

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın tamamlanmasına kadar geçen süre içinde bana destek olan, yardımlarını esirgemeyen, fikirleri ile çalışmama yön veren değerli hocam Sayın Prof. Dr. Dilek Heperkan' a teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca çalışmamda gerekli cihazların temininde kolaylık gösterdikleri için Sayın Prof. Dr. Mehmet Sabri Çelik' e, Sayın Doç. Dr. Seniha Güner' e, Sayın Yrd. Doç. Dr. A. Ekrem Yüce' ye teşekkür ederim.

Çalışmam boyunca yardımlarından dolayı Ar. Gör. Funda Karbancıoğlu Güler' e, Ar. Gör. Gözde Dalkılıç Kaya' ya ve Teknisyen Levent Dinçer' e teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimimde emeği geçen tüm hocalarıma, bana maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, anlayış gösteren sevgili aileme, çok sevgili arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	vi
TABLO LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ	viii
ÖZET	ix
SUMMARY	xi
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1. Laktik Asit Bakterileri	3
2.2. Fermantasyon	5
2.3. Hububat Bazlı Fermente Gıdalar	6
2.4. Boza	8
2.4.1. Bozanın Tarihçesi	9
2.4.2. Bozanın Besinsel Değeri	10
2.4.3. Boza Üretimi	11
2.4.3.1. Hammaddelerin Hazırlanması	11
2.4.3.2. Kaynatma	12
2.4.3.3. Soğutma	12
2.4.3.4. Seyreltme ve Süzme	12
2.4.3.5. Şeker İlavesi	12
2.4.3.6. Fermantasyon	12
2.4.3.7. Saklama	13
2.5. Ekzopolisakkaritler	13
3. MATERYAL VE METOT	19
3.1. Örneklerin Sağlanması	19
3.2. Metot	19
3.2.1. Fiziksel ve Kimyasal Analizler	19
3.2.1.1. Katı Madde Tayini	19
3.2.1.2. Protein Tayini	19
3.2.1.3. Kül Tayini	19
3.2.1.4. Toplam Asitlik Tayini	19

3.2.1.5. pH Tayini	20
3.2.1.6. İndirgen ve Toplam Şeker Tayini	20
3.2.1.7. Ekzopolisakkarit (Toplam Karbonhidrat) Tayini	20
3.2.1.8. Su Aktivitesi Tayini	20
3.2.2. Mikrobiyolojik Analizler	20
3.2.2.1. Laktik Asit Bakterilerinin Sayımı	20
3.2.2.2. Bozadan Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu	21
3.2.2.3. Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması (İdentifikasyonu)	21
3.2.3. Biyokimyasal Testler	21
3.2.3.1. Gram boyama	21
3.2.3.2. Katalaz Testi	21
3.2.3.3. Oksidaz Testi	21
3.2.3.4. İzolatların Karbonhidrat Metabolizmalarının Belirlenmesi	22
3.2.3.5. İzolatların Enzimatik Aktivitelerinin Belirlenmesi	23
3.2.4. Boza Laktik Florasını Oluşturan Suşlardan Ekzopolisakkarit İzolasyonu ve Saflaştırılması	23
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	24
4.1. Kimyasal Analiz Sonuçları	24
4.2. Mikrobiyolojik Analizler	28
4.2.1. Laktik Asit Bakterilerinin Sayımı	28
4.2.2. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyon ve İdentifikasyonu	28
4.2.3. İzolatların Enzimatik Aktivitelerinin Belirlenmesi	31
4.2.4. Boza Laktik Florasını Oluşturan Suşlardan Ekzopolisakkarit İzolasyonu ve Saflaştırılması	32
5. SONUÇ	38
KAYNAKLAR	39
ÖZGEÇMİŞ	44

KISALTMALAR

EPS	: Ekzopolisakkarit
LAB	: Laktik Asit Bakterileri
<i>Lb.</i>	: <i>Lactobacillus</i>
<i>Lc.</i>	: <i>Lactococcus</i>
<i>Leu.</i>	: <i>Leuconostoc</i>
Kob	: Koloni oluşturan birim

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Bazı hububat türleri ve süt bileşiminin karşılaştırılması.....	8
Tablo 2.2. 100 ml boza için besin değerleri	10
Tablo 2.3. 24 saatlik boza fermantasyonu sırasında pH, asidite, alkol, laktik asit bakterisi ve maya miktarlarındaki değişimi.....	13
Tablo 4.1. 30°C, 37°C, 45°C’ de MRS, Rogosa ve M17 besiyerlerinde gerçekleştirilen laktik asit bakterileri sayımı kob/g	28
Tablo 4.2. Laktik asit bakterilerinin izole edildikleri sıcaklık ve besiyerleri..	29
Tablo 4.3. Bozadan elde edilen izolatların enzimatik aktiviteleri.....	32
Tablo 4.4. Bozadan izole edilen suşların ürettiği EPS miktarları.....	35

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1	: Boza üretimi proses basamakları	11
Şekil 4.1	: Boza örneklerinin % asitlik ve pH değerleri.....	24
Şekil 4.2	: Boza örneklerinin % kuru madde değerleri.....	25
Şekil 4.3	: Boza örneklerinin % kül değerleri.....	25
Şekil 4.4	: Boza örneklerinin % protein değerleri.....	26
Şekil 4.5	: Boza örneklerinin invert şeker ve sakkaroz cinsinden % toplam şeker değerleri.....	26
Şekil 4.6	: Boza örneklerinin % w/w ekzopolisakkarit değerleri.....	27
Şekil 4.7	: Bozadan izole edilen suşların ürettiği EPS miktarları g/L.....	36

LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN SAKKAROZ PARÇALAMA AKTİVİTELERİNİN BOZADA İNCELENMESİ

ÖZET

Laktik asit bakterileri (LAB) farklı metabolik aktiviteleri ile gıda endüstrisinde önemli görevlere sahiptir. LAB, fermentasyonda starter kültür, ürettiği metabolitler ile gıda katkı maddesi veya proses yardımcısı olarak görev almaktadır. Gıdaların teknolojik, besinsel, organoleptik özelliklerini geliştirmekte ve ürettiği antimikrobiyallerle gıdaların korunmasında etkili olmaktadır. Gıdaların yapısını geliştirerek, aroma maddeleri üreterek gıdayı daha çekici hale getirmekte; peynirlerin olgunlaşmasını hızlandırarak, fajlara dirençli hale getirilerek teknolojik açıdan, nutrasetikler üreterek, toksik bileşikleri azaltarak ve probiyotik özelliklere sahip olarak sağlık açısından avantajlar sağlamaktadır.

LAB'ın en önemli fonksiyonlarından biri de gıdaların besinsel değerini artıran, istenmeyen ve toksik bileşiklerin yok edilmesine, görünümün iyileştirilmesine, farklı doku ve aroma kazandırılmasına neden olan laktik asit fermentasyonlarıdır. Laktik asit fermentasyonu süt ürünlerinde, hububat bazlı ürünlerde, sebzelerin, çeşitli içeceklerin yapımında görülmektedir. Bunlar arasından gıda üretiminin % 60'ına katkıda bulunan hububatların hammadde olarak kullanıldığı hububat bazlı fermente ürünler önemli yer tutmaktadır. Bu ürünlerden biri de geleneksel fermente içeceğimiz bozadır. Boza; darı, pirinç, mısır, buğday gibi hububatların kaynatılması, sakkaroz ilave edilerek fermentasyona bırakılması sonucu üretilmektedir.

LAB'ın ürettiği metabolitlerden biri de ekzopolisakkaritlerdir. Yüksek molekül ağırlıklı, uzun zincirli polimerler olan ekzopolisakkaritlerin su tutma kapasiteleri bulunmaktadır. Gıda endüstrisinde emülsifikatör, stabilizatör olarak, sineresisin önlenmesinde, kristalizasyonun kontrolünde pek çok amaçta kullanılmaktadır. Bunun yanında sağlık üzerine yararlı metabolitlerdir. Prebiyotik, antitümör, antiülser etkileri olup immün sistemi düzenlemesinde, kalp rahatsızlıklarında etkili olmaktadır. Sentezinde sakkaroz substrat olarak kullanılmaktadır.

