkı sağlamaktadır (Nomura ve ark., 2013; Yalçın Sever, 2019). Keçiler, kalitesiz çevresel ortamları değerlendirme kapasiteleri sayesinde sürdürülebilir hayvancılıkta önemli bir yere sahiptir (Food and Agriculture Organization [FAO], 1986).

Dünyada yaklaşık 1.1 milyar keçi bulunmakta ve keçi yetiştiriciliği çoğunlukla meraya dayalı olarak yapılmaktadır (FAOSTAT, 2021). Çin, Hindistan ve Nijerya en fazla keçi varlığına sahip ülkelerdir. Türkiye’de ise 2023 yılı itibarıyla keçi sayısı 10.3 milyon başa düşmüş olsa da aynı yıl çiğ keçi sütü üretimi 543 bin tonla bir önceki yıla göre hafif bir artış göstermiştir (Türkiye İstatistik Kurumu [TÜİK], 2024a;b). Keçi sütü inek sütüne göre üretim açısından sınırlı olmakla birlikte besin bileşimi ve sağlığa katkıları bakımından değerli bir alternatiftir (Yalçın Sever, 2019).

Keçi sütü yüksek sindirilebilirliği, düşük alerjenik potansiyeli, yüksek tamponlama kapasitesi ve bazı terapötik etkileriyle dikkat çekmektedir (Raynal-Ljutovac ve ark., 2008). Amino asit kompozisyonu sayesinde daha verimli emilim sağlar ve özellikle inek sütüne alerjisi olan bireyler için alternatif bir kaynak oluşturmaktadır. Pediatrik ve geriatric bireylerde kullanımı yaygındır (Yangılar, 2013). Ayrıca fonksiyonel gıdalara yönelik artan tüketici ilgisiyle birlikte keçi sütü bazı ürünlerin pazardaki yeri giderek güçlenmektedir (Mowlem, 2005).

Süt mikroorganizmalarının gelişimi için elverişli bir ortam sunar. Bu ortamda doğal olarak bulunan laktik asit bakterileri (LAB), hem gıdanın mikrobiyal stabilitesini artırmakta hem de tat, aroma ve tekstürel özelliklerine olumlu katkı sağlamaktadır (Liu ve ark., 2014). LAB karbonhidratları fermente ederek laktik asit üretir ve bu sayede gıdaların raf ömrünü uzatırken aynı zamanda olası patojenlerin gelişimini de baskılayabilmektedir. Bazı LAB türlerinin probiyotik özellik gösterdiği ve bağırsak mikrobiyotasını dengeleyerek konak sağlığını olumlu yönde etkilediği bilinmektedir (Hill ve ark., 2014).

LAB terimi ilk kez Orla-Jensen tarafından 1919'da tanımlanmış ve günümüzde gıda mikrobiyolojisinin temel kavramlarından biri haline gelmiştir. Bu bakteriler genellikle Gram-pozitif, kok veya çubuk şeklinde olup düşük pH'a dayanıklıdır (Tissier, 1984). Gıda fermantasyonunda en sık karşılaşılan cinsler arasında *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* ve *Weissella* yer almaktadır. Bu bakteriler sadece süt ürünlerinde değil; sebze, et ve tahıl bazlı fermente ürünlerde de kullanılmaktadır (Mokoena, 2017).

Keçi sütü özgün bileşimi sayesinde LAB için zengin bir gelişim ortamı oluşturmaktadır. Bu durum çiğ keçi sütünden izole edilecek LAB suşlarının potansiyel teknolojik özelliklerinin araştırılmasını anlamlı kılmaktadır. Özellikle yerli (otokton) izolatların belirli fermente gıdaların üretiminde starter kültür olarak kullanılması hem geleneksel gıdaların kalitesini artırabilir hem de yerel mikrobiyal çeşitlilik ve standardizasyonun korunmasına katkıda bulunabilir. Bu çalışmanın amacı, çiğ keçi sütünden LAB'nin izole edilmesi, identifikasyonlarının yapılması ve elde edilen izolatların bazı teknolojik özelliklerinin belirlenmesidir. Böylece bu mikroorganizmaların geleneksel fermente süt ürünlerinin üretiminde otokton starter kültür olarak kullanılabilirliği değerlendirilecektir. Bu yaklaşım, hem yerel kaynakların etkin kullanımını teşvik edecek hem de doğal mikrobiyotanın fonksiyonel potansiyelinin ortaya konmasına katkı sağlayacaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Keçi Sütü

Keçi sütü bileşimsel ve teknolojik özellikleriyle inek sütünden belirgin şekilde farklılık göstermekte ve bu farklılıklar onun besinsel, fonksiyonel ve duyuşal değerini ön plana çıkarmaktadır. Keçi sütü inek sütüne kıyasla daha yüksek düzeyde protein, protein olmayan azot bileşenleri ve fosfat içermesi nedeniyle daha yüksek bir tamponlama kapasitesine sahiptir (Park, 1994). Ayrıca keçi sütü doğal homojenizasyon özelliğı sayesinde sindirim sisteminde daha kolay parçalanabilmektedir. Bu özelliğı katkı sağılayan başlıca etmenler arasında daha küçük yağ globülleri, daha büyük yüzey alanı, daha yüksek oranda kısa ve orta zincirli yağ asitleri ile proteinlerinin daha yumuşak bir lor yapısı oluşturması yer almaktadır. Bu fizikokimyasal nitelikler sayesinde bağırsak enzimleri, özellikle lipazlar lipitleri daha etkin şekilde parçalayabilmekte bu da sindirilebilirliğini artırmaktadır (Jandal, 1996).

Keçi sütü, süt ve süt ürünleri endüstrisinde oldukça geniş bir kullanım yelpazesine sahiptir. UHT sütler, az yağlı veya aromalı içecekler, fermente ürünler (yoğurt, ayran, peynir), dondurulmuş ürünler (dondurma, dondurulmuş yoğurt), tereyağı, yoğunlaştırılmış veya kurutulmuş süt ürünleri ve tatlı-şekerleme ürünleri keçi sütüyle üretilebilmektedir (Ribeiro ve Ribeiro, 2010). Keçi sütü, peynir mayasına karşı duyarlılığı bakımından da dikkat çekmektedir. Bu süt, inek ve koyun sütlerine göre daha hızlı ve etkin bir şekilde pıhtılaşarak işleme verimliliğini artırmaktadır (Üçüncü, 2021).

Keçi sütü kalitesi hem teknolojik işleme toleransı hem de tüketici beklentilerini karşılama potansiyeli açısından değerlendirilmektedir. Tüketicilerin ürün tercihlerinde tat en belirleyici faktörlerden biridir. Keçi sütüne özgü hafif, nötr

ve hoş aroma, bazı peynir türlerinde istenen bir nitelik iken içme sütleri gibi ürünlerde daha sade ve nötr tat tercih edilmektedir (Ribeiro ve Ribeiro, 2010). Ancak keçi sütü ürünlerinin pazarlanmasında karşılaşılan en büyük zorluklardan biri “keçi benzeri” koku ve tat ile ilgili olumsuz algıdır. Bu durum genellikle yetersiz hijyen koşullarında üretilen sütlerin neden olduğu duyuşal bozulmalarla ilişkilidir (Mowlem, 2005).

Keçi sütü aynı zamanda fonksiyonel bileşenlerin üretimi açısından da potansiyel taşımaktadır. Keçi sütünün işlenmesi sırasında izole edilen LAB yeni fonksiyonel bileşiklerin elde edilmesinde biyolojik kaynak olarak değerlendirilmektedir (Djadouni ve Kihal, 2013). Ancak keçi sütünün geleneksel fermantasyon süreçleri genellikle tanımlanmamış laktik mikroflora ile yürütülmekte ve bu durum ürünlerde farklı duyuşal özelliklerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Sellami ve ark., 2007). Bu sorunun aşılması için standartlaştırılmış laktik bakteri karışımları kullanılarak kontrollü fermantasyon süreçlerinin geliştirilmesi önerilmektedir (Moulay ve ark., 2013).

Keçi sütü özellikle zorlu iklim koşullarına sahip bölgelerde hayvancılığın sürdürülebilirliğini sağlamak amacıyla da önemli bir besin kaynağıdır. Afrika ve Arap ülkelerinde, zorlu çevresel şartlarda keçi gibi dayanıklı hayvanların yetiştirilmesine yönelik sistemlerin geliştirilmesi hem üretim kapasitesini artırmakta hem de beslenme çeşitliliğine katkı sunmaktadır (Zarour ve ark., 2013).

## **2.2. Keçi Sütü İçeriğı**

Keçi sütü, kimyasal bileşimi bakımından tür, ırk, laktasyon dönemi, genetik faktörler fizyolojik durum, beslenme rejimi ve çevresel faktörlerden etkilenmektedir (Peres ve ark., 2016). Saliba ve ark. (2021), Lübnan’ın Batı Bekaa bölgesindeki altı farklı çiftlikten toplanan Baladi keçilerine ait süt örneklerinde pH  $6.68 \pm 0.05$ ; yağ  $\%3.08 \pm 0.52$ ; protein  $\%3.48 \pm 0.23$ ; yağsız kuru madde  $\%8.46 \pm 0.28$ ; toplam kuru madde  $\%11.54 \pm 0.68$  olarak belirlemiştir. Çiftlikler arasında yalnızca yağ içeriğinin istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiğini tespit etmişlerdir ( $p < 0.05$ ). Aynı ırka

ait daha önceki bir çalışmada (Tabet ve ark., 2016), yağ (%4.31) ve protein (%4.00) oranları daha yüksek bildirilmiştir. McInnis ve ark. (2015) ise farklı kültür ırklarında yağ içeriğini %2.6–3.4, protein içeriğini %2.3–3.1 aralığında raporlamıştır.

Keçi sütünde proteinlerin yaklaşık %75'i kazeindir ve bu nedenle kazeinli sütler grubuna girmektedir. Yerli keçi ırklarında protein oranı Kıl keçisinde %4.56, Tiftik keçisinde %4.36, Kilis keçisinde %3.18; kültür ırkı Alpine'da ise %2.72'dir (Üçüncü, 2001). Yağ miktarı keçi sütünde sadece enerji kaynağı değil aynı zamanda ürünlerin tekstürü, aroması ve besinsel özellikleri açısından da belirleyici bir bileşendir (Ribeiro ve Ribeiro, 2010).

Keçi sütünde en çok bulunan bileşenlerden birisi de oligosakkaritlerdir. Bunlar insan sütüne benzer şekilde prebiyotik özellikler göstermektedir. Olgun keçi sütünde 60–350 mg/L, kolostrumda ise 2.4 g/L'ye kadar oligosakkarit konsantrasyonları bildirilmiştir (Martín-Ortiz ve ark., 2017). Bununla birlikte keçi sütünde mangan, demir ve B<sub>12</sub> vitamin seviyeleri oldukça azdır (Üçüncü, 2001).

### **2.3. Keçi Sütü ve İnsan Sağlığı**

Keçi sütünü sağlıklı ve fonksiyonel bir gıda olarak düşünmek çok önemlidir. İnsanlar keçi sütünü sadece bir ilaç olarak düşünemezler (Park ve Haenlein, 2007). Toplum tarafından keçi sütüne olan talebin üç nedeni vardır. Bunlardan birincisi ev tüketimidir. Bu talep, büyüyen insan nüfusu nedeniyle artmaktadır. Eski bir söz olan "keçiler fakirin ineğidir" sözü bu konuda oldukça yerinde bir deyiştir. Gelişmekte olan ülkelerde keçiler yetersiz beslenme ile sağlıklı ve sürdürülebilir bir diyet arasındaki farkı temsil edebilmektedir (Mowlem, 2005). İkinci husus, birçok gelişmiş ülkede özellikle peynir ve yoğurt olmak üzere keçi sütü ürünlerine uzmanların büyük ilgi göstermesidir. Bu ilgi, harcanabilir gelir seviyelerinin artması nedeniyle artmaktadır. Üçüncü husus, inek sütü alerjisi ve diğer gastrointestinal rahatsızlıkları olan kişilerin rahatsızlığına yönelik tıbbi bir amaçtan kaynaklanmaktadır. Bu talep özellikle gelişmiş ülkelerde bu tür rahatsızlıklara yönelik geleneksel tıbbi tedavilerle

ilgili sorunların daha geniş bir farkındalığı nedeniyle de artmaktadır (Park ve Haenlein, 2007).

Keçi sütünün mükemmel bir besin kaynağı olarak kullanımını yadsınamaz bir gerçektir. Sağlık yönü ve fizyolojik işlevleri göz önüne alındığında çocukların, gençlerin ve yaşlıların beslenmesi için yararlı etkileri vardır. Buna ek olarak bazı yazarlara göre inek sütü alerjisi olan kişiler tarafından olumsuz etkilere maruz kalmadan keçi sütü tüketilebilmektedir ve inek sütü alerjisi olan kişiler üzerinde faydalı ve terapötik etkileri mevcuttur. Bu besinsel, sağlık ve terapötik faydalar keçi sütünün ve bu süttten üretilen özel ürünlerinin potansiyelleri ve değerleri hakkında bilgi vermektedir. Bu durum keçi sütünün pazar potansiyelini de öne çıkarmaktadır (Ribeiro ve Ribeiro, 2010).

## **2.4. Laktik Asit Bakterileri**

### **2.4.1. Genel Özellikleri**

LAB çeşitli karbonhidratları özellikle laktik asidi fermente edebilen geniş bir ekolojik yayılıma sahip olan heterojen bir mikroorganizma grubudur (Brooijmans ve ark., 2009). İşlevsel solunum zincirlerinin bulunmaması nedeniyle enerji ihtiyaçlarını substrat düzeyinde fosforilasyonla karşılarlar. Bu amaçla iki ana metabolik yol kullanırlar: Embden-Meyerhof-Parnas yoluna dayanan homofermentatif yol ve pentoz fosfoketolaz ya da 6-fosfoglukonat yolu olarak bilinen heterofermentatif yol. Homofermentatif fermentasyonun temel ürünü laktik asit iken heterofermentatif fermentasyon sonucunda laktik asidin yanı sıra asetat, etanol, CO<sub>2</sub>, format ve süksinat gibi bileşikler de oluşur (Liu ve ark., 2014).

LAB genel olarak Gram-pozitif, katalaz negatif (bazı türlerde psödokatalaz üretimi görülebilir), spor oluşturmeyen, çubuk ya da kok şeklindeki mikroorganizmalardır (Orla-Jensen, 1919). Filogenetik açıdan *Firmicutes* (*Lactobacillales* takımı) ve *Actinobacteria* şubelerine dağılmışlardır. *Firmicutes* grubundaki LAB cinsleri arasında *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*,

*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* ve *Weissella* yer alırken *Actinobacteria*'daki tek temsilci *Bifidobacterium* cinsidir (Liu ve ark., 2014).

Geleneksel sınıflandırma fermentasyon şekli, sıcaklık toleransı ve karbonhidrat kullanım profili gibi fizyolojik özelliklere dayansa da günümüzde moleküler yöntemler bu sınıflandırmayı desteklemekte ve detaylandırmaktadır. LAB suşlarının biyoteknolojik önemi fermente gıdalarda raf ömrünü uzatma, tat ve kıvam gibi duyuşal özellikleri iyileştirme yeteneklerinden kaynaklanmaktadır. Bu etkiler başta laktik asit olmak üzere bakteriyosin, diasetil ve karbondioksit gibi antimikrobiyal bileşiklerin üretimiyle de ilişkilidir (de Vos, 2011).

LAB tarafından sentezlenen antimikrobiyal maddeler sadece bakterilere değil bazı durumlarda küf ve maya gibi mantar türlerine karşı da etkilidir (Bukhari ve ark., 2020; Peng ve ark., 2021). Bu özellikleri sayesinde ekşi hamur gibi fermente ürünlerde mikotoksin kontrolünde kullanımları artmaktadır (Lavermicocca ve ark., 2000). Ayrıca bu mikroorganizmalar hayvancılıkta yem katkısı ve probiyotik destek olarak da değerlendirilmektedir (Vieco-Saiz ve ark., 2019).

Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak kabul edilebilmesi için mide asidine, safra tuzlarına ve sindirim enzimlerine dirençli olması, canlı olarak kolona ulaşabilmesi ve yeterli miktarda tüketilmesi gerekmektedir. Gıda ürünlerinde bu değer genellikle  $10^7$  kob/mL olarak belirtilmektedir (Boylston ve ark., 2004). FAO/WHO (2006) tarafından önerilen kriterlere göre probiyotik suşların tür düzeyinde tanımlanması ve hemolitik aktivite ile antibiyotik duyarlılığının değerlendirilmesi önem arz etmektedir.

#### **2.4.2. Keçi Sütündeki Laktik Asit Bakterileri**

Tormo ve ark. (2015) Fransa coğrafi bölgesinden seçtikleri ve keçi peyniri üreten 21 çiftliği kullandıkları araştırmalarında keçi sütlerinden elde ettikleri 206 izolatanın 204'ünün *Lactococcus* veya *Enterococcus* fenotipine sahip olduklarını

belirlemişlerdir. Bu 204 izolat için 6 fenotipik profil ayırt edilmiştir. 206 suştan toplam 146'sı farklı fenotipik profillere sahip ve genotipik olarak karakterize edilebilecek şekilde seçilmiştir. Chamba ve ark. (1981) modifiye edilmiş Elliker agarından izole ettikleri laktik asit bakterilerinin *Lactococcus lactis* (*Lc. lactis*) ve *Enterococcus subsp.* olduğunu PCR ile doğrulamışlardır. Böylece 73 suş *Lc. lactis subsp lactis* (test edilen suşların %50'si), 17 suş *Lc. lactis subsp cremoris* (%12) ve 56 suş enterokok (%38) olarak tanımlanmıştır.

## 2.5. LAB'nin Gıda Endüstrisinde Kullanım Alanları

LAB ürettiği laktik asit, bakteriyosinler, antioksidanlar, vitaminler ve diğer iç ve dış membran bileşikler gibi metabolitler sebebiyle biyoteknolojik düzeyde ilgi çekici ürünlerin bir parçasıdır (Mora-Villalobos ve ark., 2020). Laktik asidin gıda alanındaki ilk kullanımları doğal laktik asit üretimini teşvik etmek ve depolama sırasında bozucu mikroorganizmaların büyümesini kontrol etmek için LAB hücrelerinin belirli gıda ürünlerine dahil edildiği asidülasyon ve koruma ile ilgiliydi (İbrahim ve ark., 2020). Günümüzde gıda uygulamalarında laktik asit kullanımına yönelik yaklaşımlar benzerdir. Bununla birlikte suş seçimi, fermantasyon, saflaştırma ve formülasyondaki teknolojik gelişmeler, yüksek saflıktaki laktik asidin doğrudan bir gıda matrisine eklenmesine olanak tanımaktadır (Montero-Zamora ve ark., 2022).

LAB'nin birçok suşu gıda ve yem endüstrilerinde kullanılan en önemli mikroorganizma grupları arasındadır (Johnson-Green, 2002). LAB gıda muhafazasında ve gıdaların organoleptik özelliklerinin, örneğin tatlarının ve dokularının modifiye edilmesinde kullanılmaktadır (Barinov ve ark., 2011).

Ekonomik avantajları ve genel olarak güvenli (GRAS) itibarları nedeniyle çeşitli endüstrilerde kapsamlı bir şekilde incelenmiş ve kullanılmıştır. Örneğin; LAB, fermente süt ürünlerinin ve içeceklerin üretiminde yaygın bir şekilde starter kültürler olarak kullanılmaktadırlar (Ong ve ark., 2007). Önceleri fermente gıda ve içeceklerin üretimi hammaddelerde doğal olarak bulunan mikroflora nedeniyle spontane bir fermantasyonla elde ediliyordu. Daha sonra seçilen starter kültürlerin gıda matrisine

doğrudan eklenmesi gıda endüstrisi tarafından tercih edilmiştir. Bunun avantajları, fermantasyon süreci üzerinde yüksek derecede kontrol ve nihai ürünün standardizasyonu olmuştur. LAB fermente gıda ve içeceklerin besinsel, organoleptik, teknolojik ve raf ömrü özelliklerini geliştirebildikleri için starter kültür olarak uzun süredir kullanılmaktadırlar (Leroy ve de Vuyst, 2004).

Starter kültür, fermantasyon sürecini hızlandırarak ve yönlendirerek fermente bir gıda üretmeyi amaçlayan bir hammaddeye eklenen çok sayıda bir veya daha fazla mikroorganizmadan oluşan mikrobiyal bir preparat olarak tanımlanabilir (Caplice ve Fitzgerald, 1999; Ray, 1992). Fermente gıda endüstrileri, gıda matrisine doğrudan inokülasyon için çoğunlukla dondurulmuş ve dondurularak kurutulmuş konsantreler veya liyofilize preparatlar olarak mevcut olan ticari starter kültürleri kullanmaktadır (Sandine, 1996).

LAB tarafından fermente edilen süt ürünleri dünya çapında yaygın olarak tüketilmektedir. LAB starterleri için seçim kriterleri asitleştirme oranı, lezzet ve doku özellikleridir. EPS üreten LAB genellikle yoğurt gibi karıştırılmış fermente sütlerin viskozitesini artırmak ve sinerezise (peynir altı suyu ayrılması) duyarlılığı azaltmak için kullanılmaktadır (de Vuyst ve Bart, 1999).

## **2.6. LAB'nin Teknolojik Özellikleri**

Bir fermantasyon suşu olan LAB'nin asit ve aroma üretme yeteneği, proteini hidrolize etme yeteneği, viskoz EPS üretme yeteneği ve bakterileri inhibe etme yeteneği gibi bazı önemli metabolizma özelliklerine sahip olması gerekmektedir (Wang ve ark., 2021).

### **2.6.1. Asit Üretimi**

LAB bağırsakta karbonhidrat fermantasyonu yoluyla laktik asit ve kısa zincirli yağ asitleri (SCFA'lar) dahil olmak üzere organik asitler üretirler.

Homofermentatif veya heterofermentatif metabolizmayı kullanıp kullanmadıklarına bağlı olarak iki ayrı gruba ayrılırlar. Homofermentatif LAB, bir glikoz molekülünü iki laktik asit molekülüne dönüştürür ve aldolaz enzimi aracılığıyla iki ATP molekülü üretir. Heterofermentatif LAB, altı karbonlu şekerleri (heksozlar) beş karbonlu şekerlere (pentozlar) dönüştürmek için alternatif pentoz monofosfat yolunu kullanır ve ardından fosfoketolaz yoluyla bir laktik asit molekülü ve bir etanol veya asetik asit molekülü üretirler (Abdel-Rahman ve ark., 2013).

### **2.6.2. Proteolitik Aktivite**

LAB'nin çoğunluğu karmaşık peptitlerden aminoasitler elde etmek için proteinazlar ve peptidazların karmaşık kombinasyonlarına sahip iyi kurulmuş bir proteolitik sisteme sahiptir (Law ve Kolstad, 1983). Yapılan bir çalışmada LAB'nin proteolitik sisteminin hem büyüme için protein ve peptitlerin kullanımında hem de süt ürünlerindeki sütün olgunlaşma sürecinde önemli olduğu sonucuna varılmıştır (Liu ve ark., 2010).

Gobbetti ve ark. (1999), proteinaz aktivitesinin substrat ve bakteri suşlarının etkilerine ek olarak pH'tan da etkilendiğini göstermiştir. LAB'nin ayrıntılı proteolitik sistemi, karmaşık polipeptitlerin parçalanması için bir ön koşuldur ve bakterilere hayatta kalmalarını sağlamak için aminoasitler sağlar (Kunji ve ark., 1996).

### **2.6.3. Lipolitik Aktivite**

Lipoliz serbest yağ asitleri, gliserol ve mono ve digliseridler gibi ara maddeler üretmek için trigliseritlerin hidrolizidir. Bu ara maddeler nihai ürünün doku gelişimine yardımcı olan diğer gıda bileşenlerini emülsifiye eder (Esteban-Torres ve ark., 2014). LAB tarafından lipoliz derecesi, starter kültürleri olarak kullanılan suşların seçimini belirlemeye yardımcı olmaktadır. Bu özellik bitkisel fermantasyon, fırınlanmış gıda uygulamaları ve fermente süt ürünlerinde lezzet gelişimi için son derece önemlidir (Tanasupawat ve ark., 2015).

LAB genellikle *Penicillium* ve *Pseudomonas* cinslerine göre zayıf lipolitik etki gösteren bakteri grubu olarak kabul edilmektedirler (McSweeney ve Sousa, 2000). Ancak uzun olgunlaşma dönemlerine sahip peynirler gibi ürünlerde LAB'nden gelen lipolitik aktivite lezzet gelişimine katkıda bulunmakta ve katabolik son ürünler üreten daha ileri reaksiyonlar için substrat görevi görmektedir (Collins ve ark., 2003).

#### **2.6.4. Ekzopolisakkarit (EPS) Üretimi**

EPS'ler mikroorganizmalar tarafından sentezlenen dallanmış, tekrar eden şeker birimlerinden veya şeker türevlerinden oluşan uzun zincirli polisakkaritlerdir (Werning ve ark., 2022). Bu EPS'ler kimyasal bileşimlerine ve biyosentez mekanizmalarına göre homopolisakkaritler ve heteropolisakkaritler olarak ayrılmaktadırlar (Ruas-Madiedo ve ark., 2002). Homopolisakkaritler, unlu mamullerde yapısal kaliteyi ve destekleme kabiliyetini etkileyerek ekşi hamur ürünlerine katılabilirken heteropolisakkaritler süt ürünlerinde gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Waldherr ve Vogel, 2009). EPS fermente gıdaların organoleptik kalitesine, doku, tat algısı, ağız hissi ve stabilitesine katkıda bulunur (Duboc ve Mollet, 2001).

EPS üretebilen starter kültürlerin kullanımı özellikle yoğurt üretiminde stabilizatör kullanımının yasak olduğu Avrupa'da yoğurtta reolojik ve viskozite sorunlarından kaçınmak için alınan başlıca önlemlerden biridir (Rawson ve Marshall, 1997). Birkaç LAB gibi yoğurt starter kültürleri doğal biyo-kalınlaştırıcı maddeler ve yerinde üretilen stabilizatörler olarak fermente yoğurdun fizikokimyasal ve reolojik özelliklerinde önemli roller oynayabilen EPS üretebilir (Duboc ve Mollet, 2001). LAB'nden elde edilen EPS'ler anti-kanser, anti-enflamatuar ve antioksidan aktiviteler göstermektedirler. Ayrıca gıda, biyomedikal ve kozmetik endüstrilerinde uygulanmaktadırlar (Werning ve ark., 2022).

### 2.6.5. Tuz Toleransı, pH Toleransı, Düşük Sıcaklıkta Gelişim

Ticari amaçlar için seçilen LAB, endüstriyel proseslerde karşılaşılan olumsuz koşullara örneğin; ısı, soğuk, asitlik ve yüksek NaCl konsantrasyonlarına meydan okumalıdır (Bucka-Kolendo ve Sokolowska 2017). Birçok fermente gıda tuzla yapılır. Bu sayede ozmotik stres genellikle fermantasyon proseslerinde hayatta kalan mikroorganizmalar için önemli bir zorluktur (El-Gendy ve ark. 1983; Prasad ve ark. 2003; Rao ve ark. 2004; Yamani ve ark. 1998). LAB'nde hücre içi ozmotik basıncın düzenlenmesinin olası mekanizmaları, (i) hücrelerden Na<sup>+</sup> iyonunun dışlanması, (ii) uyumlu çözünenlerin birikmesi ve (iii) hücre zarı bileşiminin değişmesi şeklinde belirtilmiştir (Yao ve ark., 2020).

Az sayıda çalışma, LAB'nin asidik koşullarda büyümesi ve hayatta kalmasından farklı olarak alkali koşullarda iç hücre pH'ını sabitlemek için LAB'nin etki mekanizmasını bildirmiştir. Bu nedenle LAB'nin yüksek pH'da kullandığı moleküler mekanizmanın anlaşılması şu anda ortaya çıkmaktadır. Alkali koşullar altında LAB sitoplazmanın alkalinizasyonu ile iç pH'ını düzenler. Ancak bu değişen iç pH, dış pH'tan daha küçüktür (Holzapfel ve Wood, 2014). Ayrıca LAB alkali ortamlarda hayatta kalmak için yüksek pH'ta aktif olan enzimlerini kullanmaktadırlar (Cao ve ark., 2002).

Gıda ürünlerinin olgunlaşması veya gıda güvenliğinin sağlanması için düşük sıcaklıklarda depolanması probiyotik özelliklere sahip LAB üzerindeki soğuk stresinin ana nedenidir. Bazı LAB 15°C kadar düşük sıcaklıklarda büyüebilir ve çeşitli soğuk ortamlarda bulunabilir. LAB'nin soğuk ortamda gelişebilme yeteneği önemlidir. Çünkü çoğu ticari LAB suşu dondurularak kurutulmuş tozlar halinde tedarik edilir (Zhang ve ark., 2016). LAB düşük sıcaklığın yarattığı zararlı etkilerin üstesinden gelir ve soğuk ortamlarla ilgili zararlı etkileri iyileştiren antifriz ve soğuk şok proteinleri (CSP'ler) üreterek düşük sıcaklıklarda gelişebilirler (Keto-Timonen ve ark., 2016). CSP'ler, antiterminatörler gibi soğuk kaynaklı genlerin ifadesini kontrol eder (Bae ve ark., 2000). LAB'nin, donma sıcaklıklarında aktiviteyi koruyan ve hem transkripsiyonu hem de translasyonu destekleyen soğuğa uyum sağlamış enzimler ürettiği bilinmektedir (Mangiagalli ve ark., 2018).

### **2.6.6. Aroma ve Tat Bileşenleri Oluşturma Potansiyeli**

LAB asitler ve ketonlar da dahil olmak üzere uçucu organik bileşiklerin üretimini etkili bir şekilde kolaylaştırabilmekte ve böylece aroma kalitesini artırabilmektedirler (Liang ve ark., 2024). Diasetil ve asetoin üretme kapasitesi nedeniyle LAB süt endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Diasetilin düşük konsantrasyonları kremi ve tereyağlı aroma sağladığından birçok süt ürününün önemli bir bileşenidir (Passerini ve ark., 2013). Heterofermentatif LAB mannitol, etanol ve diğer aroma maddelerini üreterek fermente ürünlere daha iyi lezzet ve tat vermektedir (Kim ve ark., 2019). EPS üretme yeteneği LAB için temel bir özellik olarak kabul edilir. Çünkü EPS'nin varlığı süt ürünlerini pürüzsüz ve kremi yapar ve bunlar tüketiciler için iki çekici gıda özelliğidir (Franciosi ve ark., 2009).

### **2.6.7. Antimikrobiyal Özellik**

Antimikrobiyal moleküller üretebilen bakterileri bulmak için doğal mikrobiyal suşları taramak umut verici bir stratejidir. Özellikle LAB rekabetçi türlerle mücadelenin hayatta kalmak için çok önemli olduğu gıda ekolojik nişinde uzun bir evrimsel geçmişe sahip oldukları için gıda kaynaklı enfeksiyonları önleyen molekülleri bulmak için iyi adaylardır. LAB'nden çok sayıda bakteriyostatik veya bakterisidal bileşik tanımlanmıştır (Pessione, 2012). LAB'nin iyi bilinen ancak hala yeterince kullanılmayan bir özelliği de gıda bozulmasını ve gıda kaynaklı enfeksiyonları kontrol etme yetenekleridir.

Gıda bozulmaları ile ilgili olarak LAB, fermente gıdalar söz konusu olduğunda starter suşlarıyla karşılıklı antagonistik etkiden kaçınmak için uygun şekilde test edildiğinde gıdanın raf ömrünü uzatmak için kullanılabileceği bildirilmiştir (Odeyemi ve ark., 2020).

LAB türevi probiyotik bakteriler çok çeşitli antimikrobiyal aktiviteler sergilemektedir. Bazı LAB suşları spesifik olmayan antimikrobiyal maddeler (kısa

zincirli yağ asitleri, organik asitler, hidrojen peroksit) üretebilmektedirler (Gillor ve ark., 2008).

LAB 1928'de ilk izole edilen bakteriyosin olan nisin A (Rogers ve Whittier, 1928), pediosin, enterosin, sakasin, laktokoksin, helvetisin, reuterisin, laktasin, mutasin, gasserisin ve salivarisin moleküllerinin yüksek performanslı üreticileridir (Perez ve ark., 2014). *Lc. lactis* suşları tarafından üretilen ve en yaygın kullanılan bakteriyosin olan nisin ticari geliştirme ve üretimde iyi bilinen bir gıda koruyucusudur. Geniş bir antimikrobiyal spektruma ve sindirim enzimlerinin aracılık ettiği ayrışma yeteneklerine sahiptir (Qiao ve ark., 2022).

## **2.7. LAB'nin Tanımlanması**

### **2.7.1. Geleneksel Fenotipik İdentifikasyon Yöntemleri**

Gram boyama mikrobiyolojideki en önemli boyama tekniklerinden biridir. Adı ilk olarak 1882'de zatürreye neden olan organizmaları tanımlamak için bu tekniği tanıtan Danimarkalı bakteriyolog Hans Christian Gram'dan gelir (Bartholomew, 1952). Genellikle Gram boyama, birincil renk olarak kristal menekşe veya metilen mavisi kullanılarak gerçekleştirilen ilk testtir (O'Toole, 2016). Birincil rengi koruyan ve mikroskop altında mor-kahverengi görünen organizmalar Gram-pozitifdir. Bunun aksine, birincil boyayı almayan ve mikroskop altında kırmızı görünenler Gram-negatiftir (Sizar ve ark., 2023). Gram boyamadaki ilk adım, slaydın ilk boyaması için kristal menekşe boyası kullanmaktır. Boyayı sabitleme olarak da bilinen bir sonraki adım boyanın kolayca çıkarılmasını önlemek için kristal menekşe-iyot kompleksi oluşturmak üzere iyot kullanmayı içerir. Daha sonra genellikle etanol ve aseton çözücüsü olan bir renk giderici boyayı çıkarmak için kullanılır. Gram boyama işleminin temel prensibi bakteri hücre duvarının çözücü işlemi sırasında kristal menekşe boyasını tutma yeteneğidir (Libenson ve McIlroy, 1955). Gram-pozitif mikroorganizmalar daha yüksek peptidoglikan içeriğine sahipken Gram-negatif organizmalar daha yüksek lipid içeriğine sahiptir (Shugar ve Baranowska, 1954).

Bütün streptokoklar hariç çoğu aerob ve fakültatif anaerob bakterileri katalaz enzimi üretirler ve bu enzim hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )'i su ve oksijene ayrıştırır (Winn ve ark., 2006). Katalaz testi stafilokokları streptokoklardan ayırmada kullanılır. Yapılışı; lam üzerine test edilecek organizmanın bir gecelik kültüründen bir koloni konulur ve üzerine bir damla %3'lük  $H_2O_2$  eklenir. Kabarcık oluşması pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmektedir (Arabacı, 2021).

Kültüre bağlı tanımlama yöntemleri, kültüre alınabilme özelliği taşıyan bakterilerin kültüre alınmasını gerektirdiğinden çok hassas ve güvenilir olmalıdır. Bunlar yakından ilişkili çevresel suşlar arasında ayırım yapmayı, bazı hastalık salgınlarında hızlı tanımlamayı ve klasik tekniklerle ayırt edilmesi zor olan nadir veya daha az sıklıkta görülen mikroorganizmaların tanımlanmasını içermektedir. Bunların çoğu, matris destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş süresi kütle spektrometrisi (MALDI-TOF MS) uygulamasıyla başarıyla çözülebilmektedir (Popović ve ark., 2017). MALDI-TOF MS, birkaç dakika içinde tanımlamaya olanak tanıyan bakteriyel tanımlama için güçlü bir araçtır (Christ ve ark., 2017). Tedavi edilen bakteriyel hücrelerin proteomunu analiz eder ve bakterileri gruplamak ve tanımlamak için kullanılan protein kütle spektrumları üretir (Ghyselinck ve ark., 2011).

### **2.7.2. Moleküler Tanımlama Yöntemleri**

Kültürleme olmadan bakteri kompozisyonu, topluluk yapıları ve genetik çeşitlilikleri hakkında bilgi veren yöntemler tanıtılmıştır. Bunlara gerçek zamanlı PCR, 16S ribozomal RNA (16S rRNA) dizileme, denatürasyon ve sıcaklık gradyan jel elektroforezi (DGGE/TGGE), terminal restriksiyon parçası uzunluk polimorfizmi (T-RFLP) (Marzorati ve ark., 2008), yağ asidi metil esterleri (FAME) analizi (Cavigelli ve ark., 1995), yeni nesil dizileme (NGS) (Smets ve ark., 2015) dahildir. Bu yöntemler bakteri izolatu tanımlanırken zaman alıcı, maliyetli, zahmetli ve uzmanlık gerektirmesine rağmen özellikle LAB türlerinin tanımlanması için hızlı, güvenilir ve yüksek doğrulukta sonuçlar vermektedir (Mohania ve ark., 2008).

Yakın zamana kadar genlerin izolasyonu ve tam nükleotid tayini için klonlama veya alt klonlama prosedürleri gerekmektedir (Edwards ve ark., 1989). Wrischnik ve ark. (1987), DNA'nın polimorfik bölgelerinin dizilerini önce bakterilerde klonlamadan belirleyebilmenin iki doğrudan yolunu araştırmışlardır. Yaklaşımlardan biri, saflaştırılmış mtDNA'yı (mitokondriyal DNA) tek bir primer ile doğrudan dizilemekti (Wallace ve ark., 1981). Diğer bir yaklaşım ise DNA'nın belirli bir bölgesini in vitro olarak enzimatik biçimde çoğaltmak için iki primer kullanan polimeraz zincir reaksiyonundan (PCR) yararlanmaktı (Mullis ve Faloona, 1987). Moleküler biyoloji tekniklerindeki yeni bir gelişme olan PCR yoluyla (Saiki ve ark., 1988) DNA parçalarının in vitro amplifikasyonu, belirli bir genin izole edilmesine olanak tanıyarak klonlama ihtiyacını ortadan kaldırmaktadır (Edwards ve ark., 1989).

Bakteriler için taksonomik amaçlarla en sık kullanılan DNA parçası 16S rRNA genidir (Kolbert ve Persing, 1999). 16S rRNA belirteç geninin yüksek verimli dizilenmesi, mikrobiyal toplulukların çeşitliliğini ve bileşimini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Huber ve ark., 2007). 16S rRNA geni yalnızca tüm bakteriler arasında değil aynı zamanda arkeobakterilerin 16S rRNA geni ve ökaryotların 18S rRNA geni ile de karşılaştırılabilmektedir (Palys ve ark., 1997).

### **2.7.3. Tür Düzeyinde Doğru Tanımlamanın Önemi**

LAB birçok gıda uygulamasında çok önemli olduğundan gıda endüstrisi duyuşal ve ürün kalitesini artırmak için her zaman üstün özelliklere sahip suşlar aramaktadır. Fermantasyon sırasında laktik asit bakterileri gıdalarda lezzet gelişimini artıran, bozulmayı önleyen ve bu nedenle birçok uygulamada, özellikle gıda ve süt endüstrisinde çok faydalı olan organik asitler ve diğer metabolitler üretmektedir. Özellikle süt sektörü LAB'nden büyük ölçüde yararlanmaktadır. Dolayısıyla laktik asit bakterilerinin potansiyelini doğrulamak gerekmektedir. Ürün kalitesi ve duyuşal çekicilik büyük ölçüde süt starter kültürlerinin rolünden etkilendiği için starter kültürler hayati önem taşımaktadır (Hati ve ark., 2013).

LAB'nin geniş uygulama yelpazesi ve sayısı, metabolik uygulamalarından yararlanmak (Stefanovic ve ark., 2017; Wu ve ark., 2017) ve tüm taksonomik seviyelerde yeni mikroorganizmaları hızlı ve hassas bir şekilde tanımlamak (Jarocki ve ark., 2016) için genomik kanıtı önemli özellikleriyle ilişkilendirmeyi gerekli kılmaktadır. Starter kültürlerin tanımlanması, özelliklerinin belirlenmesi, seçimi ve çoğaltılması ile bu kültürlerin gıda endüstrisinde kullanımına yönelik teknolojik gelişmeler hem sanayi hem de bilimsel çevreler açısından büyük önem taşımaktadır (Broome ve ark., 2011). Ayrıca LAB'nin tür düzeyinde doğru şekilde belirlenmesi sağlık açısından oluşabilecek potansiyel risklerin önlenmesi açısından kritik öneme sahiptir (Mohania ve ark., 2008).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereçler

##### 3.1.1. Keçi Sütü Temini

Bu çalışmada kullanılan çiğ keçi sütü örnekleri Balıkesir ilinde faaliyet gösteren ve Balıkesir yöresinin Kıl keçisi (Kara keçi) yetiştiriciliği yapan 5 işletmeden toplamda 68 adet numune olacak şekilde temin edildi. Aynı işletmeden iki farklı zamanda numune temini gerçekleştirilmedi, her işletme için tek sefere mahsus temin gerçekleştirildi. Her bir süt numunesi sağlıklı ve antibiyotik tedavisi uygulanmamış keçilerden en az 100 mL olacak şekilde sabah saatlerinde işletmeden temin edildi. Her bir süt numunesi tek bir keçiden sağılarak sağlandı.

Örnekler 2024 yılı Nisan ve Mayıs aylarında (18 Nisan, 24 Nisan, 30 Nisan, 10 Mayıs ve 16 Mayıs tarihlerinde) 5 seferde 5 farklı işletmeden temin edildi. Alınan örnekler en geç 1 saat içerisinde soğuk zincir ( $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de) altında laboratuvara getirilerek aynı gün analize alındı.

##### 3.1.2. Besiyerleri ve Kimyasallar

###### 3.1.2.1. Besiyerleri

Araştırmada kullanılan besiyerleri Tablo 3.1'de gösterilmektedir. Tüm besiyerleri üretici firmaların önerdiği hazırlama yönergeleri dikkate alınarak hazırlanmıştır.

**Tablo 3. 1.** Araştırmada kullanılan besiyerleri.

Besiyeri ismi	Üretici firma	Katalog no
Plate Count Skim Milk Agar	Merck	1. 15338
de Man, Rogosa and Sharpe Agar	Merck	1. 10660
de Man, Rogosa and Sharpe Broth	Merck	1. 10661
M17 Agar	Merck	1. 15108
M17 Broth	Merck	1. 15029
Mueller-Hinton Broth	Merck	1. 05437
Brain Heart Infusion Agar	Merck	1. 03870

### 3.1.2.2. Kimyasallar

#### *Laktoz Çözeltisinin Hazırlanması*

Çözeltiyi hazırlamak için öncelikle 10 gram laktoz (Oxoid, L70) tartılarak 100 mL saf su içerisinde tamamen çözündürüldü. Elde edilen çözelti, 0.45 µm steril filtre (Merck, Millipore) aracılığıyla süzöldükten sonra daha önce hazırlanmış MRS agar ve M17 agar ortamlarına %5 oranında eklendi.

#### *Gliserol*

Ticari olarak temin edilen gliserol (Merck, 104057), 121°C’de 15 dakika süreyle otoklavlanarak sterilize edildi ve kullanıma uygun hale getirildi.

#### *Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) Çözeltisinin Hazırlanması*

Hazırlık aşamasında %35 saflıktaki 3 mL analitik derecede hidrojen peroksit, 100 mL hacimli balon jöjeye aktarıldı. Üzerine distile su eklenerek toplam hacim 100 mL’ye tamamlandı. Çözeltinin bulunduğu balon jöje oda sıcaklığına ulaşınca kadar bekletildi. Elde edilen çözelti 24 saatlik bekleme süresinin ardından kullanılmaya hazır hale getirildi.

### 3.1.2.3. Antibiyotik Diskleri

Bu araştırmada kullanılan antibiyotik diskleri (Oxoid, England) Tablo 3.2’de belirtilmektedir.

**Tablo 3. 2.** alışmada kullanılan antibiyotik diskleri.

Antibiyotik Diskinin Adı	Disk Kodu	Konsantrasyonu
		(µg/disk)
Amoxicillin/Clavulanic Acid (AMC)	CT0223B	30
Gentamicin (CN)	CT0024B	10
Streptomycin (S)	CT0047B	10
Cefoxitin (FOX)	CT0119B	30
Erythromycin (E)	CT0066B	5
Ciprofloxacin (CIP)	CT0425B	5
Vancomycin (VA)	CT0058B	30
Ampicillin (AMP)	CT0003B	10
Tetracycline (TE)	CT0054B	30

### 3.1.2.4. Gram Boyama Reaktifleri

Gram boyama için gerekli kimyasallar, Advanced Diagnostics & Research (A.D.R) firmasından hazır set halinde alınmıştır.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Süt Örneklerinin Toplanması ve Analizi

Süt numuneleri en az 100 mL hacme sahip steril vida kapaklı şişelere alındı ve soğuk zincir koşullarında ( $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) en geç bir saat içerisinde laboratuvara ulaştırıldı. Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayımı ve laktik asit bakterilerinin (LAB) izolasyonu, Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı laboratuvarında yapıldı.