Yapılan çalışmada bozanın laktik mikroflorasının belirlenmesi ve laktik mikrofloranın ekzopolisakkarit oluşturma kapasitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. API 50 CHL kiti kullanılarak yapılan identifikasyondan sonunda *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* alttür *paracasei*, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* alttür *mesenteroides/ dextranicum*, *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc lactis*, *Lactococcus lactis* alttür *lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* alttür *delbrueckii*, *Lactococcus raffinolactis*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus coprophilus*, *Lactobacillus brevis* ve *Pediococcus spp.* laktik mikroflora olarak belirlenmiştir. Ekzopolisakkaritlerin saflaştırılması sonunda modifiye MRS besiyeri kullanılarak fenol sülfürik asit metodu ile *Leuconostoc citreum*, *Lactobacillus coprophilus* ve *Leuconostoc mesenteroides* alttür *mesenteroides/ dextranicum* ekzopolisakkaritleri en fazla miktarda üreten türler olarak saptanmıştır. Boza üretiminde sakkaroz kullanılması ekzopolisakkarit üretimi için uygun koşul

oluşturmaktadır. API ZYM kiti kullanılarak yapılan enzim aktivitelerinin belirlenmesi sonucunda da izole edilen laktik asit bakterilerinin hiçbirisinin lipaz ve tripsin enzimi üretmedikleri görölmüştür. Buna karşılık tüm izolatlar asit fosfataz üretmiştir. İzolatlar içerisinde ürettiği enzim çeşidi en fazla olan bakteri ise *Lb. brevis* dir.

EXAMINATION OF SACCHAROSE DEGRADING ACTIVITY OF LACTIC ACID BACTERIA IN BOZA

SUMMARY

Lactic acid bacteria (LAB) have important properties in food industry with their diversity of metabolic activities. LAB used in fermentations as a starter culture, or used as an additive or a processing aid with the metabolites they produce. They improve the technologic, nutritional, organoleptic properties of foods and they are effective in preserving foods by the antimicrobials they produce. They improve the texture of foods and make them attractive by producing flavour compounds. They provide technologic advantages by accelerating cheese ripening and by becoming resistant to bacteriophages, nutritional or health promoting advantages by producing nutraceuticals, reducing the toxic compounds and having probiotic properties.

One of the important properties of LAB is the lactic acid fermentations; contributing to different texture and flavour, increase in nutritional value of foods, elimination of the unwanted and toxic compounds and improvement of appearance. Lactic acid fermentations take place in process of dairy products, cereal based products, vegetable products and some beverages. Among them, cereal based fermented foods where cereals used as a raw material that contribute to % 60 of world food production take important place. One of them is our traditional fermented beverage 'boza'. Boza is produced through boiling cereals such as, millet, corn, rice, wheat and leaving it to fermentation after adding saccharose.

One of the metabolites that LAB produces is the exopolysaccharides. Exopolysaccharides are high molecular weight, long chained polymers with water binding capacities. They are used in food industry for many purposes; as an emulsifying agent, stabilizator and used for preventing syneresis, controlling crystallization. Besides, they are health promoting metabolites. They have prebiotic, antitumour, antiulcer activities and effective in heart diseases and regulation of immune system. Saccharose is used as a substrate in the synthesis of exopolysaccharides.

In this study determination of lactic microflora of boza and exopolysaccharide producing capacities of this lactic microflora is aimed. Lactic microflora is determined as; *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* alttür *paracasei*, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* alttür *mesenteroides/dextranicum*, *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc lactis*, *Lactococcus lactis* alttür *lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* alttür *delbrueckii*, *Leuconostoc raffinolactis*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus coprophilus*, *Lactobacillus brevis* and *Pediococcus spp.* after the identification with API CHL 50 kits. At the end of the purification of exopolysaccharides by using modified MRS medium with phenol sulphuric acid method *Leuconostoc citreum*, *Lactobacillus coprophilus* and *Leuconostoc mesenteroides* alttür *mesenteroides/dextranicum* is determined as the

species that produce exopolysaccharides in highest amount. Using saccharose in boza manufacture provides suitable conditions for exopolysaccharide production.

In determination of enzymatic activities by API ZYM kits, it is observed that none of the isolated lactic acid bacteria produced lipase and trypsin enzymes. Despite, all the isolates produced acid phosphatase enzyme. Among the isolates *Lb. brevis* produced the most variable number of enzymes.

1. GİRİŞ

Dünyada fermente ürünler; farklı üretim teknikleri, hammaddeler ve mikroorganizmalar kullanılarak üretilmektedir. Fermentasyonda rol alan mikroorganizmalar kullanılan hammaddenin mikroflorasında bulunmaktadır. Laktik asit bakterileri ve mayalar fermentasyonda önemli rol oynamaktadır. Uzak Doğu ülkelerindeki ürünlerde ise küfler daha önemli yer tutmaktadır. Bunlar arasından laktik asit bakterileri (LAB)'nin yer aldığı laktik asit fermentasyonu peynir, yoğurt, tereyağı gibi süt ürünleri, fermente sebze ve et ürünleri, turşu, soya sosu, zeytin, hububat bazlı ürünler gibi pek çok fermente gıdanın üretiminde uzun zamandan beri güvenle kullanılmaktadır.

LAB farklı metabolik aktiviteleri ile gıda endüstrisinde önemli görevlere sahiptir. LAB, fermentasyonda starter kültür, laktik asitten farklı olarak ürettiği metabolitler ile gıda katkı maddesi veya proses yardımcısı olarak görev almaktadır. Gıdaların teknolojik, besinsel, organoleptik özelliklerini geliştirmekte ve ürettiği bakteriyosinlerle gıdaların korunmasında etkili olmaktadır. Gıdaların yapısını geliştirerek, aroma maddeleri üreterek gıdayı daha çekici hale getirmekte; peynirlerin olgunlaşmasını hızlandırarak, fajlara dirençli hale getirilerek teknolojik açıdan, nutrasetikler üreterek, toksik bileşikler azaltarak ve probiyotik özelliklere sahip olarak sağlık açısından avantajlar sağlamaktadır.

LAB'nin ürettiği metabolitlerden biri de ekzopolisakkaritlerdir. Uzun zincirli, yüksek molekül ağırlıklı şeker polimerleri olan ekzopolisakkaritler (EPS) gıda endüstrisinde emülsifikatör, stabilizatör, enkapsülasyon maddesi olarak, sineresisin (işlenmiş gıdalardan su ayrılması) önlenmesinde, kristalizasyonun kontrolünde, film oluşumunda kullanılmaktadır. Yapının geliştirilmesi amacı ile süt endüstrisinde düşük yağlı peynir, yoğurt, dondurma, ekşi krema yapımında kullanımına ait çalışmalar bulunmaktadır. Sentezinde sakkaroz substrat olarak kullanılmakta glukoziltransferaz enzimleri reaksiyonu katalizlemektedir. Ayrıca EPS'lerin teknolojik özelliklerinin yanında antitümör, antiülser, prebiyotik etkileri bulunmakta, kolesterolü düşürmede ve immün sistemin düzenlenmesinde rol almaktadır.

Süt ürünleri dışında sebze ve hububattaki LAB tarafından sentezlenen EPS' lerin de çeşitliliği, optimum üretim koşulları ve teknolojik uygulamaları araştırılmaktadır. Hububat bazlı ürünlerden sadece ekmekle ilgili çalışmalar bulunmaktadır. EPS' lerin hamur reolojisini iyileştirdiği, bayatlamaya, ekmeğin suyu absorbe etmesine ve ekmek hacminin artmasında etkili olduğu belirtilmiştir.