### 3.2.2. Mikrobiyolojik Analizler

Her bir çiğ keçi sütü örneğinden 1 mL alınarak 9 mL steril Ringer solüsyonu içeren tüplere eklendi. Tüpler vorteks cihazında çalkalanarak homojen hale getirildi ve 1:10 oranında ilk seyrelti hazırlandı. Bu ilk ( $10^{-1}$ ) dilüsyondan 1 mL alınıp yeni tüplere aktarılarak her seferinde 9 mL Ringer solüsyonu ile  $10^{-9}$  dilüsyona kadar diğer seri seyreltiler hazırlandı. Ardından uygun besiyerlerine ekimler yapıldı.

#### 3.2.2.1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri (TAMB) Sayımı

Hazırlanan uygun dilüsyonlardan 1 mL alınarak Plate Count Skim Milk Agar ortamına dökme plak yöntemiyle ekildi. Plaklar  $30^{\circ}\text{C}$ 'de 48-72 saat arasında inkübe edildi. İnkübasyonun ardından gelişen tüm koloniler sayılarak sonuçlar ilgili dilüsyon katsayısıyla çarpıldı ve  $\log_{10}\text{kob/mL}$  biriminde ifade edildi (TS EN ISO 4833-2, 2014).

#### 3.2.2.2. LAB'nin İzolasyonu

*Lactobacillus* spp. türlerinin izolasyonu amacıyla hazırlanan numunelerden 1 mL alınarak steril petri kutularına aktarıldı. Ardından  $50^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutulmuş ve %5 oranında steril laktoz çözeltisi içeren MRSA besiyerinden dökme plak tekniğiyle ekim yapıldı. Ekim işlemi tamamlandıktan sonra petri kutuları anaerobik koşullarda  $37^{\circ}\text{C}$ 'de 48–72 saat süreyle inkübe edildi (Jamyuang ve ark., 2019). Anaerobik koşulları oluşturmak amacıyla Merck firmasına ait Anaerocult® A (1.13829) kitleri kullanıldı ve anaerobik ortamın sağlandığı Anaerotest® (Merck, 1.15112) şeritleri ile doğrulandı. Şeritlerin yaklaşık 4 saat sonunda mavi renkten renksiz hale gelmesi uygun anaerobik ortamın sağlandığını gösterdi.

*Lactococcus* ve *Streptococcus* spp. izolasyonunda ise steril M17 agar ortamı tercih edildi. Bu besiyerine yine 1 mL örnek yayma plak yöntemiyle ekilerek  $30^{\circ}\text{C}$ 'de 48–72 saat süreyle inkübe edildi (Terzaghi ve Sandine, 1975).

İnkübasyonun ardından her örnekten farklı morfolojik özellikler gösteren 3 ile 5 adet koloni seçildi ve bu kolonilere Gram boyama ile katalaz testi uygulandı. Gram-pozitif ve katalaz negatif sonuç veren izolatlar, %30 oranında steril gliserol içeren MRS veya M17 broth ortamlarına alınarak -20°C’de muhafaza edildi.

### **3.2.3. LAB İzolatlarının Tanımlanması ve Saklanması**

#### **3.2.3.1. LAB İzolatlarının Ön İdentifikasyonu**

##### ***Koloni Morfolojisi***

İnkübasyon tamamlandıktan sonra izolat seçimi amacıyla petrilerdeki koloniler görünüm, renk ve şekillerine göre değerlendirildi. *Lactobacillus* spp. için krem (sarımsı beyaz), mat ve düzgün kenarlı koloniler, *Lactococcus/Streptococcus* spp. için ise beyaz, parlak ve düzgün kenarlı koloniler seçildi ve ardından ışık mikroskopunda (Novex, Hollanda) incelendi.

##### ***Gram Boyama***

Laktik asit bakteri potansiyeli taşıyan koloniler özgül besiyerlerine ekilerek 24 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında gelişen aktif kolonilerden tek kullanımlık yuvarlak uçlu öze ile 10 µL numune alınarak, bir damla fizyolojik tuz çözeltisi (FTS) ile birlikte temiz lam üzerine yayıldı. Havadaki alevden birkaç kez geçirilerek fikse edilen preparat sırasıyla kristal viyole (2–3 dakika), lugol (1–2 dakika), saf alkol (15–20 saniye) ve safranin (30 saniye) ile boyama aşamalarından geçirildi. Her adım sonrası saf suyla yıkama işlemi yapıldı. Hazırlanan preparatlar kurutulduktan sonra immersiyon yağı (Merck, 104699) damlatılarak ışık mikroskopunda (Novex, Hollanda) 100x büyütme ile incelendi. Mavi-mor renkte gözlemlenen koloniler Gram-pozitif, pembe renkte olanlar ise Gram-negatif olarak değerlendirildi (Bartholomew ve Mittwer, 1952). Gram-pozitif izolatlar LAB olma potansiyeli taşıyan izolatlar olarak kabul edildi.

### ***Katalaz Testi***

Gram-pozitif bulunan şüpheli LAB kolonileri, steril bir petri üzerine öze ile aktarıldı. Üzerine %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisinden birkaç damla Pastör pipeti yardımıyla damlatıldı. Gaz kabarcığı oluşumu katalaz pozitiflik olarak değerlendirildi. Reaksiyon göstermeyen izolatlar katalaz negatif kabul edilerek LAB grubuna dâhil edildi.

#### **3.2.3.2. LAB İzolatlarının Saklanması**

Her bir izolat sonraki analizlerde kullanılincaya kadar -20°C'de zenginleştirme brothlarında saklandı. İzolatlar, örneklerin alındığı zamana, gruba ve grup içindeki numaralarına göre adlandırıldı. İzolatların her birinden 1'er mL steril eppendorf tüplerin içerisine alındı. Her birinin üzerine 400 µL steril gliserol ilave edilerek vorteks cihazında homojenize edildi. Her bir izolat için 2 adet eppendorf olacak şekilde (bir asıl ve bir yedek ile) hazırlandı.

#### **3.2.3.3. LAB İzolatlarının Moleküler Tanımlanması**

Ön tanımlama testlerinden sonra LAB olma ihtimali taşıyan izolatlar moleküler düzeyde tanımlanmak üzere MALDI-TOF MS tekniğiyle analiz edildi. Bu işlem Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda, hizmet alımı kapsamında gerçekleştirildi.

#### ***Örneklerin MALDI-TOF-MS Yöntemi ile Analizi***

MALDI-TOF MS analizlerinde kullanılan materyaller arasında; HCCA ( $\alpha$ -siyano-4-hidroksisinnamik asit; Bruker), ACN (HPLC saflığında asetonitril; Sigma-Aldrich), TFA (trifloroasetik asit; Sigma-Aldrich), FA (formik asit; Sigma-Aldrich) ve DNaz/RNaz içermeyen ultra saf su (0.1 Bruker; Sigma-Aldrich) yer aldı. Ayrıca bakteri test çözeltisi olarak *E. coli*, RNAaz ve myoglobin protein profillerini içeren

çözelti kullanıldı. HCCA matriks çözeltisi; 50 µL ACN, 47.5 µL ultra saf su ve 2.5 µL TFA içeren karışım ile 10 mg/mL konsantrasyonda hazırlandı.

24–48 saatlik kültürden alınan tek koloniler steril kürdan ile toplanarak 96 çelik plaka (MSP-MALDI, Bruker Daltonics) üzerine doğrudan uygulandı ve kurutuldu. Ardından her örnek noktasına 1 µL HCCA matriks çözeltisi eklendi. Tüm spotlar tamamen kuruduktan sonra plaka, MALDI-TOF MS cihazına (Bruker Microflex LT, Almanya) yerleştirildi ve analiz gerçekleştirildi. Sistem doğrusal pozitif iyon modu ile çalıştırıldı ve 2000–20000 Da aralığında tarama yapıldı. Her numune için 240 lazer atımından oluşan üç farklı ölçüm yapılmış (yapıldı) ve en yüksek güvenilirlik puanı dikkate alınmıştır (alındı). Kütle kalibrasyonu analizle eş zamanlı olarak bakteri test çözeltisi yardımıyla yapıldı.

### ***İzolatların Tanımlanması***

İzolatların tanımlanması Bruker Biotyper sistemine ait Flex Control 3.0 yazılımı (Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) kullanılarak gerçekleştirildi. Elde edilen spektrumlar, otomasyon kontrollü MALDI Biotyper sistemi aracılığıyla flexAnalysis 3.4 ve Biotyper Compass Explorer 1.4 yazılımları yardımıyla analiz edildi. Tanımlamada Bruker MALDI Biotyper 3.1 kütüphanesi (8500 kayıt) referans olarak kullanıldı. Elde edilen skorlar üretici firma Bruker'in önerdiği standart prosedürler doğrultusunda değerlendirildi.

#### **3.2.4. LAB İzolatlarının Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi**

MALDI-TOF MS yöntemi ile tanımlanan izolatlardan potansiyel starter kültür özelliği gösterebilen ve gıda endüstrisinde en yaygın olarak kullanılan 19 LAB izolatu seçilerek teknolojik özellikleri ve starter kültür olarak kullanım imkanları değerlendirildi. Bu izolatların seçiminde bazı kriterler göz önünde bulunduruldu. *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve bazı *Streptococcus* cinslerine ait LAB genellikle güvenli (GRAS) veya nitelikli güvenlik varsayımı (QPS) statüsünde kabul edilmektedir. Bu tür mikroorganizmaların güvenlik

endişeleri yaratmadığı ve gıdalarda kullanıma uygun olduğu bildirilmiştir. Öte yandan *Enterococcus* cinsi ve bazı *Streptococcus* türleri patojenik olabilmekte ve çeşitli antibiyotiklere karşı virülans faktörleri ve direnç gösterebilmektedir. Bu nedenle GRAS/QPS statüsüne uygun değildirler ve gıdalarda kullanımları uygun değildir (EFSA, 2007). Bu kriterlere göre, 87 izolatın MALDI-TOF MS analizi sonucunda baskın tür olarak *Enterococcus* spp. (%26.4 ile) tespit edilmesine rağmen bu suşlar mevcut çalışmada kullanılmamıştır. *Lactococcus* spp. ve *Lactobacillus* spp. türleri seçilmiş ve teknolojik özellikleri test edilmiştir.

#### **3.2.4.1. Asit Üretim Yeteneği**

İzolatların asit üretim kapasitesi Terzić-Vidojević ve ark. (2015) tarafından bildirilen yöntem temel alınarak bazı değişikliklerle uygulandı. Bu amaçla, 15 gün süreyle 30°C’de ve 7 gün 55°C’de bekletilen, ambalajında sızıntı veya bombaj gözlemlenmeyen UHT yağsız sütler kullanıldı. Steril tüplere her biri 10 mL olacak şekilde süt örnekleri konuldu ve 18 saatlik kültürlerden 100 µL oranında inoküle edildi. *Lactococcus/Streptococcus* spp. için 30°C’de, *Lactobacillus* spp. için ise 37°C’de sırasıyla 3, 6 ve 24 saatlik inkübasyonlar gerçekleştirildi. Her bir sürenin sonunda tüplerden aseptik şartlar altında 3’er mL örnek alındı ve pH ölçümleri HANNA marka HI2211 model pH metre ile yapıldı.

#### **3.2.4.2. Proteolitik Aktivite**

Proteolitik aktivitenin değerlendirilmesinde Raveschot ve ark. (2020) tarafından sunulan protokol esas alındı. %10 oranında skim milk (Oxoid, LP0031) içeren MRS agar hazırlandı ve yüzeyine steril Whatman filtre kağıdından diskler yerleştirildi. Her bir diske 20 µL taze kültür damlatılarak plaklar 37°C’de 24 saat inkübe edildi. Disk etrafında oluşan açık renkli opak zonlar, proteolitik enzim aktivitesinin varlığını göstermekteydi (Harrigan, 1998). Oluşan zonların çaplarına göre değerlendirme yapıldı: zon çapı 10 mm’den küçük olan bölgeler düşük, 10 mm-

20 mm arasında kalan bölgeler orta, 21 mm ve üzerinde olan bölgeler ise yüksek proteolitik aktivite olarak sınıflandırıldı (Yamina ve ark., 2013).

#### **3.2.4.5. Ekzopolisakkarit (EPS) Üretimi**

LAB izolatlarının EPS üretimi, Islam ve ark. (2021) tarafından önerilen yöntemle değerlendirildi. Kısaca LAB kültürleri, %5 glukoz içeren 20 mL MRS brotlarda (falkon tüplerde) 37°C'de 72 saat inkübe edildi. Bakteri hücreleri 6000x g'de 20 dakika boyunca santrifüjleme yoluyla uzaklaştırıldı ve EPS çökeltmesi için süpernatant iki kez %95 etanol ile yıkandı. Çökeltmeler vakumlu filtreleme ile alınarak 60°C'de 1-2 saat etüvde kurutuldu. Üretilen EPS miktarını belirlemek için filtrat ağırlığı ölçüldü.

#### **3.2.4.6. Farklı Sıcaklıklarda Gelişme Yeteneği**

İzolatların farklı sıcaklık aralıklarında büyüebilme kapasitelerini belirlemek amacıyla sıcaklık tolerans testi uygulandı. Bu doğrultuda, izolatlar M17 veya MRS broth besiyerlerine %1 oranında eklenerek sırasıyla 10°C ve 45°C'de 48 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonunda besiyerinde bulanıklık gözlenen izolatlar gelişme göstermiş olarak bulanıklık görülmeyenler ise gelişme göstermemiş olarak değerlendirildi.

#### **3.2.4.7. Farklı pH Değerlerinde Gelişme Yeteneği**

İzolatların çeşitli pH koşullarında gelişme potansiyellerini belirlemek amacıyla pH 3.9 ve pH 9.6 olmak üzere iki farklı ortam hazırlandı. Düşük pH için MRS broth, 1 N HCl kullanılarak pH 3.9'a ayarlandı ve sterilize edildi. Yüksek pH koşulları için ise M17 broth, 1 N NaOH yardımıyla pH 9.6'ya getirildi ve sterilize edildi. Hazırlanan ortamlara aktif kültürlerden %1 oranında inokülasyon yapıldı ve tüpler 30°C'de 48 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda ortamda

gözlenen bulanıklık mikroorganizmanın büyüme göstergesinin işareti olup pozitif sonuç olarak değerlendirildi. Bulanıklık gözlenmeyen durumlar negatif sonuç olarak değerlendirildi.

#### **3.2.4.8. Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme Yeteneği**

İzolatların tuz toleransını değerlendirmek üzere NaCl içeriği farklılaştırılmış MRS ve M17 broth besiyerleri hazırlandı. %2 ve %6.5 NaCl içeren ortamlara taze kültürlerden %1 oranında inokülasyon yapıldıktan sonra tüpler 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında ortamda oluşan bulanıklık gelişmenin bir göstergesi olarak pozitif; bulanıklık gözlenmeyen durumlar ise negatif olarak yorumlandı.

#### **3.2.4.9. Antibiyotik Dirençlilik Testi**

İzolatların antibiyotiklere karşı duyarlılık düzeyleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle değerlendirildi (Bauer ve ark., 1966). Bu amaçla Mueller-Hinton Agar kullanılarak, izolatlar 24 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonrası oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçüldü ve Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, M100-ED31:2021) standartlarına göre yorumlandı. Sonuçlar; dirençli (R), orta duyarlı (I) ve duyarlı (S) olarak sınıflandırılmıştır.

#### **3.2.4.10. Antimikrobiyal Aktivite Analizi**

LAB izolatlarının antimikrobiyal etkileri, belirli patojen referans mikroorganizmalar kullanılarak test edildi. İndikatör suşlar arasında *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enteritidis* ATCC 12416 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 bulunmaktadır. Bu suşlar, Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan temin edildi.

İzolatlara, 15 mL MRS ve M17 broth içeren falcon tüplere inoküle edilerek 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında elde edilen kültürler, 8000 rpm'de +4°C'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant kısmı steril şırıngalarla alındı. Alınan süpernatantlar 0,45 µm por çapındaki steril membran filtreden geçirilerek hücre içermeyen sıvılar (CFS - cell-free supernatant) elde edildi.

Her bir referans suş, 5 log<sub>10</sub> kob/mL yoğunlukta olacak şekilde Brain Heart Infusion (BHI) agar üzerine inoküle edilerek 6 mm çapında kuyucuklar açıldı. Kuyucuklara 150 µL CFS eklenerek 37°C'de 18 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülerek değerlendirme yapıldı. Zon çapı 8 mm'den büyükse güçlü, 4–8 mm arasıysa orta düzeyde ve 1–4 mm arasındaysa zayıf antimikrobiyal etki olarak sınıflandırıldı (Akabanda ve ark., 2014; Pringsulaka ve ark., 2012).

## 4. BULGULAR

### 4.1. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

#### 4.1.1. TAMB, *Lactobacillus* spp. ve *Lactococcus/Streptococcus* spp. Sayım Sonuçları

Beş işletmeden temin edilen, toplamda 68 adet olan çiğ keçi sütü örneklerine ait TAMB, *Lactobacillus* spp. ve *Lactococcus/ Streptococcus* spp. miktarları Tablo 4.1’de verilmektedir.

**Tablo 4. 1.** Çiğ keçi sütü örneklerinin TAMB, *Lactobacillus* spp. ve *Lactococcus/Streptococcus* spp. sayıları (log<sub>10</sub> kob/mL).

No	TAMB	<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Lactococcus/ Streptococcus</i> spp.
1	6.85	<1	5.11
2	6.83	<1	<1
3	6.15	<1	5.15
4	6,08	<1	<1
5	7.18	<1	5.36
6	5.60	<1	<1
7	8.08	3.60	6.20
8	6.40	<1	<1
9	8.23	<1	6.34
10	8.32	<1	6.23
11	6.00	<1	<1
12	5.85	<1	<1
13	6.00	<1	<1
14	8,00	3.60	6.00
15	8.08	<1	6.08
16	5.72	3.30	5.69
17	4.60	<1	5.51
18	6.58	<1	4.48
19	7.04	3.18	5.69
20	4.58	<1	<1
21	4.70	<1	5.46
22	4.63	<1	4.45
23	4,72	<1	4.30
24	6.91	3.08	4.78
25	6.70	2.90	5.57
26	4.61	<1	4.30
27	6.72	3.23	5.40
28	6.70	2.94	5.38
29	6.97	3.18	5.65
30	4.56	<1	<1
31	4.60	<1	<1
32	3.00	<1	2.71
33	5.30	3.08	2.97

**Tablo 4.1. (devam)** Çiğ keçi sütü örneklerinin TAMB, Lactobacillus spp. ve Lactococcus/Streptococcus spp. sayıları (log<sub>10</sub> kob/mL).

34	2.00	<1	<1
35	4.60	<1	3.58
36	3.90	<1	1.90
37	5.08	3.11	3.36
38	4.15	3.15	<1
39	4.08	2.85	<1
40	3.30	2.85	<1
41	3.60	2.96	<1
42	4.18	3.23	3.30
43	3.70	<1	<1
44	4.18	<1	3.04
45	3.60	<1	<1
46	3.95	1.90	2.48
47	4.34	1.78	1.60
48	3.48	<1	<1
49	4,15	2.48	<1
50	4.76	1.30	<1
51	4.34	<1	1.60
52	4.57	2.38	3.38
53	4.20	2.76	3.18
54	4.43	2.26	3.30
55	4.43	2.45	3.00
56	5.04	<1	<1
57	4.28	2.45	2.85
58	3.48	2.00	2.41
59	4.72	<1	3.20
60	3.48	<1	2.87
61	3.30	<1	2.04
62	3.30	<1	2.48
63	4.08	<1	<1
64	4.20	<1	2.60
65	3.30	<1	<1
66	3.00	<1	<1
67	3.00	<1	<1
68	4.11	1.30	2.94

Çiğ keçi sütü örneklerinin bakteri içerikleri incelendiğinde genel olarak TAMB miktarı yüksek olmasına karşın bazı örneklerde *Lactobacillus* spp. ve *Lactococcus/Streptococcus* spp. türleri tespit edilememiştir. *Lactobacillus* spp. türlerinin miktarına bakıldığında 68 örnekten 43'nün 1.35 log<sub>10</sub> kob/mL'nin altında olduğu görülmüştür. *Lactococcus/Streptococcus* spp. türlerinin miktarına bakıldığında 68 örnekten 33'ünün 2.70 log<sub>10</sub> kob/mL'nin altında olduğu görülmüştür. TAMB miktarı için en yüksek değer 8.32, en düşük değer 2.00; *Lactobacillus* spp. miktarı için en yüksek değer 3.60, en düşük değer <1; *Lactococcus/Streptococcus* spp. miktarı için en yüksek değer 6.34, en düşük değer <1 olarak tespit edildi (değerler log<sub>10</sub> kob/mL cinsindedir).

**Tablo 4. 2.** Çiğ keçi sütü örneklerinin TAMB, *Lactobacillus* spp. ve *Lactococcus/Streptococcus* spp. sayıları için minimum, maksimum ve ortalama değerler (log<sub>10</sub> kob/mL).

	TAMB	<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Lactococcus/Streptococcus</i> spp.
Min. değer	2.00	<1	<1
Max. değer	8.32	3.60	6.34
Ortalama	5.01	1.38	2.74

Çiğ keçi sütü örneklerinin içerdiği bakteri sayılarına bakıldığında TAMB miktarı için ortalama değer 5.01, *Lactobacillus* spp. miktarı için 1.38, *Lactococcus/Streptococcus* spp. miktarı için 2.74 şeklinde bulundu (Tablo 4.2). TAMB miktarı için ortalama değer max. değerine daha yakın bulundu. Aksine *Lactobacillus* spp. ve *Lactococcus/Streptococcus* spp. türleri için ortalama değer min. değerlerine daha yakın bulundu.