Yapılan çalışmada geleneksel içeceğimiz bozanın laktik mikroflora identifikasyonu ve identifiye edilen mikroorganizmaların enzimatik aktivitelerinin ve EPS oluşturma kapasitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Boza; yabancı maddelerinden temizlenmiş darı, pirinç, buğday, mısır vb. hububatın kırma veya unlarından biri veya birkaçına içme suyu katılarak pişirilmesi ve beyaz şeker ilave edilerek tekniğine uygun olarak alkol ve laktik asit fermentasyonlarına tabi tutulması ile hazırlanan bir mamuldür. Şeker olarak sakkaroz ilave edilmektedir. Bozanın raf ömrünü uzatmaya ait yapılan çalışmalardaki pastörizasyon denemelerinde uygulanan sıcaklığa ve depolama süresine bağlı olarak serum ayrılması gözlenmiştir. EPS' lerin su tutma kapasitelerinin bu sorunda etkili olabileceği düşünülmektedir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Laktik Asit Bakterileri

Laktik asit bakterileri (LAB) gram pozitif, katalaz negatif, oksidaz negatif, spor oluşturmeyen, genelde hareketsiz olan aside toleranslı çubuk ve koklardır. Oksijeni kullanmalarına göre anaerobik, aerotolerant veya mikroaerofiliktirler. Karbonhidratları metabolize ederken takip ettikleri yola göre homofermantatif ve heterofermantatif özellik göstermektedirler. Homofermantatifler glikolizis (Embden-Meyerhof yolu) ile son ürün olarak laktik asit oluştururlar. Heterofermantatifler ise 6-fosfoglukonat/ fosfoketolaz yolunu kullanarak laktik asit yanında etanol, CO₂, asetik asit ve formik asit de oluştururlar. Metabolizmalarında son ürün olarak en fazla laktik asit oluşturmaktadırlar (Wood ve Holzapfel, 1992, Axelsson, 1998).

Laktik asit bakterilerinin sınıflandırılması morfolojilerine, glukozu fermente etme yöntemlerine, farklı sıcaklıklarda gelişimlerine, ürettikleri laktik asidin konfigürasyonuna, asit veya alkaliye toleranslarına, yüksek tuz konsantrasyonunda gelişimlerine göre yapılmaktadır. Yağ asidi kompozisyonu ve hücre duvarı bileşenleri gibi kemotaksonomik özellikler de sınıflandırmada kullanılmaktadır. Şu andaki taksonomisi rRNA dizisinin belirlenmesine bağlı olarak yapılan filogenetik sınıflandırmadır. Yeni tanımlanan cinsler bu dizilerden türetilen oligonükleotit problemleri ile belirlenmektedir. Sınıflandırma ve identifikasyon için yeni yöntemler geliştirilmektedir. Bunlardan en fazla gelecek vaat edenleri ise nükleik asit problema teknikleri, PCR kullanarak kısmi r-RNA gen sırası belirlenmesidir (Axelsson, 1998).

Laktik asit bakterileri zengin besin ihtiyacı gereksinimlerinden dolayı et, süt, sebze ve içeceklerde, bazıları ise memeli ağız, bağırsak ve vajina doğal florasında bulunmaktadır (Axelsson, 1998). Doğal habitatları insanlar, hayvanlar, bitkiler olan laktik asit bakterileri GRAS (Generally Recognized As Safe) statüsündedir. *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Oenococcus*, *Enterococcus* ve *Streptococcus* laktik asit bakterileri arasında anahtar rol oynayan 7 cinstir

(Temmerman ve diğ., 2004). Ayrıca *Carnobacterium*, *Sporolactobacillus*, *Lactosphaera*, *Vagococcus*, *Tetragenococcus*, *Aerococcus* ve *Weissella* cinsleri de bulunmaktadır (Blandino ve diğ., 2003). Bunların dışında filogenetik olarak laktik asit bakterilerine ait olmadığı halde *Bifidobacterium*, *Propionibacterium* ve *Brevibacterium* cinslerine ait bazı türler de laktik asit bakterilerine benzer özellikler gösterdiği için gıda endüstrisinde kullanılmaktadır (Temmerman ve diğ., 2004).

LAB ilginç ve farklı metabolik özellikleri ile pek çok endüstriyel uygulamada kullanılmakta ve değişik ortamlara adapte olmaktadır. LAB süt endüstrisi başta olmak üzere rağmen et, sebze gibi diğer hammaddelerin fermentasyonlarında kullanılmaktadır. Kullandıkları karbon kaynakları ile laktik asit oluşturmakta ve hammaddeyi asitlendirerek bulunduğu gıdanın korunmasında rol almaktadır. Gıdalarda LAB, starter olarak yapının geliştirilmesinde, aroma oluşumunda, proseslerin hızlandırılmasında, nutrasötiklerin üretiminde, toksik veya besinsel olmayan faktörlerin azaltılmasında kullanılmaktadır (Leroy ve de Vuyst, 2004).

Ayrıca sağlık üzerine etkileri nedeni ile bazı türler probiyotik olarak görev yapmaktadır (Leroy ve de Vuyst, 2004). Probiyotikler bağırsak mikrobiyal dengesini sağlayarak veya geliştirerek tüketicilerin sağlığına yararlı olan canlı ek gıdalardır. Sağlıklı bağırsak mikroflorasının korunması gastrointestinal bozukluklara karşı koruma sağlamaktadır. Probiyotik bakteriyel kültürlerin kullanımı istenilen mikroorganizmaların gelişimini düzenlemekte, zararlıların da uzaklaşmasını sağlamakta ve vücudun doğal savunma sistemini de güçlendirmektedir (Saarela ve diğ., 2000). Bunun yanında probiyotikler;

- immün sistemin düzenlemesinde
- patojenlere karşı antagonist davranış ile elimine edilmesinde
- antikarsinojenik ve antimutajenik aktivitelerde
- laktoz intoleransı semptomlarının azaltılmasında
- serum kolesterolünün düşürülmesinde
- kan basıncının düşürülmesinde
- fekal enzim aktivitelerin azaltılmasında
- fekal yağ asidi miktarının artırılmasında
- kabızlığın önlenmesinde ve bağırsak hareketlerinin düzenlenmesinde,
- *Clostridium difficile*, virüs, antibiyotikler ve seyahat nedeniyle oluşan ishalin oluşma sıklığı ve süresinin azaltılmasında

- Mukozal bütünlüğün sağlanmasında
- Önemli sindirim enzimlerinin üretilmesinde (β -galaktosidaz)
- B grubu ve K vitaminleri, kısa zincirli yağ asitleri üretiminde, mineral ve iz elementlerin alımında görev yapmaktadır (Klaenhammer ve Kullen, 1999, Holzapfel ve Schillinger, 2002, Mattila- Sandholm ve diğ., 2002, Tomasik ve Tomasik, 2003).

Biyokimyasal ve biyoteknolojik tekniklerin gelişimi de LAB' ların biyopolimer ve enzimlerin üretiminde de kullanımlarına yol açmıştır (Leroy ve de Vuyst, 2004). LAB starter olarak veya doğal olarak hammaddede bulunarak fermente gıdaların üretiminde rol almakta ve böylece gıda endüstrisinde en önemli görevini gerçekleştirmektedir.

2.2. Fermentasyon

Fermentasyon, gıda üretimi ve korunmasında en eski ve en ekonomik yöntemlerden biridir. Gıda tüketiminin 1/3' ünü fermente ürünler karşılamaktadır. Fermente ürünler arasında yer alan fermente süt ürünleri ve yağlı tohumlar, alkollü ve alkolsüz içecekler, sebze ve meyveler, et ve balık ürünleri, hububat bazlı ürünler dünyanın çoğu ülkesinde beslenmede önemli bir yer tutmaktadır. Bunlar arasında süt ürünleri, içecekler ve hububat bazlı ürünler üç ana grubu oluşturmaktadır (Campbell- Platt, 1994, Hancıoğlu ve Karapınar, 1998).

Fermentasyonun sağladığı pek çok avantaj bulunmaktadır. Fermentasyon;

- fitat, tripsin inhibitörleri, mikotoksinler gibi toksik bileşiklerin azaltılmasında,
- istenmeyen bileşenlerin yok edilmesinde,
- biyolojik olarak gıdanın protein, vitamin, gerekli aminoasit ve yağ asitleri ile zenginleştirilerek besinsel değerin artırılmasında,
- ürüne farklı yapı ve aroma kazandırılmasında,
- görünümün iyileştirilmesinde,
- pişirme için gerekli enerji ve zamanın azaltılmasında,
- laktik asit, asetik asit, alkolik ve alkali fermentasyonlar ile daha güvenli bir

ürün oluşturulmasında rol almaktadır (Campbell- Platt, 1994, Steinkraus, 1994, Hancıoğlu ve Karapınar, 1998, Charalampopoulos ve diğ., 2002a).