#### 4.2. LAB'nin İzolasyonu

Farklı tarihlerde toplamda beş farklı işletmeden (her işletme için tek seferlik temin olacak şekilde) alınan 68 adet çiğ keçi sütü örneğinin inkübasyonu sonunda petrilere alınan bakterilere ön tanımlama testleri uygulandı. Bu ön tanımlama

testlerinin sonucunda LAB olma potansiyeli bulunan 87 adet izolat belirlendi. Bu izolatlar belirlenirken fenotipik özelliklerine bakıldı. Petri kaplarındaki kolonilerin görünüm, renk ve şekilleri değerlendirilerek *Lactobacillus* spp. için krem (sarımsı beyaz), mat ve düzgün kenarlı koloniler, *Lactococcus/Streptococcus* spp. için ise beyaz, parlak ve düzgün kenarlı koloniler seçildi. Ayrıca LAB Gram-pozitif, katalaz negatif bakteriler oldukları için gram boyama ve katalaz testleri uygulandı. Mavi-mor renkte gözlemlenen koloniler Gram-pozitif izolatlar olarak kabul edilerek seçildi. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e reaksiyon göstermeyen izolatlar (gaz kabarcığı görülmeyen izolatlar) katalaz negatif kabul edilerek seçildi.

### 4.3. MALDI-TOF MS Yöntemi ile İzolatların Tanımlanma Sonuçları

Elde edilen 87 izolatın MALDI-TOF MS yöntemi ile tür düzeyinde identifikasyon sonuçları Tablo 4.3'te verilmektedir.

**Tablo 4. 3.** MALDI-TOF MS yöntemi ile izolatların identifikasyon sonuçları.

Örnek No	En İyi Eşleşen Mikroorganizma	Puan Değeri
1	<i>E. coli</i>	1.81
2	<i>E. faecalis</i>	2.00
3	<i>Lc. lactis</i>	2.24
4	<i>E. faecium</i>	2.18
5	<i>E. faecium</i>	2.24
6	<i>E. faecalis</i>	2.18
7	<i>E. faecalis</i>	2.21
8	<i>E. coli</i>	2.23
9	<i>E. coli</i>	2.41
10	<i>Lc. petauri</i>	2.23
11	<i>Lc. petauri</i>	1.75
12	<i>E. coli</i>	2.37
13	<i>Lc. petauri</i>	2.11
14	<i>E. coli</i>	2.38
15	<i>E. faecium</i>	2.29
16	<i>E. hormaechei</i>	2.34
17	<i>E. hormaechei</i>	2.28

**Tablo 4.3. (devamı)** MALDI-TOF MS yöntemi ile izolatların identifikasyon sonuçları.

18	<i>E. hormaechei</i>	2.26
19	<i>E. hormaechei</i>	2.30
20	<i>Lc. petauri</i>	2.15
21	<i>Lc. petauri</i>	2.30
22	<i>E. hormaechei</i>	2.39
23	<i>E. hormaechei</i>	2.25
24	<i>Lc. petauri</i>	1.96
25	<i>E. hormaechei</i>	2.18
26	<i>E. faecium</i>	2.28
27	<i>E. hormaechei</i>	2.19
28	<i>Staph. aureus</i>	2.32
29	<i>E. hormaechei</i>	2.38
30	<i>E. faecium</i>	2.30
31	<i>E. hormaechei</i>	2.12
32	<i>Glutamicibacter arilaitensis</i>	2.00
33	<i>E. hormaechei</i>	2.35
34	<i>E. faecium</i>	1.99
35	<i>E. hormaechei</i>	2.17
36	<i>Staph. borealis</i>	2.03
37	<i>E. hormaechei</i>	2.17
38	<i>E. hormaechei</i>	2.22
39	<i>Lc. lactis</i>	2.26
40	<i>E. hormaechei</i>	2.27
41	<i>Lc. lactis</i>	2.25
42	<i>E. faecium</i>	2.26
43	<i>E. faecalis</i>	2.25
44	<i>E. coli</i>	2.31
45	<i>L. petauri</i>	2.15
46	<i>E. faecium</i>	1.90
47	<i>E. faecalis</i>	2.15
48	<i>E. coli</i>	2.41
49	<i>E. coli</i>	2.38
50	<i>E. faecalis</i>	2.05
51	<i>E. faecium</i>	2.06
52	<i>E. coli</i>	2.37

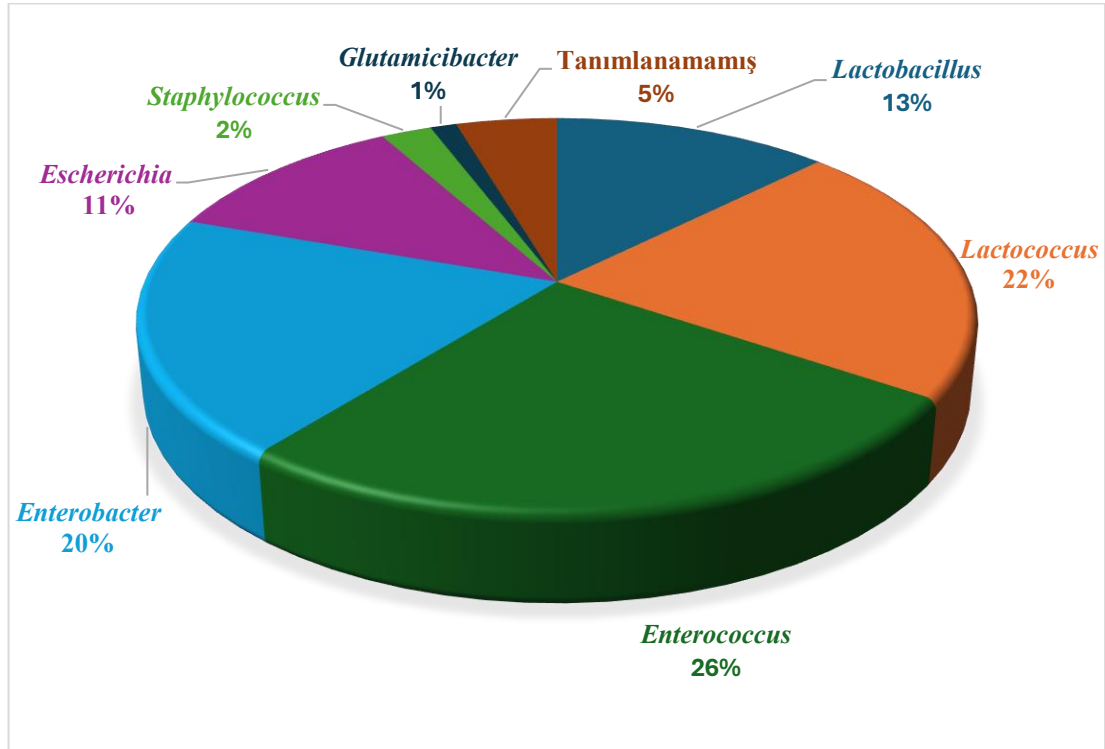
**Tablo 4.3. (devamı)** MALDI-TOF MS yöntemi ile izolatların identifikasyon sonuçları.

53	<i>Lc. petauri</i>	2.07
54	<i>E. faecium</i>	1.83
55	<i>E. faecalis</i>	2.12
56	<i>E. hormaechei</i>	2.27
57	<i>E. faecium</i>	1.94
58	<i>E. faecalis</i>	2.08
59	<i>E. coli</i>	2.19
60	<i>E. faecium</i>	2.35
61	<i>E. hormaechei</i>	1.74
62	<i>Lp. plantarum</i>	2.22
63	<b>Tanımlanamadı</b>	1.52
64	<i>Lp. plantarum</i>	1.98
65	<i>Lc. garvieae</i>	1.86
66	<i>Lp. plantarum</i>	2.20
67	<i>Lc. lactis</i>	1.91
68	<i>Lp. plantarum</i>	2.23
69	<i>Lc. lactis</i>	2.01
70	<i>Lc. lactis</i>	2.09
71	<i>Lc. lactis</i>	2.20
72	<i>Lb. amylovorus</i>	2.19
73	<b>Tanımlanamadı</b>	1.66
74	<i>Lb. kitasatonis</i>	1.84
75	<i>L. reuteri</i>	2.10
76	<i>L. reuteri</i>	1.79
77	<i>L. reuteri</i>	1.94
78	<i>E. faecium</i>	2.05
79	<i>E. faecium</i>	1.85
80	<i>L. reuteri</i>	2.16
81	<b>Tanımlanamadı</b>	1.12
82	<i>E. faecalis</i>	1.75
83	<b>Tanımlanamadı</b>	1.58
84	<i>Lc. lactis</i>	1.87
85	<i>Lc. lactis</i>	1.86
86	<i>Lc. lactis</i>	1.89
87	<i>L. reuteri</i>	1.91

(2.00-3.00 arası: Yüksek güvenilirlikte tanımlama, 1.70-1.99 arası: Düşük güvenilirlikle tanımlama, 0.00-1.69 arası: Hiçbir organizma tanımlanması mümkün değil)

Laktik asit bakterisi olma potansiyeli bulunan izolatların MALDI-TOF MS yöntemi ile identifikasyon sonuçlarına göre 87 izolatın 23'ü (%26.4) *Enterococcus* spp., 19'u (%21.8) *Lactococcus* spp., 11'i (%12.6) *Lactobacillus* spp. şeklinde bulundu.

*Lactobacillus* spp. olarak tanımlanan 11 izolatın tür düzeyinde dağılımına bakıldığında dördü *Lp. plantarum*, beşi *L. reuteri*, biri *Lb. amylovorus*, biri *Lb. kitasatonis*'tir. *Lactococcus* spp. olarak tanımlanan 19 izolatın tür düzeyinde dağılımına bakıldığında 10'u *Lc. lactis*, sekizi *Lc. petauri*, biri *Lc. garvieae* şeklindedir.



Şekil 4. 1. Tanımlanan LAB izolatlarının cins düzeyinde dağılımı.

MALDI-TOF MS yöntemiyle identifikasyon sonucunda LAB izolatlarının cins düzeyindeki dağılımı ile cinsler arasındaki yüzdesi ve genel toplam içindeki yüzdesi Tablo 4.4'te verilmektedir.

**Tablo 4. 4.** Tanımlanan LAB şüpheli izolatların cins ve tür düzeyinde dağılımı.

Cins ve Türler	İzolat Sayısı	Cinsler İçinde Yüzdesi	Toplam İçinde Yüzdesi
<b><i>Lactobacillus spp.</i></b>	<b>11</b>	<b>%100</b>	<b>%12,6</b>
<i>Lp. plantarum</i>	4	%36.4	%4.7
<i>L. reuteri</i>	5	%45.5	%5.7
<i>L. amylovorus</i>	1	%9.1	%1.1
<i>L. kitasatonis</i>	1	%9.1	%1.1
<b><i>Lactococcus spp.</i></b>	<b>19</b>	<b>%100</b>	<b>%21,8</b>
<i>Lc. lactis</i>	10	%52.6	%11.5
<i>Lc. petauri</i>	8	%42.1	%9.2
<i>Lc. gervieae</i>	1	%5.3	%1.1
<b><i>Enterococcus spp.</i></b>	<b>23</b>	<b>100</b>	<b>%26,4</b>
<i>E. faecium</i>	14	%58.3	%16.1
<i>E. faecalis</i>	9	%41.7	%10.3
<b><i>Enterobacter spp.</i></b>	<b>17</b>	<b>100</b>	<b>%19,6</b>
<i>E. hormaechei</i>	17	%100	%19,5
<b><i>Escherichia spp.</i></b>	<b>10</b>	<b>100</b>	<b>%11,5</b>
<i>E. coli</i>	10	%100	%11,5
<b><i>Staphylococcus spp.</i></b>	<b>2</b>	<b>100</b>	<b>%2,3</b>
<i>Staph. aureus</i>	1	%50	%1.1
<i>Staph. borealis</i>	1	%50	%1.1
<b><i>Glutamicibacter spp.</i></b>	<b>1</b>	<b>100</b>	<b>%1,1</b>
<i>Glutamicibacter arilaitensis</i>	1	%100	%1.1
<b>Tanımlanamayan tür</b>	<b>4</b>	<b>%100</b>	<b>%4,7</b>

#### 4.4. İzole Edilen Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

Bu çalışmada tanımlanan LAB izolatlarının, starter olarak süt endüstrisinde yaygın olarak kullanılması durumu ve MALDI-TOF MS yöntemi ile analiz edilmesinin sonuçlarına göre 19 adet izolat seçilmiştir. Bu 19 izolat Tablo 4.5'te verilmektedir.

**Tablo 4. 5.** Çiğ keçi sütünden izole edilen ve teknolojik özellikleri açısından değerlendirilen LAB izolatları.

No	İzolat
1	<i>Lc. lactis</i>
2	<i>Lc. lactis</i>
3	<i>Lc. lactis</i>
4	<i>Lc. lactis</i>
5	<i>Lc. lactis</i>
6	<i>Lc. lactis</i>
7	<i>Lc. lactis</i>
8	<i>Lc. lactis</i>
9	<i>Lc. lactis</i>
10	<i>Lc. lactis</i>
11	<i>Lp. plantarum</i>
12	<i>Lp. plantarum</i>
13	<i>Lp. plantarum</i>
14	<i>Lp. plantarum</i>
15	<i>L. reuteri</i>
16	<i>L. reuteri</i>
17	<i>L. reuteri</i>
18	<i>L. reuteri</i>
19	<i>L. reuteri</i>

#### 4.4.1. İzolatların Asit Oluşturma Kapasitesi Sonuçları

Teknolojik özelliklerine göre seçilen LAB izolatlarının asit oluşturma özelliklerini test etmek için 55°C’de 7 gün inkübe edilen yağsız UHT süt kullanıldı. İzolatlar, *Lactobacillus* spp. için 37°C’de ve *Lactococcus/Streptococcus* spp. için 30°C’de 3, 6 ve 24 saat boyunca inkübe edildi ve pH değerlerinin ölçüm sonucu Tablo 4.6’da verilmektedir. Ölçüm sonuçları birbirinden bağımsız ve art arda alınan üç sonucun aritmetik ortalamasıyla belirlendi.

**Tablo 4. 6.** LAB izolatlarının UHT inek sütü içerisinde 0., 3., 6. ve 24. saat sonunda ölçülen pH değerleri.

No	İzolat	0. saat	3. saat	6. saat	24. saat
1	<i>Lc. lactis</i>	6.62	5.91	5.51	4.45
2	<i>Lc. lactis</i>	6.62	6.13	5.43	4.55
3	<i>Lc. lactis</i>	6.62	6.21	5.59	4.68
4	<i>Lc. lactis</i>	6.62	6.08	4.99	4.29
5	<i>Lc. lactis</i>	6.62	6.03	4.96	4.29
6	<i>Lc. lactis</i>	6.62	5.96	5.13	4.34
7	<i>Lc. lactis</i>	6.62	6.04	5.03	4.31
8	<i>Lc. lactis</i>	6.62	6.42	6.33	5.94
9	<i>Lc. lactis</i>	6.62	6.42	6.33	5.94
10	<i>Lc. lactis</i>	6.62	6.28	5.83	4.87
11	<i>Lp. plantarum</i>	6.62	6.29	6.02	4.88
12	<i>Lp. plantarum</i>	6.62	6.22	6.02	4.91
13	<i>Lp. plantarum</i>	6.62	6.22	6.03	4.97
14	<i>Lp. plantarum</i>	6.62	6.32	6.10	4.86
15	<i>L. reuteri</i>	6.62	6.34	6.23	5.56
16	<i>L. reuteri</i>	6.62	6.38	6.23	5.68
17	<i>L. reuteri</i>	6.62	6.39	6.25	5.60
18	<i>L. reuteri</i>	6.62	6.35	6.23	5.59
19	<i>L. reuteri</i>	6.62	6.32	6.21	5.85

3, 6 ve 24 saatlik inkübasyon sonucunda pH değerinde en fazla düşüş görülen izolatların *Lc. lactis* izolatları olduğu saptandı. 24 saatin sonunda en fazla pH düşüşü görülen ilk üç izolat sırasıyla; 2.33'lük düşüşle 4 numaralı *Lc. lactis* ve 5 numaralı *Lc. lactis* ile 2.31'lik düşüş ile 7 numaralı *Lc. lactis* olduğu belirlendi.

*Lp. plantarum* ve *L. reuteri* türlerinin *Lc. lactis* türüne kıyasla pH düzeyini daha az düşürdüğü tespit edildi. 24. saatin sonunda en düşük pH değerine sahip *L. plantarum* türü için başlangıca göre pH farkı 1.76 iken *L. reuteri* türü için başlangıca göre pH farkının 1.06 olduğu gözlemlendi.

#### 4.4.2. İzolatların Proteolitik Aktivite Sonuçları

Starter kültür olabilme özelliklerine göre seçtiğimiz LAB izolatlarının proteolitik aktivitelerini değerlendirmek için %10 skim milk ilaveli MRS agar üzerinde açılan kuyucukların etrafında görülen zonların çapları ölçülerek sonuçları Tablo 4.7’de verilmektedir.

**Tablo 4. 7.** LAB izolatlarının %10 Skim Milk içeren MRS agar’da oluşturduğu zon çapları (mm).

No	İzolat	Zon çapı (mm)
1	<i>Lc. lactis</i>	20
2	<i>Lc. lactis</i>	18
3	<i>Lc. lactis</i>	20
4	<i>Lc. lactis</i>	27
5	<i>Lc. lactis</i>	27
6	<i>Lc. lactis</i>	27
7	<i>Lc. lactis</i>	27
8	<i>Lc. lactis</i>	14
9	<i>Lc. lactis</i>	22
10	<i>Lc. lactis</i>	22
11	<i>Lp. plantarum</i>	37
12	<i>Lp. plantarum</i>	35
13	<i>Lp. plantarum</i>	39
14	<i>Lp. plantarum</i>	36
15	<i>L. reuteri</i>	38
16	<i>L. reuteri</i>	40
17	<i>L. reuteri</i>	33
18	<i>L. reuteri</i>	44
19	<i>L. reuteri</i>	36

Proteolitik aktiviteyi belirlemek için berrak hidroliz bölgesinin çapı ölçülmüştür. Zon çapı 10 mm’den küçük olan bölgeler düşük, 10 mm-20 mm arasında kalan bölgeler orta, 21 mm ve üzerinde olan bölgeler ise yüksek proteolitik aktivitenin göstergesidir (Yamina ve ark., 2013). Bu kriterlere göre test edilen izolatların tamamında proteolitik aktivite tespit edildi. İzolatların 4’ünde (%21.1)

orta düzeyde proteolitik aktivite, 15'inde (%78.9) yüksek düzeyde proteolitik aktivite saptandı. Hiçbir izolatta düşük düzeyde proteolitik aktivite saptanmadı.

*Lp. plantarum* ve *L. reuteri* türlerinin tamamı yüksek düzeyde proteolitik aktivite gösterdi. *Lc. lactis* türlerinin ise %60'ı yüksek, %40'ı orta düzeyde proteolitik aktivite gösterdi.

#### 4.4.3. İzolatların EPS Üretimi Sonuçları

Seçilen LAB izolatlarının EPS üretim durumları Tablo 4.8'de verilmektedir.

**Tablo 4. 8.** LAB izolatlarının EPS üretim durumları.

No	İzolat	Üreme Durumu
1	<i>Lc. lactis</i>	Zayıf Üreme
2	<i>Lc. lactis</i>	Zayıf Üreme
3	<i>Lc. lactis</i>	Negatif
4	<i>Lc. lactis</i>	Negatif
5	<i>Lc. lactis</i>	Zayıf Üreme
6	<i>Lc. lactis</i>	Negatif
7	<i>Lc. lactis</i>	Zayıf Üreme
8	<i>Lc. lactis</i>	Zayıf Üreme
9	<i>Lc. lactis</i>	Negatif
10	<i>Lc. lactis</i>	Zayıf Üreme
11	<i>Lp. plantarum</i>	Zayıf Üreme
12	<i>Lp. plantarum</i>	Zayıf Üreme
13	<i>Lp. plantarum</i>	Zayıf Üreme
14	<i>Lp. plantarum</i>	Zayıf Üreme
15	<i>L. reuteri</i>	Zayıf Üreme
16	<i>L. reuteri</i>	Zayıf Üreme
17	<i>L. reuteri</i>	Zayıf Üreme
18	<i>L. reuteri</i>	Zayıf Üreme
19	<i>L. reuteri</i>	Zayıf Üreme

İzolatların %78.9'u zayıf EPS üretimi gösterirken, %21.1'i EPS üretimi göstermedi. *L. plantarum* ve *L. reuteri* türlerinin hepsi de EPS üretimi gösterirken *Lc. lactis* türlerinin %60'ı üreme gösterdi %40'ı üreme göstermedi.

#### 4.4.4. İzolatların Farklı Sıcaklıklarda Gelişebilme Yeteneği

LAB izolatlarının farklı sıcaklıklarda gelişebilme durumlarının değerlendirilmesi için 10 ve 45°C sıcaklıklarda 48 saat inkübe edilmiş ve sonuçlar Tablo 4.9'da verilmektedir.

**Tablo 4. 9.** LAB izolatlarının 10 ve 45°C'lerde 48 saat içerisinde gelişebilme durumları.

No	İzolat	10°C	45°C
1	<i>Lc. lactis</i>	Negatif	Pozitif
2	<i>Lc. lactis</i>	Negatif	Pozitif
3	<i>Lc. lactis</i>	Negatif	Pozitif
4	<i>Lc. lactis</i>	Negatif	Pozitif
5	<i>Lc. lactis</i>	Negatif	Pozitif
6	<i>Lc. lactis</i>	Negatif	Pozitif
7	<i>Lc. lactis</i>	Negatif	Pozitif
8	<i>Lc. lactis</i>	Negatif	Pozitif
9	<i>Lc. lactis</i>	Negatif	Pozitif
10	<i>Lc. lactis</i>	Negatif	Pozitif
11	<i>Lp. plantarum</i>	Zayıf Üreme	Pozitif
12	<i>Lp. plantarum</i>	Zayıf Üreme	Pozitif
13	<i>Lp. plantarum</i>	Zayıf Üreme	Pozitif
14	<i>Lp. plantarum</i>	Zayıf Üreme	Pozitif
15	<i>L. reuteri</i>	Negatif	Pozitif
16	<i>L. reuteri</i>	Zayıf Üreme	Pozitif
17	<i>L. reuteri</i>	Negatif	Pozitif
18	<i>L. reuteri</i>	Zayıf Üreme	Pozitif
19	<i>L. reuteri</i>	Negatif	Pozitif

İzolaların tamamının (%100) 45°C sıcaklıkta gelişebildiği gözlemlendi. 10°C sıcaklıkta ise 19 izolattan 13'ü (%68.4'ü) gelişme gösteremedi, 6'sı (%31.6) zayıf gelişme gösterdi. 10°C sıcaklıkta *Lc. lactis* türlerinin hiçbiri gelişme gösteremezken, *Lp. plantarum* türlerinin ise hepsi zayıf gelişme gösterdi, 5 adet *L. reuteri* türünün 3'ü üreme göstermemiş ve 2'si zayıf gelişme gösterdi.