Dünyada fermente ürünler farklı üretim teknikleri, hammaddeler ve mikroorganizmalar kullanılarak üretilmektedir. Fermentasyonda rol alan mikroorganizmalar kullanılan hammaddenin mikroflorasında bulunmaktadır. Laktik asit bakterileri ve mayalar fermentasyonda önemli yer almaktadır. Uzak Doğu ülkelerindeki ürünlerde ise küfler daha önemli yer tutmaktadır (Hancıoğlu ve Karapınar, 1998).

2.3. Hububat Bazlı Fermente Gıdalar

Hububatlar dünyada tarım alanlarının %73'ünde yetişmektedir ve insan sağlığı için diyet lifi, protein, karbonhidrat, enerji, mineraller, vitaminler sağlayarak gıda üretiminin %60'ına katkıda bulunmaktadır (Charalampopoulos ve diğ., 2002a). Hububat threonin, lizin, triptofan gibi gerekli aminoasitler açısından sınırlıdır. Bu yüzden protein kalitesi düşüktür. Proteinlere bağlı olarak bulunan fitik asit, taninler ve polifenollerin varlığı da proteinlerin sindirimini etkilemektedir. Hububat duyuşsal özellikleri, sert yapıları nedeniyle süt ve süt ürünleri yanında zayıf kalmaktadır. Hububat çeşitlerinin besinsel değerini geliştirmek için fermentasyon en iyi yöntemdir (Oyewole, 1997). Fermentasyonlar laktik asit, alkali, etanol ve asetik asit fermentasyonu olmak üzere 4 tiptir.

Laktik asit fermentasyonu; hububat bazlı gıdaların güvenliği, besinsel değeri, raf ömrü, tat ve aromasına etki etmektedir. Hububatın fermentasyonu sonucu; fitik asit, tanin ve polifenol miktarı azalmakta, protein alımı gelişmekte, karbonhidrat değeri düşmekte, bazı aminoasitler sentezlenmekte, B grubu vitaminlerin alımı artmakta, fitatın enzimatik parçalanması için gerekli pH sağlanmakta böylece çözünebilir demir, çinko ve kalsiyum miktarı artmaktadır. Ayrıca gerekli aminoasitlerin sağlanması ile protein kalitesi de artmaktadır. Fermentasyon sonucu oluşturulan asitler, hidrojen peroksit ve antibiyotikler güvenliği sağlamaktadır (Lorri ve Svanberg, 1993, Nout ve Motarjermi, 1997, Blandino ve diğ., 2003). Riboflavin, tiamin, niacin gibi vitaminlerin miktarı artmakta ve mineral alınımı iyileşmektedir (Sanni ve diğ., 1999).

Son yıllarda hububat, fonksiyonel gıdalarda kullanım için incelenmektedir. Hububatın ve hububat bileşenlerinin fonksiyonel gıdalarda kullanım amaçları çeşitlidir. Bunlar probiyotik mikroorganizmaların gelişimi için fermente edilebilir substratlardır. Diyet lifi olarak pek çok fizyolojik etkisi bulunmaktadır.

Sindirilemeyen karbonhidratlar nedeni ile prebiyotiktir. Probiyotiklerin stabilitesini artırmak için enkapsülasyon maddesi olarak kullanılmaktadır (Charalampopoulos ve diğ., 2002a). Dirençli nişasta ve şeker alkolleri prebiyotik grubunda olup son yıllarda eğilim gösterilen konulardır. Dirençli nişasta kalın bağırsakta kolon mikroflorası tarafından prebiyotiklerin fermentasyon oranını etkilemektedir. Kolon mikroflorası tarafından fermente olarak yağ asitlerine dönüştürülmektedir. Hububatların çoğunluğu prebiyotik olarak önemli rol oynamaktadır (Tomasik ve Tomasik, 2003).

Laktik asit bakterilerinin hububatta iyi gelişimi insan kaynaklı probiyotik türlerin hububatta kontrollü koşullar altında kullanılması, probiyotik ve prebiyotik konseptini sağlayarak sağlığa yararlı ürünler elde edilmesine yol açacaktır. Bunun yanında hububat tanelerinin bileşimi ve proses koşulları, depolamada probiyotik türün dayanıklılığı, organoleptik özellikler, son ürünün besinsel değeri ve starter kültürlerin gelişimi de düşünülmelidir (Charalampopoulos ve diğ., 2002a).

Ayrıca taşıyıcı ortamın tamponlama kapasitesi ve pH değeri önemli faktörlerdir. pH' sı 3.5-4.5 arası olan gıdalar yüksek tamponlama kapasiteleri ile gastrik ortamın pH' sını artırarak ve probiyotik türün dayanıklılığını sağlamaktadır (Zárate ve diğ., 2000). Charalampopoulos ve diğ., (2002b) yaptığı çalışmada malt, buğday, arpa ekstraktlarının asidik koşullarda mideyi taklit ederek insan kaynaklı *Lb. plantarum* ve *Lb. acidophilus* türleri için koruyucu etki gösterdiğini belirtmiştir.

Kültürlerin canlı kalması probiyotik aktivitenin bir ölçüsüdür. Türün yüksek hücre popülasyonlarına ulaşması birinci koşuldur. Tüketim zamanında 10^7 hücre/ ml seviyesine ulaşmalıdır. Yüksek hücre sayısı ve asidifikasyon oranı, fermentasyon süresinin kısalmasına ve istenmeyen mikroorganizmaların gelişimini engelleyerek istenen türün gelişimini sağlamaktadır (Shortt, 1999). Bunun için substrata adapte olma türün seçimi için önem taşımaktadır.

Laktobasiller ve Bifidobakteriler karbonhidratlar, aminoasitler, peptitler, yağ esterleri, tuzlar, nükleik asit türevleri, vitaminler gibi kompleks besin ortamlarına gereksinim duyarlar. Hububat tanelerinin birincil karbonhidrat bileşenleri nişasta, diyet lifinin suda çözünen ve çözünmeyen bileşenleri, glukoz, fruktoz, sakkaroz, ksiloz gibi serbest şekerlerdir (Charalampopoulos ve diğ., 2002a). Tablo 2.1' de bazı hububat türleri ve süt bileşiminin karşılaştırılması verilmiştir. Buna göre hububatta bazı gerekli vitaminlerin ve minerallerin süte göre daha fazla olduğu ve diyet lifinin

bulunduğu, sütte ise fermente edilebilir karbonhidratların daha fazla olduğu görölmektedir. Tabloya göre hububatın ve hububat bazlı ürünlerin LAB ihtiyaçlarını karşılayacak, gelişimi ve canlılığını koruyacak uygun ortamlar olabileceği düşünülmektedir. Bu ürünlere bir örnek ise hububat bazlı geleneksel fermente içeceğimiz bozadır.

Tablo 2.1: Bazı hububat çeşitleri ve süt bileşiminin karşılaştırılması (Charalampopoulos ve diğ., 2002a).

Bileşen	Arpa	Pirinç	Mısır	Buğday	Darı	Süt
Protein (g)	13,1	7,5	8,9	13,3	9,9	3,5
Yağ (g)	1,9	1,9	3,9	2	2,9	3,5
Karbonhidrat (g)	77,4	77,4	72,2	71	72,9	4,9
Lif (g)	5,7	0,9	2	2,3	3,2	-
Kalsiyum (mg)	40	32	22	41	20	118
Demir (mg)	4	1,6	2,1	3,3	68	iz
Potasyum (mg)	400	214	284	370	430	144
Fosfor (mg)	330	221	268	372	311	93
Magnezyum(mg)	140	88	147	113	162	13
Tiamin (mg)	0,49	0,34	0,37	0,55	0,73	0,03
Riboflavin (mg)	0,31	0,05	0,12	0,12	0,38	0,17
Niasin (mg)	900	1,7	2,2	4,3	2,3	0,1

Hububat florasındaki bakteriler genellikle mezofiliktir. LAB arasından heterofermentatif çubuklar (*Lb. brevis*, *Lb. fermentum*), homofermentatif çubuklar (*Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. curvatus*, *Lb. salivarius*, *Lb. coryniformis*), homofermentatif koklar (*Lc. lactis*, *Pediococcus pentosaceus*, *Enterococcus faecalis*), heterofermentatif koklar (*Leuconostoc* ve *Weissella*) hububatta doğal olarak bulunmaktadır. *Lactobacillus* türleri *Leuconostoc* ve *Weissella*’ ya oranla daha fazladır (De Vuyst ve Neysens, 2004).

2.4. Boza

Boza; yabancı maddelerinden temizlenmiş darı, pirinç, buğday, mısır vb. hububatın kırma veya unlarından biri veya birkaçına içme suyu katılarak pişirilmesi ve beyaz

şeker ilave edilerek tekniğine uygun olarak alkol ve laktik asit fermentasyonlarına tabi tutulması ile hazırlanan bir mamuldür (Anonim, 1992).

Boza özellikle kış aylarında tüketilen bir besindir. Besin değerlerinden çok rahatlatıcı ve ferahlık verici etkisiyle aranmaktadır (Birer, 1987). Bozanın ferahlatıcı etkisi içinde kısmen çözünmüş olarak bulunan karbondioksitten ileri gelmektedir. Üretilen laktik asitten dolayı boza ekşi bir tat almakta ve bu ekşilik tüketilirken alkol tat ve aromasına oranla daha fazla hissedilmektedir (Pamir, 1961).

2.4.1. Bozanın Tarihçesi

Boza kelimesinin aslı Farsçada darı anlamına gelen “buze” kelimesidir. Boza kelimesi Türkçeye, Bulgarcaya, Sırpçaya, Hırvatçaya, Macar ve Arnavut dillerine ‘boza’, Rumenceye ‘bozan’, Yunancaya ‘bozas’, İngilizceye ‘boza’ veya ‘bosa’ (millet beer), Rus, Leh ve Çek dillerine ‘buza’, Fransızcaya ‘bouza’ veya ‘bosan’ (biere blanche), Almancaya ‘busa’ (Hiersebie), İtalyan, İspanyol ve Portekiz dillerine ‘buza’ şeklinde geçmiştir (Pamir, 1961).

Boza günümüzde bira olarak tüketilen içecek ile arasındaki büyük farka rağmen hububat kaynaklı fermente içecek olması nedeniyle en eski veya en basit bira çeşidi olarak kabul edilmektedir. Boza benzeri içkiler 8-9 bin yıllık bir geçmişe sahiptir. Sümerlerden günümüze gelen çivi yazılarında darıdan bira yapıldığı anlaşılmaktadır. Babil eczacılığında darı birası önemli yer tutmaktadır. M.Ö. 401 yılı sonunda Xenophon Doğu Anadolu’da bozanın çömlekçi çamurundan yapılmış yere gömülü kaplara konulduğunu görmüştür. Kaşgarlı Mahmut 1074 yılına ait Divan-ü Lügat-it Türk adlı eserinde Karahanlılar’ın bozaya ‘buhoun’ dediklerini belirtmiştir. Boza Osmanlı döneminde en parlak yıllarını yaşamıştır. XI. Yüzyılda İstanbul’da çok çeşitli boza türleri yapılmıştır. Ulema ve Şeyhlere sarı boza, yaseminli, çok kuvvetli diğer kokulu bozalar da yapılmış, içine pekmez, tarçın, karanfil, zencefil, hindistan cevizi gibi kokular da katılmıştır. II. Selim döneminde yapılan bozanın alkol içeriğinin yüksek olması nedeniyle çeşitli kısıtlamalar getirilmiştir. Osmanlı Devletinde bozahaneler meyhaneler gibi kullanıldığından zaman zaman kapatılmıştır. IV. Sultan Mehmet’in 1670 yılında getirdiği içki yasağı ile bozanın da keyif verici bir içecek olduğuna karar verilmiş ve bozahaneler kapatılmıştır (Tamer ve Çopur, 2004).

2.4.2. Bozanın Besinsel Değeri

Boza özellikle kış aylarında tüketilen bir besindir. Boza, birçok besin elementini içerdiğinden “sıvı ekmek” de denilmektedir. Ayrıca fermentasyon sırasında oluşan %0.3-0.5’ lik laktik asit ve karbondioksit bozaya aroma ve ferahlatıcı özellik kazandırmaktadır. Besin değerlerinden çok rahatlatıcı ve ferahlık verici etkisiyle aranan bozanın hem sağlık hem de besin olarak değeri vardır (Birer, 1987).

Boza ayrıca süt yapıcı özelliği nedeniyle hamile bayanlara ve vitamin kaynağı olarak sporculara tavsiye edilmektedir. Kolera hastalığı ve öksürük tedavisinde de etkili olduğu belirtilmektedir. 100 ml boza için besin değerleri tablo 2.2’ de gösterilmiştir.

Tablo 2.2: 100 ml boza için besin değerleri (Güven ve diğ., 2004)

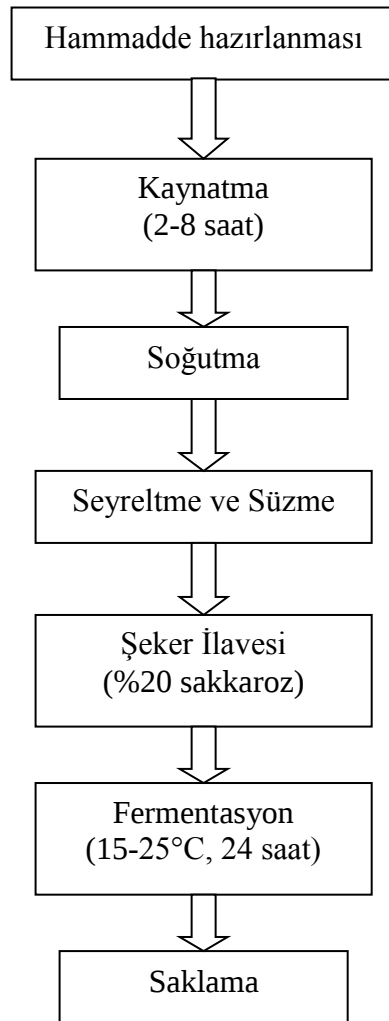
Protein	3,5 g
Yağ	0,5 g
Karbonhidrat	57,5 g
Kalsiyum	29 mg
Demir	1,3 mg
Fosfor	97 mg
Çinko	1 mg
Sodyum	1 mg
A vitamini	6,9 I.U.
Thiamin (B1)	0,09 mg
Riboflavin (B2)	0,05 mg
Niacin	1,16 mg
Kolesterol	1 mg
Kalori	100 kcal

Bozanın antimikrobiyal etkisi de bulunmaktadır. Aktuğ-Gönül ve Hancıoğlu (1999) tarafından yapılan çalışmada bozanın ve bozadan elde edilen izolatların *E.coli* O7:H157, *Salmonella typhimurium* ve *Staphylococcus aureus* üzerine etkileri incelenmiştir. pH’ daki azalmaya bağlı olarak 12 saat sonunda *Salmonella*

typhimurium ve *Staphylococcus aureus*, 32 saat sonunda da *E.coli* O7:H157 inaktive olmuştur.

2.4.3. Boza Üretimi

Boza üretimi hammaddelerin hazırlanması, kaynatma, soğutma, seyreltme, süzme, şeker ilavesi ve fermentasyon aşamalarından oluşmaktadır. Şekil 1' de boza üretimi proses basamakları verilmiştir.



Şekil 2.1: Boza üretimi proses basamakları

2.4.3.1. Hammaddelerin Hazırlanması

Ülkemizde boza yapımı için daha çok darı tercih edilmektedir. Bunun yanında mısır, buğday, pirinç, bulgur gibi hububat da kullanılabilir. Hammaddeler ayırma eleklerinde taş, toprak, gibi yabancı maddelerden ayrıldıktan sonra kırma

değirmeninde öğütölür. Ayırma eleğinden geçirilerek yabancı maddeler, kavuz ve kepek kısmı ayrılır. Böylece elde edilen irmik boza yapımında kullanılır. Aşağıda boza üretim basamakları ayrıntılı olarak açıklanmıştır (Birer, 1987, Köse ve Durak, 1998, Arıcı ve Dağlıoğlu, 2002, Tamer ve Çopur, 2004).