#### 4.4.5. İzolaların Farklı pH Değerlerinde Gelişebilme Yetenekleri

Seçilen LAB izolatlarının farklı pH'larda gelişebilme durumunu değerlendirmek için pH'ları 3.9 ve 9.6'ya ayarlanan brothlarda 48 saat 30°C'de inkübe edildi ve sonuçlar Tablo 4.10'da verilmektedir.

**Tablo 4. 10.** LAB izolatlarının pH 3.9 ve 9.6 değerlerinde 30°C'de 48 saat içerisinde gelişebilme durumları.

No	İzolat	pH 3.9	pH 9.6
1	<i>Lc. lactis</i>	Zayıf Üreme	Pozitif
2	<i>Lc. lactis</i>	Negatif	Pozitif
3	<i>Lc. lactis</i>	Negatif	Pozitif
4	<i>Lc. lactis</i>	Negatif	Pozitif
5	<i>Lc. lactis</i>	Negatif	Pozitif
6	<i>Lc. lactis</i>	Negatif	Pozitif
7	<i>Lc. lactis</i>	Negatif	Pozitif
8	<i>Lc. lactis</i>	Negatif	Pozitif
9	<i>Lc. lactis</i>	Negatif	Pozitif
10	<i>Lc. lactis</i>	Negatif	Pozitif
11	<i>Lp. plantarum</i>	Pozitif	Pozitif
12	<i>Lp. plantarum</i>	Pozitif	Pozitif
13	<i>Lp. plantarum</i>	Pozitif	Pozitif
14	<i>Lp. plantarum</i>	Pozitif	Pozitif
15	<i>L. reuteri</i>	Pozitif	Pozitif
16	<i>L. reuteri</i>	Pozitif	Pozitif
17	<i>L. reuteri</i>	Pozitif	Pozitif
18	<i>L. reuteri</i>	Pozitif	Pozitif
19	<i>L. reuteri</i>	Pozitif	Pozitif

İzolatların tamamı (%100) pH 9.6 değerinde gelişme gösterebildi. pH 3.9'da gelişebilme durumlarına bakıldığında izolatların %47.4'ü gelişme gösteremedi, %47.4'ü gelişme gösterebildi ve %5.2'si zayıf üreme gösterdi.

#### 4.4.6. İzolatların Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Gelişebilme Yetenekleri

Belirlenen LAB izolatlarının farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişim yeteneklerini değerlendirmek amacıyla, izolatlar %2 ve %6.5 NaCl içeren sıvı besiyerlerinde 24 saat süreyle inkübasyona tabi tutulmuş ve bakteri üreme durumları Tablo 4.11'de verilmektedir.

**Tablo 4. 11.** LAB izolatlarının farklı NaCl (%2 ve %6.5) konsantrasyonlarında 30°C'de 24 saat içerisinde gelişebilme durumları.

No	İzolat	%2 NaCl Çözeltisi	%6.5 NaCl Çözeltisi
1	<i>Lc. lactis</i>	Pozitif	Pozitif
2	<i>Lc. lactis</i>	Pozitif	Pozitif
3	<i>Lc. lactis</i>	Pozitif	Pozitif
4	<i>Lc. lactis</i>	Pozitif	Negatif
5	<i>Lc. lactis</i>	Pozitif	Negatif
6	<i>Lc. lactis</i>	Pozitif	Negatif
7	<i>Lc. lactis</i>	Pozitif	Negatif
8	<i>Lc. lactis</i>	Pozitif	Negatif
9	<i>Lc. lactis</i>	Pozitif	Negatif
10	<i>Lc. lactis</i>	Pozitif	Zayıf Üreme
11	<i>Lp. plantarum</i>	Pozitif	Pozitif
12	<i>Lp. plantarum</i>	Pozitif	Pozitif
13	<i>Lp. plantarum</i>	Pozitif	Pozitif
14	<i>Lp. plantarum</i>	Pozitif	Pozitif
15	<i>L. reuteri</i>	Pozitif	Negatif
16	<i>L. reuteri</i>	Pozitif	Negatif
17	<i>L. reuteri</i>	Pozitif	Negatif
18	<i>L. reuteri</i>	Pozitif	Negatif
19	<i>L. reuteri</i>	Pozitif	Negatif

İzolatların tamamı (%100) %2'lik NaCl içeren broth ortamında gelişebilme gösterdi 19 adet izolatın 7'si (%36.8) %6.5'lik NaCl broth ortamında gelişebilme gösterebildi, 1'i (%5.3) zayıf gelişme (*Lc. lactis*) gösterdi, 11'i (%57.9) ise gelişme gösteremedi. *L. reuteri* türlerinin hiçbiri %6.5 NaCl çözeltisinde gelişme gösterememişken *Lp. plantarum* türlerinin hepsi gelişme gösterebildi. 10 adet *Lc. lactis* izolatından 3'ü gelişme göstermiş, 1'i zayıf gelişme göstermiş, kalan 6'sı ise gelişme gösteremedi.

#### **4.4.7. İzolatların Antibiyotik Dirençlilik Yetenekleri**

Seçilen LAB izolatlarının antibiyotik dirençliliklerinin belirlemek için 9 adet antibiyotik seçildi. Mueller-Hinton Agar'da 37°C'de 24 saat inkübe edilmenin sonunda antibiyotik diskleri etrafındaki zonlar ölçüldü. Bu antibiyotiklere karşı izolatların dirençlilik durumları Tablo 4.12'de verilmektedir.

**Tablo 4. 12.** LAB İzolatlarının antibiyotik dirençlilik değerleri (zon çapları mm cinsinde).

No	İzolat	AMC	CN	S	FOX	E	CIP	VA	AMP	TE
1	<i>Lc.lactis</i>	25	11	R	10	R	11	13	22	20
2	<i>Lc.lactis</i>	26	10	R	13	R	12	R	26	22
3	<i>Lc.lactis</i>	35	25	R	12	R	12	R	21	R
4	<i>Lc.lactis</i>	25	11	R	11	20	R	14	23	19
5	<i>Lc.lactis</i>	18	12	R	13	18	R	15	27	20
6	<i>Lc.lactis</i>	19	14	R	13	17	R	17	26	22
7	<i>Lc.lactis</i>	32	10	R	R	17	19	15	30	18
8	<i>Lc.lactis</i>	22	R	R	R	15	18	17	22	21
9	<i>Lc.lactis</i>	31	21	19	23	R	18	R	32	22
10	<i>Lc.lactis</i>	32	21	20	22	R	19	R	33	21
11	<i>Lp. plantarum</i>	R	R	R	R	15	R	R	19	R
12	<i>Lp. plantarum</i>	R	R	R	R	15	R	R	R	R
13	<i>Lp. plantarum</i>	21	R	R	14	19	R	R	R	R
14	<i>Lp. plantarum</i>	23	R	R	R	16	R	R	24	13
15	<i>L. reuteri</i>	28	30	R	R	R	R	R	47	36
16	<i>L. reuteri</i>	30	R	R	16	18	R	R	29	16
17	<i>L. reuteri</i>	45	15	R	22	28	R	R	44	27
18	<i>L. reuteri</i>	20	R	R	24	19	R	R	19	16
19	<i>L. reuteri</i>	43	23	R	17	30	R	R	42	28

(R: Dirençli, AMC: Amoksisilin, CN: Gentamisin, S: Streptomisin, FOX: Sefoksitin, E: Eritromisin, CIP: Siprofloksasin, VA: Vankomisin, AMP: Ampisilin, TE: Tetrasiklin)

Değerlendirmeye alınan izolatlardan *Lp. plantarum* ve *L. reuteri* izolatlarının streptomisin, siprofloksasin ve vankomisin antibiyotiklerine karşı dirençli oldukları saptandı. *Lp. plantarum* türlerinin hepsinin bunlara ek olarak gentamisin antibiyotigine de dirençli olduğu görüldü.

#### 4.4.8. İzolatların Antimikrobiyal Aktivite Yetenekleri

Patojen mikroorganizmalardan *L. monocytogenes* ATCC 7644, *E. coli* ATCC 25922, *S. enteritidis* ATCC 12416 ve *S. aureus* ATCC 6538 referans suşlarına karşı seçilen LAB izolatlarının gösterdikleri antimikrobiyal aktiviteyi tespit edebilmek için Brain Heart Infusion agar besiyerine kuyucuklar açılarak agar kuyucuk difüzyon testi ile değerlendirme yapıldı. Sonuçlar Tablo 4.13'te verilmektedir.

**Tablo 4. 13.** LAB izolatlarının bazı patojen bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite değerleri (zon çapları mm cinsinde).

No	İzolat	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Escherichia coli</i>
1	<i>Lc. lactis</i>	-	-	-	-
2	<i>Lc. lactis</i>	-	-	-	-
3	<i>Lc. lactis</i>	-	-	-	-
4	<i>Lc. lactis</i>	-	-	-	-
5	<i>Lc. lactis</i>	-	-	-	-
6	<i>Lc. lactis</i>	-	-	-	-
7	<i>Lc. lactis</i>	-	-	-	-
8	<i>Lc. lactis</i>	-	-	-	-
9	<i>Lc. lactis</i>	-	-	-	-
10	<i>Lc. lactis</i>	-	-	-	-
11	<i>Lp. plantarum</i>	14	15	17	19
12	<i>Lp. plantarum</i>	16	15	15	17
13	<i>Lp. plantarum</i>	15	13	15	20
14	<i>Lp. plantarum</i>	16	14	16	19
15	<i>L. reuteri</i>	19	25	19	20
16	<i>L. reuteri</i>	17	30	36	21
17	<i>L. reuteri</i>	14	26	25	-
18	<i>L. reuteri</i>	-	14	14	16
19	<i>L. reuteri</i>	15	30	19	25

-: inhibisyon zonu gözlenmedi

Bu değerlendirmeye gre izolatlar ya hi inhibisyon gstermemiş ya da gl inhibisyon gsterdi. *Lc. lactis* izolatları hiçbir patojene karşı antimikrobiyal aktivite gstermedi. *Lp. plantarum* izolatları btn patojenlere karşı gl inhibisyon gsterdi. Diğer yandan *Lb. reuteri* izolatlarının tamamı *S. aureus* ATCC 6538 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 suşlarına karşı güçlü inhibisyon gösterirken bir adet izolat (15 numaralı *L. reuteri*) *S. Enteritidis* ATCC 12416'ya ve bir adet izolat (14 numaralı *L. reuteri*) *E. coli* ATCC 25922'ye karşı hiçbir inhibisyon göstermedi.

## 5. TARTIŞMA

Sütteki laktozun starter kültürler kullanılarak laktik aside dönüştürülmesiyle çeşitli kültürlü süt ürünleri oluşmaktadır. Starter kültürler, bakteriyoloji hakkında hiçbir şey bilinmeden çok önce taze sütü az miktarda ekşi sütle aşılama şeklinde kullanılmaktaydı (Nicholls ve Nimalasuriya, 1939). Spontane fermantasyon mevcut olsa bile teknik uygulamalar büyük ölçüde ya bir önceki üretim partisinin geri kaydırılmasıyla ya da ticari liyofilize doğrudan tekne içi starterler kullanılarak starterlerin kullanılması yönünde gelişmiştir. Birçok süt ürünleri prosesinde starter olarak kullanılan ana bakteriler, yoğurt, fermente süt, krema, tereyağı ve peynir üretmek için gerekli olan LAB'dir. LAB'nin ana rolü laktozun laktik aside fermantasyonu yoluyla sütü asitlendirmektir. Bu durumu da bozulmayı ve/veya patojenik florayı engellemektedir. Ayrıca LAB, örneğin diasetil veya asetoin gibi arzu edilen aroma bileşiklerinin üretiminden de sorumludur (Illikoud ve ark., 2022). Süt ürünleri endüstrisinde farklı çeşitteki süt ürünlerinin gerekli tat, aroma, tekstür ve standart mikrobiyal içerik kazanmaları için starter kültürler büyük rol oynamaktadır.

### 5.1. Mikrobiyolojik Analizler

Tarım ve Orman Bakanlığı'nın Resmî Gazetede yayınladığı “Çiğ Sütün Arzına Dair Tebliğ (Tebliğ No: 2017/20)’e göre çiğ keçi ve koyun sütlerinde 30°C’de 1 mL’de toplam bakteri sayısı 1.500.000 adet/mL’yi ( $6.17 \log_{10}$  kob/mL) geçmemelidir. İnek sütü için bu sınır 100.000 kob/mL ( $5.0 \log_{10}$  kob/mL)’dir. Keçi, koyun ve manda sütleri bu tür hayvanların doğası gereği daha fazla mikrobiyal yüke sahiptir. Bu çalışmada, 68 adet çiğ keçi sütü örneğinden elde edilen TAMB değerlerinin ortalaması 5.01 kob/mL (min. değer 2.00, max. değer 8.32), *Lactobacillus* spp. değerlerinin ortalaması 1.38 kob/mL (min. değer <1, max. değer 3.60) ve *Lactococcus/Streptococcus* spp. değerlerinin ortalaması 2.74 kob/mL (min. değer <1, max. değer 6.34)’dir. Çalışmamızdaki süt örneklerinin TAMB değeri

ortalaması çiğ süt tebliğine uygun gibi görünse de tek tek baktığımızda 68 adet çiğ keçi sütü numunesinden 16 tanesinin tebliğdeki istenen değerin üzerinde olduğu görülmüştür. Sağım ekipmanları, hava, sağım yapan kişi, numunenin toplandığı numune kabı gibi etkenlerle kontaminasyon sonucunda bakteriler çiğ süte bulaşmış olabilir. Bu durumu iyileştirmek için sütün sağım esnasında hijyen ve sanitasyon kurallarına dikkat edilmesi gerekmektedir.

Bu çalışmadaki çiğ keçi sütü örneklerinin toplam bakteri sayısının ortalama değeri 5.01 log kob/mL'dir. Bulduğumuz bu değere yakın bir değer olarak Pereira ve ark. (2019) İspanya'nın kuzeybatısındaki keçilerden temin ettikleri çiğ keçi sütündeki toplam bakteri sayısını 5.66 log kob/mL bulmuşlardır. Bulduğumuz değerin aksine Zhu ve ark. (2019) Çin'in Yangling bölgesinde yaptıkları çalışmada çiğ keçi sütü örneklerindeki toplam bakteri sayısını ortalama 6.47 log kob/mL olacak şekilde bizim çalışmamızdan daha yüksek bir değer bulmuşlardır. Yine çalışmamızın aksine de Almeida Júnior ve ark. (2015) Brezilya'nın kuzeydoğusundaki San Francisco Vadisi'nin yarı kurak bölgesinden analiz ettikleri çiğ keçi sütündeki LAB'nin ortalamasını 3.93 log kob/mL olacak şekilde bizim çalışmamızdan daha düşük bir değer bulmuşlardır. Çalışmamızda çiğ keçi sütü örneklerinden izole ettiğimiz 87 adet izolata baktığımızda baskın tür olan %26.4 ile *Enterococcus* spp.'yi %21.8 ile *Lactococcus* spp. ve %12.6 ile *Lactobacillus* spp. takip etmektedir. Bulgularımızla benzer şekilde Cheriguene ve ark. (2006) Cezayir keçi sütünden benzer LAB cinslerinin varlığını bildirmişler ve baskın tür olan %42 ile *Enterococcus* spp.'yi %29 ile *Lactobacillus* spp. takip etmiştir. Bulgularımızın aksine bazı çalışmalarda keçi sütündeki baskın LAB olarak *Lactococcus* spp. bildirilmiştir (Perin ve ark., 2017; Tormo ve ark., 2015), bazı diğer çalışmalarda ise *Lactobacillus* spp. baskın tür olarak bildirilmiştir (Makete ve ark., 2017; Picon ve ark., 2016). Islam ve ark. (2021) fenotipik özelliklerin (Gram boyama ve hücre morfolojisi), katalaz testinin, gazın ve glikozdan laktik asit izomerlerinin üretiminin benzerliğine dayanarak çiğ keçi sütünde 6 cinsin varlığını belirlemişlerdir. *Lactobacillus* cinsinin en fazla suşa (%50) sahip olduğunu, bunu *Leuconostoc* (%22) ve *Lactococcus* (%8) suşlarının takip ettiği, buna karşın *Enterococcus* (%6) ve *Streptococcus* (%6)'lar en az suşa sahip cins olarak tespit edilmiştir. Süt içeriği ülkeden ülkeye, bölgeden bölgeye ve hayvan ırkları arasında değişiklik göstermektedir. Hatta aynı hayvandan farklı mevsimlerde veya günün farklı saatlerinde sağılan sütlerin bile toplam bakteri

içeriği ve doğal mikroflorasındaki baskın tür değişkenlik gösterebilmektedir. Bu çalışma ile diğer çalışmalar arasındaki farkın bundan kaynaklandığı söylenebilir.

Çalışmamızda 68 çiğ keçi sütü örneğinden 87 adet LAB olma potansiyeli olan izolat elde edilmiş ve bunlardan 19'u ayrıca teknolojik özelliklerini test etmek için seçilmiştir. Bu 19 LAB izolatının %52.6'sı *Lc. lactis*, %26.3'ü *L. reuteri*, %21.1'i *Lp. plantarum* olarak bulunmuştur. Premasiri ve ark. (2021) 20 adet keçi sütü örneğinden 100 adet LAB izolatı elde etmişler ve içlerinden 8 adet izolatı fenotipik özelliklerine göre seçmişlerdir. 8 izolatın hepsinin Gram-pozitif, katalaz negatif ve endospor oluşturmadığını bildirmişlerdir. Daha sonra bu 8 izolat tanımlanmış ve *Lc. lactis*, *Lp. plantarum*, *L. pentosus*, *Strep. bovis*, *Strep. thermophilus* (2 adet), *E. faecium* (2 adet) oldukları tespit edilmiştir. İkombayev ve arkadaşlarının (2025), Doğu Kazakistan bölgesindeki çiğ keçi sütü ve keçi süzme peynirinden izole ettikleri LAB ile ilgili çalışmalarında izole ettikleri türler arasında *Lp. plantarum* türünün baskın olduğu tespit etmişlerdir. Bu tür probiyotik özellikleriyle bilinmekte ve fermantasyon süreçlerinde kritik rol oynamaktadır (İkombayev ve ark., 2025). Moulay ve arkadaşlarının (2013) Batı Cezayir'de çiğ keçi sütünden izole ettikleri 13 LAB izolatının %15.4'ünü *Lc. lactis*, %7.7'sini *Lp. plantarum*, %7.7'sini *Lactobacillus* sp. şeklinde bulmuşlardır. Badis ve ark. (2004) Cezayir'de iki yerel ırktan (Makatia ve Makatia-Chamia) topladıkları çiğ keçi sütü numunelerini analiz ettiklerinde 345 adet LAB suşu elde etmişler ve izole edilen LAB'nin tür düzeyinde dağılımının %20.25'i *Lc. lactis* türleri olduğunu bildirmişlerdir. Keçi sütü bileşimindeki LAB hayvandan hayvana değişiklik göstermekle beraber hayvanın ırkı, yaşı, kalıtımı, laktasyonu, memenin anatomik yapısı, mastitis gibi pek çok hayvandan kaynaklı etki ile yetiştirilmesi, hareket alanı, mevsimler, sıcaklık, hava, nem, ışık, yem, sağım süresi ve sayısı gibi pek çok hayvandan kaynaklı olmayan etkiden kaynaklı farklılık gösterebilmektedir. Çalışmamız ile diğer çalışmalardaki sonuç farklılıkları yani süttten izole edilen LAB'ndeki ve sayısındaki bu çeşitlilik, saydığımız bu etkiler nedeniyle olabilir. Ayrıca süt sağımı esnasında mevcut hijyen ve sanitasyon durumu, numune kabının hijyeni ve kimyasal kalıntısı olup olmadığı gibi faktörler yapılan çalışmalarda birbirinden farklı sonuçlar çıkmasına neden olabilir.

## 5.2. Teknolojik Özellikler

Bu çalışmada 68 adet çiğ keçi sütü örneğinden identifiye edilen izolatlardan 19 LAB izolatı seçilmiştir. Bu izolatlar starter kültür özelliği gösterebilen ve gıda endüstrisinde en yaygın olarak kullanılan LAB suşlarından seçilmiştir. Seçilen izolatların bazı teknolojik özellikleri değerlendirilmiştir. LAB, laktozun laktik aside fermentasyonundan sorumludur. Bu işlem, sütün pH'ını düşürerek fermente süt ürünlerinin dokusuna ve lezzetine katkıda bulunmaktadır (Ikombayev ve ark., 2025). Bu çalışmada değerlendirilen 19 LAB izolatının UHT yağsız süt içerisinde *Lactobacillus* spp. için 37°C'de, *Lactococcus/Streptococcus* spp. için 30°C'de inkübasyonu süresince pH seviyesinin sürekli düştüğü tespit edilmiştir.

İlk ölçümle son ölçüm arasındaki farka bakıldığında en fazla pH düşüşünü *Lc. lactis* türleri, sonra *Lp. plantarum* türleri gösterirken en az pH düşüşünü *L. reuteri* türleri göstermiştir. *Lc. lactis* türleri için 24. saatte ölçülen pH değeri ortalama 4.8, *Lp. plantarum* için 4.9, *L. reuteri* içinse 5.7'dir. Peynir üretimi için optimum pH 5.0-5.2 aralığında olduğundan pH düşüşü ile gösterilen sütü fermente etme yeteneği, peynir üretimi için starter kültür performansında önemlidir. İyi kalitede kültürlenmiş ayran 4.5 ila 5'e yakın nihai pH'dan elde edilir (Wilkowske, 1954). Bu nedenle bu çalışmada seçilen LAB izolatları peynir veya kültürlenmiş ayran yapımı için uygundur.