2.4.3.2. Kaynatma

Eskiden büyük bakır kazanlarda yapılan kaynatma işlemi günümüzde paslanmaz çelik kazanlarda yapılmaktadır. Kazana önce hammaddenin 4-6 katı kadar su ilave edilip kaynatılır. Hammaddelerin eklenmesinden sonra hububatta su alıp şişme, kabarma ve çirilenme başlar. Topaklanma ve dibe tutmayı önlemek için devamlı karıştırılır. Kaynatma sırasında kaybolan su yerine tekrar kaynar su eklenerek işlem kaynatma sıcaklığı ve hammadde tipine göre 2-8 saat kadar devam ettirilir.

2.4.3.3. Soğutma

Kaynatılan pişmiş hammadde bulunduğu kaptaki haline bırakılarak veya büyük bozahanelerde mermer soğutma teknelerine alınarak 2-12 saat süreyle soğumaya bırakılır.

2.4.3.4. Seyreltme ve Süzme

Hububat kaynatıldıktan sonra elde edilen ham bozaya “mayşe” denmektedir. Soğutulmuş koyu mayşe karıştırılarak yeteri kadar su eklenerek seyreltilir. Süzme çok ince gözenekli pirinç eleklerde yapılır. İşletmelerde ise işlem otomatik çalışan ağaç tokmaklar yardımıyla yapılır. Tokmaklar aşağı yukarı hareket ederek mayşeyi döverler. Elekten fiçıya geçen süzülmüş sıvıya “şekersiz ham boza” denir.

2.4.3.5. Şeker İlavesi

Laktik asit bakterileri ve mayaların fermentasyonu gerçekleştirebilmeleri için ortama % 20 oranında sakkaroz partiler halinde ilave edilir. Kolay erimesi için toz şeker tercih edilmektedir. “Şekerli ham boza” aynı kaptaki 15-18 saat dinlenmeye bırakılır.

2.4.3.6. Fermentasyon

Bozada iki tip fermentasyon aynı anda görölmektedir. Birincisi laktik asit bakterilerinin rol aldığı laktik asit üretimi ile sonuçlanan ve ekşi tadı sağlayan laktik asit fermentasyonu, diğeri mayaların rol aldığı, karbondioksit gazı habbecikleri oluşumuna ve hacim artışına neden olan alkol fermentasyonudur. Fermentasyon 24 saatten fazla olursa alkol miktarı yükselmektedir. Ülkemizde üretilen bozalarda alkol

miktarı % 1 civarında iken bu diğer ülkelerde % 6' lara kadar çıkmaktadır. pH değeri de fermentasyon sonucu düşmektedir (Birer, 1987, Köse ve Durak, 1998, Arıcı ve Dağlıoğlu, 2002, Tamer ve Çopur, 2004). Tablo 2.3'de 24 saatlik boza fermentasyonu sırasında pH, asidite, alkol, laktik asit bakterisi ve maya miktarlarındaki değişim gösterilmiştir.

Tablo 2.3: 24 saatlik boza fermentasyonu sırasında pH, asidite, alkol, laktik asit bakterisi ve maya miktarlarındaki değişimi (Karapınar ve Hancıoğlu, 1997)

Fermentasyon süresi	pH	Asidite (%)	Alkol (%)	LAB/ml (cfu)	Maya/ml (cfu)
0 saat	6.13	0.02	0.02	7.6×10^6	2.25×10^5
4 saat	5.85	0.04	0.02	8.6×10^7	3.9×10^5
8 saat	4.77	0.05	0.02	3.4×10^8	7.4×10^5
24 saat	3.48	0.27	0.79	4.6×10^8	8.1×10^6

Fermentasyonda maya olarak daha önce üretilen boza kullanılır. Maya miktarı bozanın tüketileceği zaman ve sıcaklığa göre değişir. Şekerli bozanın 16-17 kg' ı için 300-500 g maya kullanılmaktadır. En fazla %2-3 oranında katılan maya, 15-25°C' de 24 saat kadar sonra bozanın içilecek hale gelmesini sağlar. Mevsim başında boza bulunmadığında starter olarak ekşi hamur veya yoğurt da kullanılabilir (Birer, 1987, Köse ve Durak, 1998, Arıcı ve Dağlıoğlu, 2002, Tamer ve Çopur, 2004).

2.4.3.7. Saklama

Bozadaki bakteri ve maya faaliyetlerini minimumda tutmak gerekmektedir. Bunun için boza 15°C' nin altında tutulup satışa sunulmaktadır (Köse ve Durak, 1998).

2.5. Ekzopolisakkaritler (EPS)

Pek çok bakteri hücre duvarı için stres koşullarından korunma, su kaybını önleme, fagositoza ve faj saldırılarına, antibiyotik ve toksik bileşiklere karşı korunma, yüzeylere tutunma, hücreleri tanıma, farklı ekosistemlerde kolonize olmaları için biyofilm oluşturma, patojenite gibi birçok biyolojik fonksiyonda görev alan polisakkaritler üretmektedir. Bakteriyel EPS' ler üretici mikroorganizma için enerji kaynağı değildir (Jolly ve diğ., 2002, Ruas-Madiedo ve diğ., 2002). O-antijen lipopolisakkaritler, lipoteikoik asitler, kapsüler polisakkaritler ve ekzopolisakkaritler

(EPS), hücre yüzeyi polisakkaritlerini oluşturmaktadır. EPS' ler hücre yüzeyine gevşek bağlı olmakta ya da ortama salınmakta, diğer çeşitler yüzeye bağlı olmaktadır (Jolly ve diğ., 2002).

Uzun zincirli, yüksek molekül ağırlıklı olan ekzopolisakkaritler suda çözünerek gıda formülasyonlarında kalınlık veya jel özelliği veren polimerlerdir. İkincil olarak da gıdalarda stabilizatör, emülsifikatör olarak, sineresisin önlenmesinde, film oluşumunda kullanılmaktadır. Ayrıca EPS' lerin teknolojik özelliklerinin yanında antitümör, antiülser, prebiyotik etkileri bulunmakta, kolesterolü düşürmede ve immün sistemin düzenlenmesinde etkili olmaktadır (De Vuyst ve Degeest, 1999).

EPS' ler dallanmış, tekrarlanan şeker veya şeker türevlerinden oluşan uzun zincir polisakkaritlerdir. Bu şeker birimleri genelde farklı oranlarda bulunan glukoz, galaktoz, ramnoz, glukuronik asit, fukoz, N-asetil glukozamin ve N-asetil galaktozamindir. Gelişimleri sırasında çevrelere salınmakta, hücre yüzeyine devamlı bağlı kalmamaktadır (Boels ve diğ., 2001, Welman ve Maddox, 2003). EPS tekrarlanan birimlerinin arasında glikozidik bağların oluşumu için glikoziltransferazlar anahtar enzimlerdir (Jolly ve diğ., 2002). Glikoziltransferazlar; (i) sakkarozun hidrolizi (ii) 2-6 arası polimerizasyon derecesine sahip oligosakkaritlerin oluşumu (iii) polisakkaritlerin oluşumu olmak üzere 3 reaksiyonu katalizlemektedir (Tieking ve Ganzle, 2005).

Ekzopolisakkaritler homopolisakkaritler ve heteropolisakkaritler olarak 2 tiptir. Tek tip şeker birimlerinden oluşan homopolisakkaritler de sırasıyla glukoz ve fruktoz birimlerinden oluşan glukon ve fruktan olmak üzere 2' ye ayrılmaktadır. Sentezi sakkaroz gibi spesifik substrat gerektirmektedir ve monosakkarit birimlerin eklenmesi hücre dışında gerçekleşmektedir. Heteropolisakkaritler ise farklı şeker birimlerinden oluşmaktadır. Molekül ağırlıkları 4×10^4 - 6×10^6 Da arası değişmektedir (De Vuyst ve diğ., 1998, De Vuyst ve Degeest, 2001, Degeest ve diğ., 2001, Ruas-Madiedo ve diğ., 2002, Welman ve Maddox, 2003). Heteropolisakkaritler pek çok çeşit mezofilik ve termofilik LAB tarafından homopolisakkaritlerden farklı olarak sentezlenmektedir. Öncül tekrarlanan birimler hücre içinde oluşmakta ve izoprenoid glikozil taşıyan lipidler proste görev yapmakta, tekrarlanan birimler hücre dışında polimerize olmaktadır (Ruas-Madiedo ve diğ., 2002).