Premasiri ve ark. (2021) keçi sütünden analiz ettikleri 8 LAB izolatının sütü pıhtılaştırma yeteneklerine baktıklarında bütün LAB izolatlarının pH'ı düşürdüklerini, tüm izolatların iyi laktik asit üretme yeteneğine sahip olduklarını ve bu nedenle fermente ürünlerde starter kültür olarak kullanılmaya uygun aday olduklarını tespit etmişlerdir. Moulay ve ark. (2013) çiğ keçi sütünden izole ettikleri LAB'nin tamamının yağsız sütün pH'nı düşürdüklerini (laktik asit üretimi) gözlemlemişlerdir. Ikombayev ve ark. (2025), keçi sütü (*Lb. acidophilus* ve *Lb. ultunensis*) ve keçi sütünden yapılan süzme peynirden (*Lc. lactis*) izole ettikleri LAB'ni yağsız UHT sütte inkübe ettikten sonra pH seviyelerini kontrol ettiklerinde 0. ve 6. saatteki pH seviyelerine göre 24. saatteki pH seviyesinin önemli ölçüde düştüğünü gözlemlemişlerdir (pıhtılaşma görülmüştür). Bu durum test edilen suşların

sütte gelişebildiğini ve 24 saat sonra yoğurda benzeyen pürüzsüz, kalın bir doku ürettiklerini ve fermente süt ürünlerine özgü hoş bir aromaya sahip olduklarını göstermektedir. Bu çalışmada seçilen izolatların asidifikasyon özellikleri sebebiyle fermente gıdaların endüstrisinde potansiyel starter suş olarak kullanılabileceğini ifade etmek mümkündür.

Proteoliz, LAB'yle ilgili ayrıntılı bilgi edinilebilen özel fizyolojik özelliklerinden biridir (Leroy ve de Vuyst, 2004). Bu çalışmada değerlendirmeye alınan 19 LAB izolatının hepsinin (%100) proteolitik aktivite gösterdiği görülmüştür. Bu izolatların hiçbiri zayıf proteolitik aktivite göstermezken %21.1'i orta (*Lc. lactis*), %78.9'u ise yüksek (*Lp. plantarum*, *L. reuteri* ve bazı *Lc. lactis* türleri) proteolitik aktivite göstermiştir. Moulay ve ark. (2013) seçtikleri tüm izolatların skim milk PCA besiyerinde gelişme durumuna baktıklarında tamamının proteolitik olduğunu tespit etmişlerdir. Islam ve ark. (2021) çığ keçi sütünden analiz ettikleri LAB izolatlarından *Lactobacillus* ve *Lactococcus* cinslerine baktıklarında proteolitik aktivite gösterdiğini görmüşlerdir (tüm izolatların %80'i aktivite göstermiştir). de Almeida Júnior ve arkadaşlarının (2015) seçtikleri 50 LAB izolatından 19'u (%38) proteolitik aktivite testlerinde pozitif olarak değerlendirilmiştir. Badis ve ark., (2004) keçi sütünden izole ettikleri LAB izolatlarının çoğunluğunun (%65.2) düşük proteolitik aktivite göstermesine rağmen maksimum aktiviteye 72. saatte ulaştıklarını gözlemlemişlerdir. Bu durumun aksine da Silva ve arkadaşlarının (2019) yaptıkları çalışmada, keçi sütünden elde ettikleri izolatlardan hiçbirinin proteolitik aktivite göstermediği görülmüştür (*Lc. lactis* ve *Lp. plantarum* türleri). Frey ve ark. (1986) ile López ve Mayo (1994) elde ettikleri sonuçlar ışığında sütteki serbest amino asit eksikliğinin *Lactobacillus* türleri tarafından proteaz ve ekzopeptidaz üretimini uyardığını bildirmişlerdir. Proteolizdeki tür içi ve türler arası değişkenlik, doğal kaynaklardan elde edilen suşlar için yaygın olarak rapor edilmektedir (Franciosi ve ark., 2009). LAB güçlü proteolitik bakteriler olarak görülmesi de proteolitik sistemleri sütte optimum büyüme için gereklidir ve fermente süt ürünlerinde lezzet gelişimine önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır (Lopez-Kleine ve Monnet, 2011). Bu çalışmada LAB'nin büyük çoğunluğu (%78.9) yüksek aktivite göstermekle beraber tamamı proteolitik aktivite göstermiştir. Dolayısıyla seçilen izolatların tamamının fermente süt ürünlerinde aroma ve tat gelişiminde rol oynayabileceğini belirtmek mümkündür.

LAB tarafından üretilen EPS miktarı pH, sıcaklık ve ortam bileşimi gibi kültür ve fermentasyon koşullarından büyük ölçüde etkilenmektedir (Dueñas-Chasco ve ark., 1997). Bu çalışmada değerlendirmeye alınan 19 LAB izolatının %21.1'i EPS üretimi göstermezken %78.9'u zayıf EPS üretimi göstermiştir. *Lp. plantarum* ve *L. reuteri* türlerinin tamamı zayıf da olsa EPS üretimi gösterirken *Lc. lactis* türlerinin %60'ı EPS üretimi göstermiş, %40'ı EPS üretimi göstermemiştir. Islam ve ark. (2021) çiğ keçi sütünden analiz ettikleri 11 LAB izolatının tamamının (%100) EPS ürettiğini gözlemlemişlerdir. En yüksek EPS üretimi miktarı, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'ta (93 mg/L) gözlemlenmiş olup bunu *Streptococcus thermophilus* (90,7 mg/L) ve *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* (88 mg/L) takip etmiştir. da Silva ve ark. (2019) keçi sütünden elde ettikleri izolatlardan *Lc. lactis* suşlarında (3 adet) EPS üretimi olmadığını, *Lp. plantarum* suşunda ise olduğunu bildirmişlerdir. de Almeida Júnior ve arkadaşlarının (2015) seçtikleri 50 adet LAB izolatları tarafından EPS üretiminin 10 mg/L ile 100 mg/L arasında değiştiği görülmüş ve ortalama üretimin 27.6 mg/L olduğu bildirilmiştir. Yirmi bir izolatın ortalamasının üzerinde EPS ürettiği görülmüştür. Patel ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada 17 adet probiyotik adaylarının tamamının (%100) EPS üreticisi olduğunu ve Gram-pozitif mikroorganizmalara ve Gram-negatif patojenlere karşı antagonistik aktiviteye sahip olduklarını bildirmişlerdir.

EPS'ler endüstriyel açıdan yararlı fiziko-kimyasal özellikleri nedeniyle muazzam ticari değere sahiptirler. LAB'nin değişken bileşim ve işlevselliğe sahip geniş bir EPS yelpazesi üretme kapasitesi, endüstriyel uygulamalarını genişletmektedir. LAB'nin fonksiyonel EPS üretimi için uygun adaylar oldukları keşfedilmiştir (Laws ve ark., 2001). Bu EPS üreten LAB suşları yoğurt, peynir, asidofilus sütü ve süt bazlı tatlıların üretiminde kullanılmaktadır (Duboc ve Mollet, 2001). LAB'den elde edilen EPS, fermente gıda formülasyonlarının reolojisini, dokusunu, ağız hissini iyileştirmede ve antitümör aktivite, immünmodülatör biyoaktivite ve antikanserojenite gibi insan sağlığı üzerinde faydalı fizyolojik etkiler sağlamada önemli rol oynamaktadır (Doleyres ve ark., 2005). EPS'nin bağırsak epitel hücreleri üzerinde immünomodülatör etkisi olduğu (Patten ve ark., 2014) ve fermente gıda ürünlerinde doğal olarak sentezlenen tekstür ajanları olarak işlev gördüğü bildirilmiştir (Badel ve ark., 2011). Bu çalışmada LAB'nin büyük çoğunluğu (%78.9) zayıf da olsa EPS üretimi göstermiştir. *Lp. plantarum* ve *L.*

*reuteri* türlerinin tamamı EPS üretimi göstermiştir. Seçilen bu suşların fermente gıdaların üretimi esnasında tekstür ajanları olarak ve bu gıdaların reolojik ile dokusal özelliklerini sağlamada önemli rol oynayabileceği sonucuna varıldı.

LAB'nin optimum gelişme sıcaklıkları türe özgü farklılık göstermektedir. Genel olarak laktik asit bakterileri, 10°C ile 45°C arasındaki sıcaklıklarda gelişim gösterebilen mezofilik mikroorganizmalar olarak tanımlanır. Ancak bu bakterilerin optimum büyüme sıcaklıklarının genellikle 30°C ile 45°C arasında olduğu bilinmektedir. Bu çalışmadaki izolatların tamamı (%100'ü) 45°C sıcaklıkta gelişme göstermiştir. 10°C sıcaklıktaki üreme durumlarına bakıldığında 19 izolatin %68.4'ü gelişme gösteremezken %6'sının zayıf gelişme gösterdiği tespit edilmiştir. Zayıf gelişme gösteren türler *Lp. plantarum* türlerinin tamamı ile *L. reuteri* türlerinin %40'ıdır. Premasiri ve ark. (2021) keçi sütünden analiz ettikleri izolatlardan *Lc. lactis* ve *Lp. plantarum* izolatları 15 ve 45°C sıcaklıklarda gelişme göstermişlerdir. Moulay ve ark. (2013) çiğ keçi sütünden izole ettikleri LAB'nin farklı sıcaklıklarda gelişme durumlarına baktığında *Lactococcus*'ların %50'si (*Lc. lactis* ve diğerleri) 45°C sıcaklıkta gelişme gösterirken %50'sinin (*Lp. plantarum* ve diğerleri) gösteremediğini bildirmişlerdir. 30°C sıcaklıkta bütün *Lactococcus* türlerinin gelişme gösterdiğini bildirmişlerdir. 15°C sıcaklıkta LAB'nin %66.7'si gelişme gösterirken (*Lp. plantarum* ve diğerleri) %33.3'ünün (*Lc. lactis* ve diğerleri) gösteremediğini bildirmişlerdir. Badis ve ark. (2004) keçi sütünden izole edip seçtikleri 18 LAB izolatının farklı sıcaklıklara göre gelişim göstermesine baktıklarında 10°C'de izolatların %66.7'si ve 45°C'de %27.8'inin gelişme gösterdiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmadaki izolatların tamamı (%100'ü) pH 9.6 seviyesinde gelişme göstermiştir. pH 3.9 seviyesine bakıldığında sadece *Lp. plantarum* ve *L. reuteri* türlerinde gelişme tespit edilmiştir, *Lc. lactis* türlerinin %10'u zayıf üreme gösterirken %90'ında gelişme gözlenmemiştir. Saliba ve ark. (2021) Lübnan Baladi keçi sütlerinden elde ettikleri 28 *Lactobacillus* izolatının tamamının pH 3'te direnç gösterebildiklerini ve herhangi bir canlılık kaybı tespit etmediklerini bildirmişlerdir. Ancak, bu durumun pH 2.5'te geçerli olmadığı görülmüştür. Premasiri ve ark. (2021) keçi sütünden analiz ettikleri izolatlardan *Lc. lactis* izolatı pH 4'te gelişme gösterememiştir, *Lp. plantarum* izolatı ise pH 4'te gelişme gösterebilmiştir. Moulay ve ark. (2013) çiğ keçi sütünden izole ettikleri LAB'nin pH 9.6'da gelişme

durumlarına baktıklarında izole ettikleri hiçbir LAB türünün bu pH değerinde gelişmediği gözlemlenmiştir. LAB'nin düşük pH'da hayatta kalması insan vücudundaki ilk stres olan mide asidini tolere etmek için önemlidir (Ji, Jang ve Kim, 2015). İnsan midesindeki pH, açlık sırasında 1.5 ila yemekten sonra pH 4.5 arasında değişmekte (Papadimitriou ve ark., 2015) ve gıda alımı 3 saate kadar sürebilmektedir (Saliba ve ark., 2021). Midenin alkalinitesi de gıda alımından sonra pH 6 veya daha fazlasına kadar yükselebilmektedir (Huang ve Adams, 2004). Bu nedenle probiyotik mikroorganizmalar sindirim sisteminin farklı kısımlarında hayatta kalabilmek için farklı pH seviyelerinde hayatta kalma yeteneğine sahip olmalıdırlar (Premasiri ve ark., 2021). Bu bilgiler doğrultusunda yüksek ve düşük pH seviyelerini tolere edebilen LAB'nin seçilmesinin daha doğru olacağı görülmektedir. Bu çalışmada LAB izolatlarından *Lp. plantarum* ve *L. reuteri* türlerinin bu koşulları tolere edebildiği tespit edilmiştir.

Bu çalışmadaki izolatların tamamı (%100'ü) %2 NaCl çözeltisinde gelişme göstermiştir. %6.5 NaCl çözeltisine bakıldığında *Lp. plantarum* türlerinin tamamı gelişme gösterirken *L. reuteri* türlerinin tamamı gelişme göstermemiştir. *Lc. lactis* türlerinin ise %40'ı gelişme göstermiş (%10'u zayıf üreme), %60'ı gelişme göstermemiştir. Premasiri ve ark. (2021) keçi sütünden analiz ettikleri 8 LAB izolatının farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişebilme durumlarına baktıklarında %2'lik çözeltide izolatların %75'inin gelişebildiğini, %4'lük ve %6.5'lik çözeltilerde izolatların %62.5'inin gelişebildiğini gözlemlenmiştir. de Almeida Júnior ve ark. (2015) seçtikleri LAB izolatlarını %4-6.5 NaCl konsantrasyon aralığında test etmişlerdir ve izolatların tamamının bu NaCl konsantrasyon aralığını tolere edebildiğini görmüşlerdir. Badis ve ark., (2004) keçi sütünden izole edip seçtikleri 18 LAB suşunun farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim göstermesine baktıklarında %2 NaCl çözeltisinde %83.3, %6.5 NaCl çözeltisinde %5.6'sı gelişme göstermiştir. Moulay ve ark. (2013) çiğ keçi sütünden izole ettikleri LAB'nin %6.5'lik NaCl çözeltisinde gelişme durumlarına baktıklarında izole ettikleri hiçbir LAB türünün bu tuz konsantrasyonunda gelişmediği görülmüştür. LAB'nin peynirde starter kültür olarak endüstriyel uygulaması için bu mikroorganizmaların asitlik, sıcaklık, tuz stresi ve dondurarak kurutma gibi stresli koşulları tolere edebilmesi gerekmektedir. Bu çalışmada seçilen LAB'nin tamamı düşük tuz çözeltisini (%2) tolere edebilirken sadece *Lp. plantarum* suşları yüksek tuz çözeltisini (%6.5) tolere edebilmiştir. Bunun

sonucunda mevcut çalışmada tespit edilen *Lp. plantarum* suşlarının peynir endüstrisinde kullanımında uygun starter kültür olabileceğini belirtmek mümkündür.

LAB suşları için antibiyotik duyarlılığı çok önemlidir. Çünkü bu mikroorganizmalar genellikle sağlık yararlarının ve işlevsel özelliklerinin korunması gereken gıda üretimi ve fermantasyonunda kullanılmaktadırlar. Ayrıca, antibiyotik duyarlılıklarının anlaşılması, LAB'nin insan sağlığı ve gıda güvenliği için risk oluşturabilecek direnç geliştirmemesini sağlar. LAB suşları, genetik varyasyonlar ve direnç genlerinin yatay gen transferi yoluyla edinilmesi nedeniyle farklı antibiyotiklere karşı farklı direnç gösterebilir (Li ve ark., 2020).

Bu çalışmada izolatların antibiyotik dirençlilikleri test edildiğinde 19 LAB izolatının %89.5'inin streptomisin, %68.4'ünün vankomisin, %63.2'sinin siprofloksasin ve %36.8'inin gentamisin antibiyotiğine karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir (bir izolat birden fazla antibiyotiğe karşı direnç göstermiştir). İzolat olarak tek tek bakıldığında *Lp. plantarum* türlerinin tamamının (%100'ü) streptomisin, siprofloksasin, vankomisin ve gentamisin antibiyotiklerine dirençli olduğu tespit edilmiştir. *L. reuteri* türlerinin tamamının (%100'ü) streptomisin, siprofloksasin ve vankomisin antibiyotiklerine dirençli olduğu tespit edilmiştir. *Lc. lactis* türlerinin %80'inin streptomisin, %50'sinin eritromisin, %40'ının vankomisin antibiyotiklerine karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. İkombayev ve ark. (2025) keçi süzme peynirinden elde ettikleri *Lp. plantarum* suşunun vankomisin, gentamisin, kanamisin, streptomisin, siprofloksasin ve trimetofan antibiyotiklerine dirençli olduğunu bulmuşlardır. İslam ve ark. (2021) çiğ keçi sütünden analiz ettikleri LAB izolatlarının antibiyotik dirençliliklerini test ettiklerinde tamamının (%100) vankomisine, %27.3'ünün gentamisine ve %27.3'ünün streptomisine karşı dirençli olduğunu bildirmiştir (izolatlar birden fazla antibiyotik üzerinde inhibisyon göstermiştir). Saliba ve ark. (2021) Lübnan Baladi keçi sütlerinden elde ettikleri *Lactobacillus* türlerinin antibiyotik dirençliliklerini incelediklerinde tüm suşların kanamisin, vankomisin ve spektinomisine karşı tam (%100) direnç gösterirken gentamisine karşı %97 direnç gösterdiğini gözlemlemişlerdir. de Almeida Júnior ve ark. (2015) 50 adet LAB izolatına test ettirdikleri 6 antibiyotik (Kloramfenikol, Oksasilin, Vankomisin, Tetrasiklin, Siprofloksasin, Penisilin G) için izolatların %46'sının dirençli olduğunu bulmuşlardır. Bu sonuçlar mevcut çalışmayla benzer yönler göstermektedir. Genel

olarak, çoğu *Lactobacillus* türü eritromisin, tetrasiklin, klindamisin ve kloramfenikol gibi protein sentezini engelleyen antibiyotiklere duyarlıdır. Ancak çeşitli fermente gıdalardan izole edilen *Lactobacillus*'larda bu ajanlara dirençli suşlar tespit edilmiştir ve direnç hem plazmidlerde (edinilmiş direnç) hem de kromozomda bulunan genlere atfedilmiştir (Abriouel ve ark., 2015). Laktobasillerin klinik olarak önemli bir dizi antibiyotiğe karşı içsel direnci, bakteriyel enfeksiyonlara karşı antibiyotiklerle kombinasyon tedavisinde güvenli probiyotikler olarak kullanılmasına izin vermektedir (Ji ve Yang, 2020). Diğer yandan bakterilerde gelişen antibiyotik dirençliliği hem halk sağlığı hem de gıda güvenliği bakımından küresel bir sorun olarak değerlendirilmektedir. Gıda zinciri, antibiyotiğe dirençli bakterilerin hayvanlardan insanlara taşınmasında başlıca kaynaklardan biri olarak öne çıkmaktadır. LAB antibiyotik direnç geni taşıdıkları takdirde, bu genleri gıdadaki diğer bakterilere aktarma potansiyelleri vardır (Sirichoat ve ark., 2020). LAB'nin antibiyotik dirençlilik özellikleri insan sağlığı açısından ele alındığında antibiyotik tedavisi esnasında bu suşları içeren probiyotik ürünler tüketildiğinde bu suşlar hayatta kalarak sağlığa faydalı özelliklerini gösterebilmektedir. Böylece hastalık sonrası bağırsak florasının yeniden dengelenmesi desteklenebilmektedir. Bu yönüyle ele alındığında “Gıda endüstrisinde kullanılacak LAB'nin antibiyotik dirençliliğine sahip suşlardan seçilmeleri önemli faydalar sağlayacaktır.” denilebilir. Başka bir açıdan bakıldığında bu suşların antibiyotik direnç genlerini gıda içerisindeki diğer bakterilere ve bağırsaklardaki zararlı bakterilere aktarabilme özellikleri mevcuttur. Bu da potansiyel olarak çoklu antibiyotik dirençli patojenlerin ortaya çıkmasına neden olmakta ki bu durum küresel bir halk sağlığı tehdididir. Bu yönüyle ele alındığında ise “Gıda endüstrisinde kullanılacak LAB'nin antibiyotik dirençliliğine sahip olmayan suşlardan seçilmeleri önem arz etmektedir.” denilebilir. Bu iki karşıt görüş kıyaslandığında kar-zarar dengesine bakılması gerekmektedir. Sonuç olarak gıda endüstrisinde kullanılacak LAB suşlarının antibiyotik direnç geni taşımayan, doğal olarak antibiyotiklere karşı duyarlı olanları seçilmelidir. Çünkü kısa vadede insan sağlığı için probiyotiklerin bağırsak mikroflorasına yararlı etkilerinden ödün verilebilir. Ancak uzun vadede antibiyotik direnç genlerinin yayılmasını önlemek toplum sağlığı açısından çok daha büyük bir kazanımdır. Bu nedenle antibiyotik direnç genleri taşımayan LAB suşlarının tercih edilmesi gerektiğini vurgulamak mümkündür.

Artan antibiyotik direnci seviyesi 21. yüzyılın en önemli özelliğidir ve LAB tarafından patojenik bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite ile üretilen metabolitler antibiyotik kullanımına en iyi alternatif olabilmektedir (Zahid ve ark., 2015). LAB antimikrobiyal aktiviteleri, bozulma ve patojenik mikroorganizmalara karşı organik asitler ve bakteriyosinler gibi inhibitör aktiviteye sahip metabolitlerin üretimi nedeniyle gıda fermantasyonunda ve biyokoruyucu olarak kullanılmaktadır. Antimikrobiyal aktivite de potansiyel probiyotik suşlar için önemli bir kriter olarak kabul edilmektedir (Shewale ve ark., 2014). LAB suşlarının patojenik suşlara karşı antagonistik aktivitesinin anlaşılması, doğal biyokoruyucuların geliştirilmesi ve gıda güvenliğinin iyileştirilmesi açısından hayati önem taşımaktadır (Goa ve ark., 2022). Bu çalışmada değerlendirmeye alınan 19 LAB izolatının oluşturduğu zon çaplarına bakıldığında *Lc. lactis* türlerinin hiçbiri patojenlere karşı antimikrobiyal aktivite göstermezken *Lp. plantarum* türlerinin bütün patojenlere karşı güçlü inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir. *L. reuteri* türlerine bakıldığında %20'si (1 tanesi) *S. aureus*'a, %20'si (1 tanesi) *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal aktivite göstermezken diğer patojen suşlara (*S. enteritidis*, *L. monocytogenes*) karşı güçlü inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir. Islam ve ark. (2021) çiğ keçi sütünden analiz ettikleri LAB izolatların antimikrobiyal aktivitelerine baktıklarında 11 izolatın %27.3'ü *Bacillus cereus*'a, %81.8'i *E. aerogenes*'e, %90.9'u *L. monocytogenes*, *S. aureus* ve *E. coli* patojen suşlarına karşı antimikrobiyal özellik göstermişlerdir (izolatların çoğu birden fazla patojene karşı inhibisyon göstermiştir). Ikombayev ve ark. (2025) izole ettikleri LAB'nin antimikrobiyal aktivitelerini incelediklerinde bazı patojenik ve koşullu patojenik suşlara (*B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli*,) karşı antagonistik aktiviteye sahip olduğunu ve en yüksek aktiviteyi *Lp. plantarum* türünde tespit etmişlerdir. Farklı patojenik suşlar kullanılsa da *Lp. plantarum* türleri için benzer sonuçlar bulmuşlardır. Ancak inceledikleri her iki LAB izolatı da *Pseudomonas aeruginosa* patojenine karşı antimikrobiyal etki gösterememiştir. Bunun nedeni bazı LAB suşlarının genetik çeşitlilikleri nedeniyle bazı patojen suşları etkili bir şekilde engellemek veya yenmek için gereken spesifik antimikrobiyal bileşiklere veya mekanizmalara sahip olmayabileceği gerçeğidir (Ikombayev ve ark., 2025). de Almeida Júnior ve ark., (2015) çiğ keçi sütünden elde ettikleri 50 LAB izolatının 8 farklı patojene (*E. coli*, *S. Typhi*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Shigella flexineri*, *E. faecalis*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumonia*) karşı antibakteriyel aktivitelerini incelemişler ve test edilen izolatların patojenlere karşı farklı düzeylerde inhibitör etki

gösterdiğini ve izolata özgü olduklarını ortaya koymuşlardır. Bu çalışmaya bakıldığında seçilen izolatlardan *Lp. plantarum* suşlarının test edildiği bütün patojenlere karşı antimikrobiyal özellik gösterdiği görülmüştür. Bu türlerin antibiyotik kullanımına alternatif olabilecek suşlar olduğunu, ayrıca bu suşların doğal biyokoruyucu olarak gıda güvenliğini sağlamak amacıyla da kullanılabileceği söylenebilir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Nihai ürünün fiziksel, kimyasal ve duyuşal özellikleri açısından standardizasyonu ile alakalı belirgin bir LAB florasına sahip olabilmesi için yani üründe arzu edilen tüm özelliklerin bütün ürünlerde görülebilmesi için standart otokton starter kültüre sahip olunması gerekmektedir.

Bu çalışma sonucunda çiğ keçi sütünden izole edilen ve seçilen izolatların MALDI-TOF MS analizleri sonucunda yüksek ihtimalle *Lc.lactis*, *Lp. plantarum* ve *L. reuteri* türlerine ait oldukları doğrulanmıştır. Seçilen LAB'nin asit üretmeleri, proteolitik aktivite göstermeleri, yüksek EPS üretmeleri ve bazı patojenlere karşı inhibisyonlarının doğrulanması; düşük pH'da, yüksek tuzda, farklı sıcaklıklarda hayatta kalabilmeleri bu türlerin genel olarak süt endüstrisinde umut verici biyokoruyucu özelliklere sahip olan, potansiyel starter ve/veya probiyotik kültürler olarak kullanılacakları ortaya çıkmıştır. Ayrıca bu çalışma çiğ keçi sütünün mikrobiyal biyoçeşitlilik açısından zengin olduğunu gösterirken bu mikrobiyal çeşitlilik ile süt endüstrisinde kullanılan teknoloji, olgunlaşma koşulları, depolama süresince ürün güvenliği, nihai ürünün organoleptik özelliklerinin gelişimini etkileyen çeşitli faktörlere karşı faydalı olabilecek otokton starter kültürler oluşturulabileceğini ortaya koymuştur. Ancak seçilen LAB'nin bazı antibiyotiklere karşı göstermiş oldukları dirençlilik özelliği tüketici sağlığı açısından kısa vadede olumlu etkiler gösteriyor gibi dursa da uzun vadede ele alındığında büyük bir toplum sağlığı sorunu olan antibiyotik dirençliliğine neden olabilmektedir. Antibiyotik tedavisi esnasında tüketiciye antibiyotik direnç geni mevcut probiyotik suş verildiğinde bağırsak mikroflorasının yeniden dengelenmesi sağlanabilir. Fakat bağırsaktaki patojen mikroorganizmaların antibiyotik direnci kazanması tüketicide uzun vadede daha büyük sorunlara yol açmaktadır. Antimikrobiyal etkisi olan suşlar

kimyasal koruyuculara ve antibiyotiklere alternatif olarak doğal koruyucu görevini üstlenebilir.

Sonuç olarak otokton starter kültür veya probiyotik kültür için LAB seçiminde asit ve EPS üretebilen, proteolitik aktivite ve antimikrobiyal özellik gösteren, farklı pH, sıcaklık ve tuz değerlerinde gelişme gösterebilen, antibiyotik duyarlılığı olan suşlar tercih edilmelidir.

Keçi sütünden elde edilebilecek diğer LAB'nin potansiyel starter kültürler olup olmadıkları ve sağlık üzerindeki yararlı etkilerini değerlendirmek için daha ileri çalışmalar yapılmalıdır. Yerel LAB, starter kültür olarak önemli bir potansiyele sahiptir. Bunlardan en iyi şekilde faydalanmak için özel kullanım koşulları ve teknolojik özelliklerine ilişkin daha detaylı çalışmalar gerekmektedir. Gelecekte buna benzer çalışmalarla birlikte starter kültür ve probiyotik özelliği daha ön planda olan suşlar elde edilebilir.

## KAYNAKLAR

- Abdel-Rahman, M. A., Tashiro, Y., & Sonomoto, K. (2013). Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes. *Biotechnology advances*, 31(6), 877–902. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.04.002>
- Abriouel, H., Casado Muñoz, M. D. C., Lavilla Lerma, L., Pérez Montoro, B., Bockelmann, W., Pichner, R., Kabisch, J., Cho, G. S., Franz, C. M. A. P., Gálvez, A., & Benomar, N. (2015). New insights in antibiotic resistance of *Lactobacillus* species from fermented foods. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, 78, 465–481. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.09.016>
- Akabanda, F., Owusu-Kwarteng, J., Tano-Debrah, K., Parkouda, C., & Jespersen, L. (2014). The Use of Lactic Acid Bacteria Starter Culture in the Production of Nunu, a Spontaneously Fermented Milk Product in Ghana. *International journal of food science*, 2014, 721067. <https://doi.org/10.1155/2014/721067>
- Badel, S., Bernardi, T., & Michaud, P. (2011). New perspectives for *Lactobacilli* exopolysaccharides. *Biotechnology advances*, 29(1), 54–66. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.08.011>
- Badis, A., Guetarni, D., Moussa-Boudjemâa, B., Henni, D. E., Tornadijo, M. E., Kihal, M. (2004). Identification of cultivable lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties. *Food Microbiology*, 21(3):343-349. [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(03\)00072-8](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(03)00072-8)
- Bae, W., Xia, B., Inouye, M., & Severinov, K. (2000). *Escherichia coli* CspA-family RNA chaperones are transcription antiterminators. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(14), 7784–7789.
- Barinov, A., Bolotin, A., Langella, P., Maguin, E., Van De Guchte, M. (2011). Genomics Of The Genus *Lactobacillus*. In: Sonomoto, K., Yokota, A., editors. *Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria: Current Progress in Advanced Research*. Caister Academic Press, Portland, USA.
- Bartholomew, J. W. and Mittwer, T. (1952). The gram stain. *Bacteriological Reviews*, 16(1), 1-29.
- Batt, C. A. (2000). *Lactococcus* introduction. In: Robinson R. K., Batt C. A., Patel P. D., (ed.) *Encyclopedia of food microbiology*. San Diego: Academic Press Yayınları, p. 1164–1166.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45(4), 493–496.
- Boylston, T. D., Vinderola, C. G., Ghoddusi, H. B., Reinheimer, J. A. (2004). Incorporation of bifidobacteria into cheeses: Challenges and rewards. *International Dairy Journal*. 14,375-387. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.08.008>

- Brooijmans, R. J., de Vos, W. M., & Hugenholtz, J. (2009). Lactobacillus plantarum WCFS1 electron transport chains. *Applied and environmental microbiology*, 75(11), 3580–3585. <https://doi.org/10.1128/AEM.00147-09>
- Broome, M. C., Powell, I. B. and Limsowtin, G. K. Y. (2011). Cheese | Starter cultures: Specific properties. J.W. Fuquay, P. F. Fox and P. L. H. McSweeney (Der.) *Encyclopedia of Dairy Sciences* içinde (ss. 559-566). London: Academic Press.
- Bucka-Kolendo, J., & Sokołowska, B. (2017). Lactic acid bacteria stress response to preservation processes in the beverage and juice industry. *Acta biochimica Polonica*, 64(3), 459–464. [https://doi.org/10.18388/abp.2017\\_1496](https://doi.org/10.18388/abp.2017_1496)
- Bukhari, S. A., Salman, M., Numan, M., Javed, M. R., Zubair, M., & Mustafa, G. (2020). Characterization of antifungal metabolites produced by Lactobacillus plantarum and Lactobacillus coryniformis isolated from rice rinsed water. *Molecular biology reports*, 47(3), 1871–1881. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05281-1>
- Cao, M., Kobel, P. A., Morshedi, M. M., Wu, M. F. W., Paddon, C., & Helmann, J. D. (2002). Defining the Bacillus subtilis  $\sigma^W$  Regulon: A Comparative Analysis of Promoter Consensus Search, Run-off Transcription/Macroarray Analysis (ROMA), and Transcriptional Profiling Approaches. *Journal of Molecular Biology*, 316(3), 443–457.
- Caplice, E., Fitzgerald, G. F. (1999). Food Fermentations: Role Of Microorganisms In Food Production And Preservation. *Int.j food microbiol.* 50: 131–149.
- Cavigelli, Michel & Robertson, G Philip & Klug, Michael. (1995). Fatty acid methyl ester (FAME) profiles as measures of soil microbial community structure. *Plant and Soil*. 170. 99-113. 10.1007/BF02183058.
- Chamba, J. F., Bonnaz, G., Bourg, P. (1981). Comparaison de diverses méthodes de dénombrement de la flore acidifiante du lait cru. *Lait* 61, 555–567. <https://doi.org/10.1051/lait:1981609-61035>
- Cheriguene, A., Chougrani, F., & Bensoltane., A. (2006). Identification and Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Algeris Goat's Milk. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9(7).1242-1249. DOI:[10.3923/pjbs.2006.1242.1249](https://doi.org/10.3923/pjbs.2006.1242.1249)
- Christ, A. P. G., Ramos, S. R., Cayô, R., Gales, A. C., Hachich, E. M., & Sato, M. I. Z. (2017). Characterization of Enterococcus species isolated from marine recreational waters by MALDI-TOF MS and Rapid ID API® 20 Strep system. *Marine pollution bulletin*, 118(1-2), 376–381. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.03.025>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2021). \*Performance standards for antimicrobial susceptibility testing\* (31st ed.). CLSI. CLSI supplement M100.
- Collins, Y.F., McSweeney, P.L.H., Wilkinson, M.G. (2003). Lipolysis and freefatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *IntDairy J.*, 13, 841–866.
- da Silva, L. A., Lopes Neto, J. H. P. & Cardarelli, H. R. (2019). Safety and probiotic functionality of isolated goat milk lactic acid bacteria. *Ann Microbiol*, 69, 1497-1505. <https://doi.org/10.1007/s13213-019-01533-z>
- de Almeida Júnior, W. L. G., da Silva Ferrari, I., de Souza, J. V., da Silva, C. D. A., da Costa, M. M., Dias, F. S. (2015). Characterization and evaluation of lactic acid bacteria isolated from goat milk. *Food Control*, 53, 96-103. DOI:[10.1016/j.foodcont.2015.01.013](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.01.013)

de Vos, W. M. (2011). Systems solutions by lactic acid bacteria: from paradigms to practice. *Microbial cell factories*, 10 Suppl 1(Suppl 1), S2. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-10-S1-S2>

de Vuyst, Luc., Bart, Degeest. (1999). Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 23(2), 153-177. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1999.tb00395.x>

Djadouni, F. ve Kihal, M. (2013). Characterization and determination of the factors affecting anti-listerial bacteriocins from *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus* isolated from dairy milk products. *Afr. J. Food Sci.*, 7(2): 35-44. DOI:[10.5897/AJFS12.037](https://doi.org/10.5897/AJFS12.037)

Doleyres, Y., Schaub, L., & Lacroix, C. (2005). Comparison of the functionality of exopolysaccharides produced in situ or added as bioingredients on yogurt properties. *Journal of dairy science*, 88(12), 4146–4156. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)73100-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)73100-3)

Duboc, P., & Mollet, B. (2001). Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *International dairy journal*, 11(9), 759-768.

Dueñas-Chasco, M. T., Rodríguez-Carvajal, M. A., Tejero Mateo, P., Franco-Rodríguez, G., Espartero, J. L., Irastorza-Iribas, A., & Gil-Serrano, A. M. (1997). Structural analysis of the exopolysaccharide produced by *Pediococcus damnosus* 2.6. *Carbohydrate research*, 303(4), 453–458. [https://doi.org/10.1016/s0008-6215\(97\)00192-4](https://doi.org/10.1016/s0008-6215(97)00192-4)

Edwards, U., Rogall, T., Blöcker, H., Emde, M., & Böttger, E. C. (1989). Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA. *Nucleic acids research*, 17(19), 7843–7853. <https://doi.org/10.1093/nar/17.19.7843>

El-Gendy, S. M., Abdel-Galil, H., Shahin, Y., & Hegazi, F. Z. (1983). Characteristics of Salt-Tolerant Lactic Acid Bacteria, in Particular *Lactobacilli*, *Leuconostocs* and *Pediococci*, Isolated from Salted Raw Milk. *Journal of food protection*, 46(5), 429–433. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-46.5.429>

Esteban-Torres, M., Mancheño, J.M., de Las Rivas, B., Muñoz, R. (2014). Production and characterization of a tributyrin esterase from *Lactobacillus plantarum* suitable for cheese lipolysis. *J Dairy Sci*, 97(11), 6737–6744.

FAO/WHO. (2006). Probiotics in food: Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization.

Food and Agriculture Organization (FAO). (2016). In: Makkar, H. P. S. (ed.). Probiotics in Animal Nutrition - Production, impact and regulation by Yadav S. Bajagai, Athol V. Klieve, Peter J. Dart and Wayne L. Bryden, vol. 179. Rome: FAO Animal Production and Health yayim. Available on: <http://www.fao.org/3/a-i5933e.pdf>.

Food and Agriculture Organization (FAO). Sheep and Goats in Turkey (1986). <https://www.fao.org/3/ah224e/ah224e.pdf>

Food and Agriculture Organization Statistics (FAOSTAT). Available: <http://faostat.fao.org/> (Accessed 2013 Jun 10).

Food and Agriculture Organization Statistics (FAOSTAT). Statistical Yearbook – World Food and Agriculture (2021). <https://doi.org/10.4060/cb4477en>

*Food Control*, 53, 96-103 <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.01.013> [Get rights and content](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.01.013)

- Franciosi, E., Settanni, L., Cavazza, A., & Poznanski, E. (2009). Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. *International Dairy Journal*, 19(1), 311. DOI:[10.1016/j.idairyj.2008.07.008](https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.07.008)
- Frey, J.P., Marth, E.H., Johnson, M.E., Olson, N.F. (1986). Heat and freeze shocking cause changes in peptidase and protease activity of *Lactobacillus helveticus*. *Milchwissenschaft* 41, 681–685.
- Ghyselinck J, Van Hoorde K, Host B, Heylen K, De Vos P. (2011). Evaluation of MALDI-TOF MS as a tool for high-throughput dereplication. *J Microbiol Methods*, 86 (3), 327-336. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2011.06.004>
- Gillor, O., Etzion, A., Riley, M.A. (2008). The Dual Role Of Bacteriocins As Anti- And Probiotics. *Appl. microbiol. biotechnol.* 81: 591-606.
- Gobbetti, M. Lanciotti, R. De Angelis, M. Corbo, M. R. Massini, R. Fox, P. F. (1999). Study of the effects of temperature, pH and NaCl on the peptidase activities of non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) by quadratic response surface methodology. *Int. Dairy J.*, 9, 865–875. DOI:[10.1016/S0141-0229\(99\)00110-6](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(99)00110-6)
- Hammes, W. P., Hertel, C. (2006). The Genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. In: Dworkin M, (ed.). *The Prokaryotes*. New York: Springer Yayınları, Release 3.15. p. 320–440. DOI:[10.1007/0-387-30743-5](https://doi.org/10.1007/0-387-30743-5)
- Hammes, W. P., Hertel, C. (2009). Genus I. *Lactobacillus* Beijerinck 1901 In: De Vos P., Garrity G. M., Jones D., Krieg N. R., Ludwig W., Rainey F. A., Schleifer K. H., Whitman W. B., (ed.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 3, 2. Basım Berlin: Springer Yayınları, p. 465–510.
- Harrigan, W. F. (1998). *Laboratory methods in food microbiology* (3rd. ed.). San Diego: Academic Press.
- Hati, S.; Mandal, S.; Prajapat, J.B. (2013). Novel Starters for Value Added Fermented Dairy Products. *Curr. Res. Nutr. Food Sci. J.*, 1, 83–91.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., & Sanders, M. E. (2014). Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 11(8), 506–514. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>
- Holzappel, W. H., & Wood, B. J. (2014). *Lactic acid bacteria: Biodiversity and taxonomy*. UK: John Wiley & Sons.
- Huang, Y., & Adams, M. C. (2004). In vitro assessment of the upper gastrointestinal tolerance of potential probiotic dairy propionibacteria. *International journal of food microbiology*, 91(3), 253–260. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.07.001>
- Huber, J. A., Mark Welch, D. B., Morrison, H. G., Huse, S. M., Neal, P. R., Butterfield, D. A., & Sogin, M. L. (2007). Microbial population structures in the deep marine biosphere. *Science (New York, N.Y.)*, 318(5847), 97–100. <https://doi.org/10.1126/science.1146689>
- Ibrahim, S.A.; Ayivi, R.D.; Zimmerman, T.; Siddiqui, S.A.; Altemimi, A.B.; Fidan, H.; Esatbeyoglu, T.; Bakhshayesh, R.V. (2021). Lactic acid bacteria as antimicrobial agents: Food safety and microbial food spoilage prevention. *Foods*, 10, 3131.

- Ikombayev, T., Ospanova, A., Omarova, A., Horackova, S., Tuganbay, A., Kassenova, G. et al. (2025). Functional properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk and cottage cheese. *Journal of Agriculture and Food Research*. Jun;21:101822. doi: 10.1016/j.jafr.2025.101822
- Illikoud, N., Mantel, M., Rolli-Derkinderen, M., Gagnaire, V., & Jan, G. (2022). Dairy starters and fermented dairy products modulate gut mucosal immunity. *Immunology letters*, 251-252, 91–102. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2022.11.002>
- Islam, M. Z., Uddin, M. E., Rahman, M. T., Islam, M. A., & Harun-ur-Rashid, M. (2021). Isolation and characterization of dominant lactic acid bacteria from raw goat milk: Assessment of probiotic potential and technological properties. *Small Ruminant Research*. 205, 106532. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106532>
- Jamyuang, C., Phoonlapdacha, P., Chongviriyaphan, N., Chanput, W., Nitisinprasert, S., & Nakphaichit, M. (2019). Characterization and probiotic properties of *Lactobacilli* from human breast milk. *3 Biotech*, 9(11), 398. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1926-y>
- Jandal, J.M., 1996. Comparative aspects of goat and sheep milk. *Small Rumin. Res.* 22, 177–185. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(96\)00880-2](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(96)00880-2)
- Jarocki, P., Podleśny, M., Komoń-Janczara, E., Kucharska, J., Glibowska, A., & Targoński, Z. (2016). Comparison of various molecular methods for rapid differentiation of intestinal bifidobacteria at the species, subspecies and strain level. *BMC microbiology*, 16(1), 159. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0779-3>
- Ji, J., & Yang, H. (2020). Using Probiotics as Supplementation for *Helicobacter pylori* Antibiotic Therapy. *International journal of molecular sciences*, 21(3), 1136. <https://doi.org/10.3390/ijms21031136>
- Johnson-Green, P. (2002). Introduction to Food Biotechnology (1st ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420058383>
- Keto-Timonen, R., Hietala, N., Palonen, E., Hakakorpi, A., Lindström, M., & Korkeala, H. (2016). Cold Shock Proteins: A Minireview with Special Emphasis on Csp-family of Enteropathogenic *Yersinia*. *Frontiers in microbiology*, 7, 1151. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01151>
- Kim, M. J., Lee, H. W., Lee, M. E., Roh, S. W., & Kim, T. W. (2019). Mixed starter of *Lactococcus lactis* and *Leuconostoc citreum* for extending kimchi shelf-life. *Journal of microbiology (Seoul, Korea)*, 57(6), 479–484. <https://doi.org/10.1007/s12275-019-9048-0>
- Kolbert, C. P., & Persing, D. H. (1999). Ribosomal DNA sequencing as a tool for identification of bacterial pathogens. *Current opinion in microbiology*, 2(3), 299–305. [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(99\)80052-6](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(99)80052-6)
- Kunji, E. R., Mierau, I., Hagting, A., Poolman, B., & Konings, W. N. (1996). The proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 70(2-4), 187–221. <https://doi.org/10.1007/BF00395933>
- Lavermicocca, P., Valerio, F., Evidente, A., Lazzaroni, S., Corsetti, A., & Gobetti, M. (2000). Purification and characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B. *Applied and environmental microbiology*, 66(9), 4084–4090. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.9.4084-4090.2000>
- Law, B. A., & Kolstad, J. (1983). Proteolytic systems in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 49(3), 225–245. <https://doi.org/10.1007/BF00399500>