EPS tipleri sentez mekanizmasına ve gerekli öncül maddelere göre değişmektedir. Homopolisakkaritler ve heteropolisakkaritler hücre içi şeker nükleotit öncüllerinden sentezlenen düzensiz tekrarlanan birimlerden oluşmaktadır. Hücre dışı homopolisakkaritlerin sentezinde polimerizasyon reaksiyonu hücre dışı glikoziltransferazlarla gerçekleşmektedir. Glikoziltransferazlar monosakkaritleri, uzayan polisakkarit zincirine eklemektedir (Boels ve diğ., 2001). Heteropolisakkaritler sitoplazmada glikoziltransferazlarla oluşturulmakta, dışarı salınmadan önce de hücre dışında polimerize edilmektedir. Heteropolisakkaritlerin yapısı türe özgüdür. EPS' ler monosakkarit kompozisyonu, birimler arası bağlar, yan zincirlerin varlığı ile farklılaşmaktadır. Dallanmanın uzunluğu ve kompozisyonu reolojik özellikleri etkilemektedir (Jolly ve diğ., 2002).

EPS üretimi bakteri gelişim fazı, besiyeri bileşimi, pH ve sıcaklık gibi parametrelerden etkilenmektedir. Farklı EPS' ler tek bir tür tarafından farklı ortamlarda üretilmektedir (Duboc ve Mollet, 2001, Jolly ve diğ., 2002). EPS üretimi gelişme fazlarına bağlıdır. Logaritmik fazda EPS verimi artmakta ve durağan fazda üretim olmamaktadır. Kültür koşulları ve karbon kaynakları da sentezde etkili olmaktadır. Düşük inkübasyon sıcaklıkları EPS üretimini olumlu etkilemektedir (Tallon ve diğ., 2002).

EPS üreten GRAS statüsündeki mikroorganizmalar arasında *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* ve *Leuconostoc* gibi LAB cinsleri bulunmaktadır (Boels ve diğ., 2001). Süt ürünlerindeki *Propionibacteria* ve *Bifidobacteria* yeterli miktarda EPS üretmekte, gıda endüstrisi açısından alternatif polimer kaynakları olup gıda katkısı olarak kullanılmaktadır (De Vuyst ve diğ., 1998, Degeest ve diğ., 2001, De Vuyst ve diğ., 2001). Bu mikroorganizmalar reoloji, yapı ve ağız tadını iyileştirmek amacıyla özellikle fermente süt ürünlerinde *in situ* (yerinde) EPS üretimi için de kullanılmaktadır (Degeest ve diğ., 2001, De Vuyst ve diğ., 2001). LAB' ların ürettiği heteropolisakkaritlerin gıda katkısı olarak veya fonksiyonel starter kültür olarak yerinde üretimin gerçekleştiği kontrollü kullanımı, güvenli ve doğal ürünlerin oluşmasını sağlamaktadır. Bu ürünlerde reolojik özelliklerin, yapının, su salma kapasitesinin ve dayanıklılığın geliştirilmesine etki etmektedir. Ayrıca EPS sentezinde oluşturulan yapının zincir uzunluğunda yapılan oynamalarla oligosakkarit veya kısa zincirli yapıların gelişmesine olanak sağlamaktadır. Oligosakkaritlerin

gastrointestinal sistemde olumlu etkileri bulunmaktadır. Bifidobakterilerin gelişimini düzenlemektedir (De Vuyst ve diğ., 2001).

LAB tarafından üretilen EPS yoğurt, peynir, fermente krema ve sütlü tatlılar gibi fermente süt ürünlerinin reoloji ve yapısını geliştirmede önemli rol almaktadır (Duboc ve Mollet, 2001). EPS' lerin kendine özgü tatları yoktur. Ama fermente süt ürünü vizkoz hale geldiği için tüketim sırasında ağızda kalma süresi artmakta, tat reseptörleri ile teması artmakta ve ürün tadının algılanmasını önemli derecede artmaktadır (Jolly ve diğ., 2002, Welman ve Maddox, 2003).

Süt ürünlerinde tüketici tercihi için yumuşaklık ve kremi yapı önemlidir. EPS' ler dokuyu oluşturan ve stabilize eden moleküllerdir. Son ürünün vizkozitesini artırmakta, suyu bağlayarak ve protein, misel gibi süt bileşenleri ile etkileşime girerek kazein ağının yapısını güçlendirmektedir. Sonuç olarak EPS sineresisi azaltmakta ve ürün dayanıklılığını artırmaktadır (Duboc ve Mollet, 2001).

EPS üreten LAB peynir üretiminde de önem taşımaktadır. *Lactobacillus helveticus*' a ait birkaç suş suyun üründe tutulması için mozzarella peyniri üretiminde kullanılmaktadır. Yoğurtta ise “ropy” türler etraflarını saran EPS tabakası ile protein matriksine bağlanmakta ve yapısını değiştirmektedir. Bu bakteriler jel yapının sıklığını azaltmaktadır (Jolly ve diğ., 2002).

Yoğurt üretiminde yapının iyileştirilmesi için yağ, protein gibi sütün katı maddelerinin miktarı artırılmakta veya pektin, nişasta, aljinat gibi stabilizatörler eklenmektedir. Bu yaklaşımlar tüketicinin düşük yağlı, düşük şekerli, az miktarda gıda katkısı içeren ürünlere talebi karşısında sınırlı kalmaktadır. Bu duruma karşı starter kültür olarak kullanılan LAB tarafından doğal olarak üretilen EPS' lerden istifade edilmektedir (Duboc ve Mollet, 2001, Jolly ve diğ., 2002, Welman ve Maddox, 2003).

EPS' lerin önemli kalınlaştırma özelliği bulunmaktadır ve düşük konsantrasyonlarda bile fermente gıdaların yapısını ve reolojisini etkilemektedir. LAB tarafından üretilen EPS' ler; miktar, kimyasal kompozisyon, molekül büyüklüğü, yükler, sertlik, yan zincirlerin varlığı, uzaysal düzenlenişi, proteinlerle etkileşime girme yeteneği açısından farklılaştığı için EPS konsantrasyonu ve görünür vizkozite arasında açık bir ilişki bulunmamaktadır (Jolly ve diğ., 2002).

EPS' nin vizkoziteyi artırma derecesi kültür türleri arasındaki farklara, inkübasyon koşullarına besiyerindeki katı madde miktarına ve vizkozite ölçümlerine bağlıdır. Bunun dışında vizkozite EPS miktarından etkilenmeyebilmekte, oldukça farklı yapıdaki EPS besiyerine farklı reolojik özellikler kazandırabilir. Ayrıca süt proteinleri (kazein) ile etkileşim görülebilmektedir. *Lc. lactis ssp. cremoris*' e ait 2 suş ile yapılan çalışmada T₅ suşu 600 mg/L EPS üretirken ölçülen vizkozite 20 mPa/s olarak belirlenmiştir. MLS 96 suşu ise 220 mg/L EPS üretilip, vizkozite 800 mPa/s olarak saptanmıştır. İki kültür arası fark 24 saatlik fermentasyon sonunda 18°C' de ölçülen pH' ya bağlanmıştır. T₅ suşunda pH 6.3, MLS 96 suşunda ise 4.7 olarak ölçülmüştür. pH 6.3' de kazeinler misel şeklinde olduğu halde pH 4.7' de çökmüştür. T₅ suşunki daha küçük olan moleküler ağırlığın da sonucu etkileyebileceği belirtilmiştir (Cerning ve diğ., 1992).

EPS' lerin teknolojik özellikleri yanında sağlık üzerine etkileri de bulunmaktadır. EPS' ler gastrointestinal sistemde daha uzun kalmakta ve böylece probiyotik bakterilerin kolonizasyonunu artırmaktadır. Ayrıca immün sistemi düzenleyici, kolesterol düşürücü ve antitümör etkileri bulunmaktadır (Welman ve Maddox, 2003). Bazı EPS' ler bağırsakta kolon mikroflorası tarafından parçalanarak kısa zincirli yağ asitlerinin oluşumunu sağlamaktadır. Bunlar epiteliyal hücrelere enerji sağlamak ve bazıları kolon kanserinin oluşumunu önlemektedir (Jolly ve diğ., 2002). Sindirilemeyen karbonhidratlar özellikle fruktooligosakkaritler prebiyotik olarak görev yapmaktadır (Ruas-Madiedo ve diğ., 2002).