- Laws, A., Gu, Y., & Marshall, V. (2001). Biosynthesis, characterisation, and design of bacterial exopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Biotechnology advances*, 19(8), 597–625. [https://doi.org/10.1016/s0734-9750\(01\)00084-2](https://doi.org/10.1016/s0734-9750(01)00084-2)
- Leroy, F. & de Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 15(2), 67-78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.004>
- Li, T., Teng, D., Mao, R., Hao, Y., Wang, X., & Wang, J. (2020). A critical review of antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, 136, 109571. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109571>
- Liu, M., Bayjanov, J. R., Renckens, B., Nauta, A., & Siezen, R. J. (2010). The proteolytic system of lactic acid bacteria revisited: a genomic comparison. *BMC genomics*, 11, 36. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-36>
- Liu, W., Pang, H., Zhang, H. and Cai, Y. (2014). Biodiversity of lactic acid bacteria. H. Zhang and Y. Cai (Der.), *Lactic Acid Bacteria* içinde (ss. 103-203). Netherlands: Springer Yayınları <https://doi.org/10.1007/978-94-017-8841-02>
- López, S. & Mayo, B. (1994). Identification and characterization of homofermentative mesophilic Lactobacillus strains isolated from artisan starter-free cheeses. *Let. Appl. Microbiol.* 25, 233–238.
- Lopez-Kleine, L. & Monnet, V. (2011). *Lactic Acid Bacteria | Proteolytic Systems*. (2th ed.). France: Academic Press Published. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00257-0>
- Makete, G., Aiyegoro, O. A., & Thantsha, M. S. (2017). Isolation, Identification and Screening of Potential Probiotic Bacteria in Milk from South African Saanen Goats. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 9(3), 246–254. <https://doi.org/10.1007/s12602-016-9247-5>
- Mangiagalli, M., Sarusi, G., Kaleda, A., Bar Dolev, M., Nardone, V., Vena, V.F.,...Nardini, M. (2018). Structure of a bacterial ice binding protein with two faces of interaction with ice. *FEBS Journal*, 285(9), 1653–1666.
- Martín-Ortiz, A., Barile, D., Salcedo, J., Moreno, F. J., Clemente, A., Ruiz-Matute, A. I., & Sanz, M. L. (2017). Changes in Caprine Milk Oligosaccharides at Different Lactation Stages Analyzed by High Performance Liquid Chromatography Coupled to Mass Spectrometry. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(17), 3523–3531. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05104>
- Marzorati, M., Wittebolle, L., Boon, N., Daffonchio, D., & Verstraete, W. (2008). How to get more out of molecular fingerprints: practical tools for microbial ecology. *Environmental microbiology*, 10(6), 1571–1581. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01572.x>
- McSweeney, P., Sousa, M. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: a review. *Lait* 80, 293–324.
- Mohania, D., Nagpal, R., Kumar, M., Bhardwaj, A., Yadav, M., Jain, S. ... Yadav, H. (2008). Molecular approaches for identification and characterization of lactic acid bacteria. *Journal of Digestive Diseases*, 9(4), 190-198. <https://doi.org/10.1111/j.1751-2980.2008.00345.x>
- Mokoena, M. P. (2017). Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens: A Mini-Review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(8), 1255. <https://doi.org/10.3390/molecules22081255>

- Montero-Zamora, J., Fernández-Fernández, S., Redondo-Solano, M., Mazón-Villegas, B., Mora-Villalobos, J. A., & Barboza, N. (2022). Assessment of Different Lactic Acid Bacteria Isolated from Agro-Industrial Residues: First Report of the Potential Role of *Weissella soli* for Lactic Acid Production from Milk Whey. *Applied Microbiology*, 2(3), 626-635. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol2030048>
- Mora-Villalobos, J.A.; Montero-Zamora, J.; Barboza, N.; Rojas-Garbanzo, C.; Usaga, J.; Redondo-Solano, M.; Schroedter, L.; Olszewska-Widdrat, A.; López-Gómez, J.P. (2020). Multi-product lactic acid bacteria fermentations: A review. *Fermentation*, 6, 23.
- Moulay, M., Benlahcen, K., Aggad, H. & Kihal, M. (2013). Diversity and technological properties of predominant lactic acid bacteria isolated from algerian raw goat's milk. *Advances in Environmental Biology*, 7(6): 999-1007
- Mowlem, A. (2005). Marketing Goat Dairy Produce in the UK. *Small Rumin. Res.* 60, 207–213. DOI: [10.1016/j.smallrumres.2005.06.036](https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.06.036)
- Mullis, K. B., & Faloona, F. A. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in enzymology*, 155, 335–350. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)55023-6](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)55023-6)
- Nicholls, L., & Nimalasuriya, A. (1939). The preparation of fermented milk (“curds”). *Ceylon J. Sci. D Med. Sci.* 5:17–20.
- Nomura, K., Yonezawa, T., Mano, S., Kawakami, S., Shedlock, A. M., Hasegawa, M., & Amano, T. (2013). Domestication process of the goat revealed by an analysis of the nearly complete mitochondrial protein-encoding genes. *PLoS one*, 8(8), e67775. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067775>
- Odeyemi, O. A., Alegbeleye, O. O., Strateva, M., & Stratev, D. (2020). Understanding spoilage microbial community and spoilage mechanisms in foods of animal origin. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 19(2), 311–331. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12526>
- Ong, L.; Henriksson, A.; Shah, N.P. (2007). Proteolytic pattern and organic acid profiles of probiotic ceddar cheeses influenced by probiotics strains of *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. paracasei*, *Lb. caseior* *Bifidobacterium* sp. *Int. Dairy J.*, 17, 67–78
- Orla-Jensen, S. (1919). *The lactic acid bacteria*. Andr. Fred. Copenhagen: Høst & Søn Yayınları
- Palys, T., Nakamura, L. K., & Cohan, F. M. (1997). Discovery and classification of ecological diversity in the bacterial world: the role of DNA sequence data. *International journal of systematic bacteriology*, 47(4), 1145–1156. <https://doi.org/10.1099/00207713-47-4-1145>
- Park, Y. W., Haenlein, G. F. W. (2007). Handbook of food products manufacturing. In: Hui, Y.H. (Ed.), *Goat Milk, its Products and Nutrition*. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, pp. 449–488. <https://doi.org/10.1002/9780470113554.ch69>
- Passerini, D., Laroute, V., Coddeville, M., Le Bourgeois, P., Loubière, P., Ritzenthaler, P., Coccagn-Bousquet, M., & Daveran-Mingot, M. L. (2013). New insights into *Lactococcus lactis* diacetyl- and acetoin-producing strains isolated from diverse origins. *International journal of food microbiology*, 160(3), 329–336. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.10.023>
- Patel, A., Prajapati, J. B., Holst, O., Lluh, A. (2014). Determining probiotic potential of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria isolated from vegetables and traditional

Indian fermented food products. *Food Bioscience*, 5, 27-33. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2013.10.002>

Patten, D. A., Leivers, S., Chadha, M. J., Maqsood, M., Humphreys, P. N., Laws, A. P., & Collett, A. (2014). The structure and immunomodulatory activity on intestinal epithelial cells of the EPSs isolated from *Lactobacillus helveticus* sp. Rosyjski and *Lactobacillus acidophilus* sp. 5e2. *Carbohydrate research*, 384, 119–127. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2013.12.008>

Peng, S., J. Song, W. Zeng, H. Wang, Y. Zhang, J. Xin, & H. Suo. (2021). A broad-spectrum novel bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* SHY 21-2 from yak yogurt: Purification, antimicrobial characteristics and antibacterial mechanism. *LWT - Food Sci. Technol.* 142:1–9. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110955>

Pereira, J., Rios, E., Rodríguez-Calleja, J. M., Santos, J., & López-Díaz, T. M. (2019). Studies of the Microbiological and Physico-Chemical Composition of Goat's Milk from North-Western Spain. *Milchwissenschaft*, 72, 39-44. DOI:[10.25968/MSI.2019.7](https://doi.org/10.25968/MSI.2019.7)

Peres, C., Tacito, L. A., Rodrigo, P. L. (2016). An evaluation of the physicochemical, microbiological and sensory properties of goat cheese. *African Journal of Dairy Farming and Milk Production*, 3, 120-125.

Perez, R. H., Zendo, T., & Sonomoto, K. (2014). Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): various structures and applications. *Microbial cell factories*, 13 Suppl 1(Suppl 1), S3. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-S1-S3>

Perin, L. M., Belviso, S., Bello, B. D., Nero, L. A., & Cocolin, L. (2017). Technological Properties and Biogenic Amines Production by Bacteriocinogenic Lactococci and Enterococci Strains Isolated from Raw Goat's Milk. *Journal of food protection*, 80(1), 151–157. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-267>

Pessione, E. (2012). Lactic acid bacteria contribution to gut microbiota complexity: lights and shadows. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2, 86. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00086>

Picon, A., Sonia Garde, S., Ávila, M., Nuñez, M. (2016). Microbiota dynamics and lactic acid bacteria biodiversity in raw goat milk cheeses. *International Dairy Journal*, 58, 14-22. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.09.010>

Popović, N. T., Kazazić, S. P., Strunjak-Perović, I. and Čož-Rakovac, R. (2017). Differentiation of environmental aquatic bacterial isolates by MALDI-TOF MS. *Environmental Research*, 152, 7-16. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.09.020>

Prasad, J., McJarrow, P., & Gopal, P. (2003). Heat and osmotic stress responses of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* HN001 (DR20) in relation to viability after drying. *Applied and environmental microbiology*, 69(2), 917–925. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.2.917-925.2003>

Premasiri, D.L.D.A.S., Rajawardana, D.U., Muddannayake, D.C., Hewajulige, I.G.N. (2021). Isolation, Characterization and Identification of Industrially Beneficial Probiotic Lactic Acid Bacteria from Goat Milk. *Journal of Agricultural Sciences (Sri Lanka)*, 16(2):369-382. DOI:[10.4038/jas.v16i2.9341](https://doi.org/10.4038/jas.v16i2.9341)

Pringsulaka, O., Thongngam, N., Suwannasai, N., Atthakor, W., Pothivejkul, K., & Rangsiruji, A. (2012). Partial characterisation of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from Thai fermented meat and fish products. *Food control*, 23(2), 547-551. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.08.029>

- Qiao, W., Qiao, Y., Gao, G., Liao, Z., Wu, Z., Saris, P. E. J., Xu, H., & Qiao, M. (2022). A novel co-cultivation strategy to generate low-crystallinity bacterial cellulose and increase nisin yields. *International journal of biological macromolecules*, 202, 388–396. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.01.038>
- Rao, M. S., Pintado, J., Stevens, W. F., & Guyot, J. P. (2004). Kinetic growth parameters of different amyolytic and non-amyolytic *Lactobacillus* strains under various salt and pH conditions. *Bioresource technology*, 94(3), 331–337. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.11.028>
- Raveschot, C., Cudennec, B., Deracinois, B., Frémont, M., Vaeremans, M., Dugersuren, J., Demberel, S., Drider, D., Dhulster, P., Coutte, F., & Flahaut, C. (2020). Proteolytic activity of *Lactobacillus* strains isolated from Mongolian traditional dairy products: A multiparametric analysis. *Food chemistry*, 304, 125415. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125415>
- Rawson, H. L., & Marshall, V. M. (1997). Effect of ‘ropy’ strains of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* on rheology of stirred yogurt. *International Journal of Food Science and Technology*, 32(3), 213–220.
- Ray, B. (1992.) The Need For Food Biopreservation. In: Ray B, Daeschel M, editors. Food biopreservatives of microbial origin Boca Raton, Florida: *CRC Press*. pp. 1–23.
- Raynal-Ljutovac, K., G. Lagriffoul, P. Paccard, I. Guillet, & Y. Chilliard. 2008. Composition of goat and sheep milk products: An update. *Small Rumin. Res*, 79: 57-72. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.07.009>
- Ribeiro, A. C., Ribeiro, S. D. A. (2010). Specialty products made from goat milk. *Small Ruminant Research*, 89(2), 225-233. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.12.048>
- Rogers, L. A., & Whittier, E. O. (1928). LIMITING FACTORS IN THE LACTIC FERMENTATION. *Journal of bacteriology*, 16(4), 211–229. <https://doi.org/10.1128/jb.16.4.211-229.1928>
- Ruas-Madiedo, P., Hugenholtz, J., Zoon, P. (2002). An Overview Of The Functionality Of Exopolysaccharides Produced By Lactic Acid Bacteria. *Int. dairy j.* 12: 163-171.
- Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., Mullis, K. B., & Erlich, H. A. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science (New York, N.Y.)*, 239(4839), 487–491. <https://doi.org/10.1126/science.2448875>
- Saliba, L., Zoumpopoulou, G., Anastasiou, R., Hassoun, G., Karayiannis, Y., Sgouras, D., Tsakalidou, E., Deiana, P., Montanari, L., Mangia, N. P. (2021). Probiotic and safety assessment of *Lactobacillus* strains isolated from Lebanese Baladi goat milk, *International Dairy Journal*, 120, 105092. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105092>
- Sandine, W. E. (1996). Commercial Production Of Dairy Starter Cultures. In: Cogan TM, Accolas JP, editors. Dairy Starter Cultures. Wiley-VCH. New York, USA. pp. 191–206.
- Sellami, N. L., Badis, A., Guetarni, J., Ouzroute, R., Kihal, M. (2007). Caractérisation phenotypique of lactic acid bacteria isolées from believed milk of goat of two caprine populations Local Arabia and Kabyle. *Journal of Animal and Veterinary Advance.*, 6(12): 1474-1481. <https://doi.org/10.36478/javaa.2007.1474.1481>
- Shewale, R. N., Sawale, P. D., Khedkat, C. D., & Singh, A. (2014). Selection criteria for probiotics: A review. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, 9, 17-22.

Sirichoat, A., Flórez, A. B., Vázquez, L., Buppasiri, P., Panya, M., Lulitanond, V., & Mayo, B. (2020). Antibiotic Susceptibility Profiles of Lactic Acid Bacteria from the Human Vagina and Genetic Basis of Acquired Resistances. *International journal of molecular sciences*, 21(7), 2594. <https://doi.org/10.3390/ijms21072594>

Smets, Wenke & Leff, Jonathan & Bradford, Mark & McCulley, Rebecca & Lebeer, Sarah & Fierer, Noah. (2015). A method for simultaneous measurement of soil bacterial abundances and community composition via 16S rRNA gene sequencing. *Soil Biology & Biochemistry*, 96, 145-151. DOI: 10.7287/PEERJ.PREPRINTS.1318.

Stefanovic, E., Fitzgerald, G., McAuliffe, O. (2017). Advances in the genomics and metabolomics of dairy lactobacilli: a review. *Food Micro-biol.* 61, 33-49.

Tabet, E., Mangia, N. P., Mouannes, E., Hassoun, G., Helal, Z., Deiana, P. (2016). Characterization of goat milk from Lebanese Baladi breed and his suitability for setting up a ripened cheese using a selected starter culture, *Small Ruminant Research*, 140, 13-17. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.05.011>.

Tanasupawat, S., Phoottosavako, M., Keeratipibul, S. (2015). Characterization and lipolytic activity of lactic acid bacteria isolated from Thai fermented meat. *J App Pharm Sci* 5(03), 006–012

Terzaghi, B. E., & Sandine, W. E. (1975). Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Applied microbiology*, 29(6), 807–813. <https://doi.org/10.1128/am.29.6.807-813.1975>

Terzić-Vidojević, A., Veljović, K., Tolinački, M., Živković, M., Lukić, J., Lozo, J., Fira, Đ., Jovčić, B., Strahinić, I., Begović, J., Popović, N., Miljković, M., Kojić, M., Topisirović, L., & Golić, N. (2020). Diversity of non-starter lactic acid bacteria in autochthonous dairy products from Western Balkan Countries - Technological and probiotic properties. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, 136, 109494. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109494>

Tissier, H. (1984). Taxonomy and ecology of bifidobacteria. *Bifidobacteria Microflora* 3:11–28.

Tormo, H., Ali Haimoud Lekhal, D., & Roques, C. (2015). Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk and effect of farming practices on the dominant species of lactic acid bacteria. *International journal of food microbiology*, 210, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.02.002>

TÜİK (a), Türkiye İstatistik Kurumu. Tarım ve Orman Bakanlığı Hayvansal Üretim İstatistikleri 2023 (09 Şubat 2024). <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Hayvansal-Uretim-Istatistikleri-2023-49681>

TÜİK (b), Türkiye İstatistik Kurumu. Tarım ve Orman Bakanlığı Çiğ Süt Üretim İstatistikleri 2023 (02 Mayıs 2024). <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Cig-Sut-Uretim-Istatistikleri-2023-53542>

Üçüncü, M. (2021). *Süt ve Mamülleri Teknolojisi* (Yedinci baskı). İzmir: Sidas Yayıncılık

Vieco-Saiz, N., Belguesmia, Y., Raspoet, R., Auclair, E., Gancel, F., Kempf, I., & Drider, D. (2019). Benefits and Inputs From Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins as Alternatives to Antibiotic Growth Promoters During Food-Animal Production. *Frontiers in microbiology*, 10, 57. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00057>

Waldherr, F. & Vogel, R.F. (2009). Commercial Exploitation Of Homo-exopolysaccharides In Non-dairy Food Systems. In: Ullrich M, editor. Bacterial

Polysaccharides: Current Innovations And Future Trends: *Caister Academic Press*, Bremen, Germany.

Wallace, R. B., Johnson, M. J., Suggs, S. V., Miyoshi, K., Bhatt, R., & Itakura, K. (1981). A set of synthetic oligodeoxyribonucleotide primers for DNA sequencing in the plasmid vector pBR322. *Gene*, *16*(1-3), 21–26. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(81\)90057-3](https://doi.org/10.1016/0378-1119(81)90057-3)

Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., & Geng, W. (2021). Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, *9*, 612285. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>

Werning, M. L., Hernández-Alcántara, A. M., Ruiz, M. J., Soto, L. P., Dueñas, M. T., López, P., & Frizzo, L. S. (2022). Biological Functions of Exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria and Their Potential Benefits for Humans and Farmed Animals. *Foods (Basel, Switzerland)*, *11*(9), 1284. <https://doi.org/10.3390/foods11091284>

Wilkowske, H.H. (1954). Relationship between Titratable Acidity and pH during Lactic Acid Fermentation in Reconstituted Nonfat Milk. *Journal of Dairy Science*, *37*(1), 22-29. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(54\)91227-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(54)91227-8)

Winn, W., Allen, S., Janda, W., Koneman, E., Procop, G., Schreckenberger, P. and Woods, G. (2006). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th Edition, Lippincott Williams and Wilkins, New York.

Wrischnik, L. A., Higuchi, R. G., Stoneking, M., Erlich, H. A., Arnheim, N., & Wilson, A. C. (1987). Length mutations in human mitochondrial DNA: direct sequencing of enzymatically amplified DNA. *Nucleic acids research*, *15*(2), 529–542. <https://doi.org/10.1093/nar/15.2.529>

Wu, C., Huang, J., Zhou, R. (2017). Genomics of lactic acid bacteria: current status and potential applications. *Crit. Rev. Microbiol.* *43*, 393-404.

Yalçın Sever, C. (Ed). “Son 17 yılda keçi varlığında %60 artış yaşandı”. *Türk Tarım Orman Dergisi*, *256* (Kasım-Aralık 2019): 49-51. <http://www.turktarim.gov.tr/EDergi/256/mobile/html5forpc.html>

Yamani, M.I., Alnabulsi, A.A., Haddadin, M.S., Robinson, R.K. (1998). The isolation of salt-tolerant lactic acid bacteria from ovine and bovine milks for use in the production of nabulsi cheese. *Int J Dairy Technol* *51*, 86–89

Yamina, M., Chahrour, W., Zarour, K., Zergui, A., Noureddine, S., Eddine, H. J. & Kihal, M. (2013). Physico-chemical and Microbiological Analysis of Algerian Raw Camel's Milk and Identification of Predominating Thermophilic Lactic Acid Bacteria. *Journal of Food Science and Engineering*, *3*, 55-63.

Yangılar, F. (2013). As a Potentially Functional Food: Goats' Milk and Products. *Journal of Food and Nutrition Research*, *1*, 68-81.

Yao, W., Yang, L., Shao, Z. *et al.* Identification of salt tolerance-related genes of *Lactobacillus plantarum* D31 and T9 strains by genomic analysis. *Ann Microbiol* *70*, 10 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13213-020-01551-2>

Zahid, M., Ashraf, M., Arshad, M., Muhammad, G., Yasmin, A., & Hameed, H. M. A. (2015). Antimicrobial activity of bacteriocins isolated from lactic acid bacteria against resistant pathogenic strains. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, *4*, 326-331. DOI:[10.11648/j.ijnfs.20150403.20](https://doi.org/10.11648/j.ijnfs.20150403.20)

Zarour, K., Benmechernene, Z., Hadadji, M., Moussa-boudjemaa, B., Henni, J. E., & Kihal, M. (2013). Caractérisation microbiologique et technologique des espèces de *Leuconostoc mesenteroides* isolées du lait cru de chèvre et de chamelle d'Algérie. *Revue Nature et Technologie*, 5(1):39–47. <https://www.asjp.cerist.dz/en/article/41720>

Zeder, M. A., & Hesse, B. (2000). The initial domestication of goats (*Capra hircus*) in the Zagros mountains 10,000 years ago. *Science (New York, N.Y.)*, 287(5461), 2254–2257. <https://doi.org/10.1126/science.287.5461.2254>

Zhang, J., Liu, Q., Chen, W., Du, G., & Chen, J. (2016). Short communication: Protection of lyophilized milk starter *Lactobacillus casei* Zhang by glutathione. *Journal of dairy science*, 99(3), 1846–1852. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9540>

Zhu, Z., Zhu, X., Kong, F., & Guo, W. (2019). Quantitatively determining the total bacterial count of raw goat milk using dielectric spectra. *Journal of dairy science*, 102(9), 7895–7903. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16666>

## ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Sevde Çelik
Eğitim	
Lise	Balıkesir Sırrı Yırcalı Anadolu Lisesi (2011-2014) Denizli Türk Eğitim Vakfı Anadolu Lisesi (2014-2016)
Lisans	Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü (2017-2021)
Yüksek Lisans	Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı (2022-2025)
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce	İyi derecede



Eğitimde, bilimde, sanatta çağdaş...



Balıkesir Üniversitesi  
Tıp Fakültesi Dekanlık Binası  
Çağış Yerleşkesi/BALIKESİR



(0 266) 612 14 62  
sagbilen@balikesir.edu.tr  
<http://www.balikesir.edu.tr>