Lactobacillus plantarum gibi bazı LAB tarafından üretilen polisakkaritler içindeki fosfat grupları lenfositlerin aktivasyonunda ve antitümör aktivitede gerekmektedir. Polimere negatif yük veren fosfat grupları metal iyonları gibi pozitif yüklü toksik bileşikler yakalamada rol oynamaktadır (Tallon ve diğ., 2003).

LAB tarafından üretilen EPS T-lenfositlerinin çoğalmasını, makrofaj aktivasyonunu ve sitokinlerin (interferon- γ , interleukin-1 α) üretimini sağlayarak immün sistemde görev yapmaktadır. Genelde in vitro çalışmalar yapılmasına rağmen in vivo çalışmalar da bulunmaktadır. Kefirden elde edilen EPS ağız yoluyla verildiğinde tümör gelişimini yavaşlatmıştır. Liyofilize *Lc. lactis subsp. cremoris* KVS 20 kültürü intraperitoneal olarak enjekte edilmesi ile yapılan çalışmada farede Sarkoma 180 tümörlerinin gelişimi salınan slime formdaki materyalin immün aktivitesi ile

engellenmiştir. *Lb delbrueckii* subsp. *bulgaricus* OLL 1073R-1 antitümör aktivitesi göstermiştir (Ruas-Madiedo ve diğ., 2002).

Pediococcus damnosus ve *Lactobacillus brevis* β -glukan yapısında EPS üretmektedir. β -glukanların kolesterol düşürme gibi yararlı etkileri bulunmaktadır ve diyet lifi olarak tanımlanmaktadır. Diyet liflerinin yenilenen tanımı bitkisel polisakkaritlerin analogları olan mikroorganizmalardan elde edilen polisakkaritleri de kapsamaktadır. Bu mikroorganizmalar; starter kültür olarak fermente ürünlerde diyet lifinin artırılması amacı ile üretilen ürünlerde önem taşımaktadır. Diyet lifince zengin gıdalar tansiyon düşürmede yararlıdır (Mårtensson ve diğ., 2003).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Örneklerin Sağlanması

Boza örnekleri, İstanbul'daki marketlerde satışa sunulan 3 ayrı firmadan temin edilmiştir. Alınan örneklerde kimyasal, mikrobiyolojik ve biyokimyasal analizler gerçekleştirilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Fiziksel ve Kimyasal Analizler

Bozada katı madde, protein, kül, toplam asitlik, pH, indirgen ve toplam şeker, ekzopolisakkarit ve su aktivitesi tayinleri yapılmıştır. Tüm analizler paralel olarak yapılmıştır.

3.2.1.1. Katı Madde Tayini

Katı madde tayini TS 1135'e göre etüv yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

3.2.1.2. Protein Tayini

Protein tayini Kjeldahl 1030 protein tayin cihazı kullanılarak Kjeldahl metoduna göre yapılmıştır. Azot miktarı 6,25 ile çarpılarak protein miktarı bulunmuştur.

3.2.1.3. Kül Tayini

TS-1511'e göre 550°C' de yakma metodu kullanılarak yapılmıştır.

3.2.1.4. Toplam Asitlik Tayini

Toplam asitlik tayini Thyagaraja ve diğ. (1992)' e göre yapılarak % laktik asit cinsinden ifade edilmiştir. 10 g boza örneği 25 ml su ile seyreltilip 100 ml' lik erlene alınmış ve üzerine birkaç damla fenolfitaleyn ilave edilmiştir. Örnekler iyice karıştırılarak 0.1 N NaOH ile açık pembe renk oluşana kadar titre edilmiştir.

3.2.1.5. pH Tayini

TS-1728'de belirtilen yöntemle göre Jenway 3010 tipi pH metre kullanılarak tayin edilmiştir.

3.2.1.6. İndirgen ve Toplam Şeker Tayini

İndirgen ve toplam şeker tayini TS-7780'e göre yapılmıştır. Çalışmada TS' de belirtilen şeker ve invert şeker çözeltileri yeterli olmadığından % 20'lik şeker çözeltisi ve % 10'luk standart invert şeker çözeltileri kullanılmıştır. Kiremit rengi çökelti elde edilene kadar titrasyon yapılmıştır.

3.2.1.7. Ekzopolisakkarit (Toplam Karbonhidrat) Tayini

Ekzopolisakkarit tayini fenol sülfürik asit metoduna göre glukoz standart olarak kullanılarak spektrofotometrede (Philips, PU8625) gerçekleştirilmiştir (Dubois ve diğ., 1956). 0-100 µg/ml arası değişen konsantrasyonlarda glukoz standardı hazırlanmış, 1 g/L olarak alınan örnekten uygun dilüsyonlar hazırlanarak ölçüm yapılmıştır.

3.2.1.8. Su Aktivitesi Tayini

Su aktivitesi tayini Decagon PawKit su aktivitesi ölçüm cihazı kullanılarak yapılmıştır.

3.2.2. Mikrobiyolojik Analizler

3.2.2.1. Laktik Asit Bakterilerinin Sayımı

Laktik asit bakterilerinin (LAB) sayımında 25 g boza örneği aseptik koşullarda 225 ml steril fosfat tamponuna transfer edilerek uygun dilüsyonlar hazırlanmıştır. Uygun dilüsyonlardan Man Rogosa ve Sharpe (MRS, Merck), Rogosa (Merck) ve M17 (Merck) katı besiyerlerine yayma plak yöntemi ile paralel ekimler yapılmıştır. İnkübasyonda sıcaklık derecesi olarak 30°C, 37°C ve 45°C kullanılmış, 48 saat sonunda petrilere laktik asit bakteri sayımı gerçekleştirilmiştir. Toplam LAB kob/g cinsinden belirlenmiştir.

3.2.2.2. Bozadan Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu

Laktik asit bakterilerinin izolasyonu için 3.2.2.1’ de elde edilen petrilerdeki koloniler stereomikroskop altında incelenerek farklı koloni morfolojisine sahip olan izolatlar, tanımlamaları için MRS, Rogosa, M17 agarlara sürme ekim yapılarak saflaştırılmıştır. Kültürler, 4°C’ de MRS yatık agarda ve %10’ luk yağsız süttozu besiyerinde, -20°C’ de ise %20 gliserol içeren MRS brot besiyerinde saklanmıştır.

3.2.2.3. Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması (İdentifikasyonu)

Sayımı yapılan MRS, Rogosa, M17 agar plaklardan seçilen izolatlar, izole edildikleri besiyerlerine sürme ekim yapılarak saf kültür haline getirilmiştir. Elde edilen saf kültürlerle gram boyama, katalaz ve oksidaz testleri uygulanmıştır. Gram boyamada pozitif, katalaz ve oksidaz testlerinde negatif sonuç veren izolatların tanımlanması API CHL 50 kiti (BioMerieux, Fransa) kullanılarak yapılmıştır.

3.2.3. Biyokimyasal Analizler

3.2.3.1. Gram boyama

Gram boyamada 18-24 saatlik saf kültürler önce 1-2 dakika kristal violet ile muamele edilmiş ve boya saf su ile akıtılmıştır. Boyanın etkisini artırmak için iyot çözeltisi kullanılmış ve alkol ile yıkanmıştır. Karşıt boya olarak 30 saniye kadar karbol fuksin ile boyanıp yıkanan preparatlar immersiyon yağı altında incelenmiştir. Mor renkte görülen hücreler gram pozitif olarak kabul edilmiştir.

3.2.3.2. Katalaz Testi

Katalaz testi Harrigan (1998)’ a göre yapılmıştır. MRS, Rogosa, M17 besiyerlerinden elde edilen izolatların 48 saatlik kültüründen bir öze alınarak temiz bir lam üzerinde 1 damla %3’ lük hidrojen peroksit çözeltisi ile karıştırılmıştır. Hava kabarcığı çıkışı pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

3.2.3.3. Oksidaz Testi

Harrigan (1998)’ a uygun olarak oksidaz testinde (Fluka 70439) anlatıldığı şekilde yapılmıştır. N,N-dimetil-p-fenilendamil oksalat ve α -naftol emdirilmiş disklerle öze ile koloni yayılmış, mor-mavi renk oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

3.2.3.4. İzolatların Karbonhidrat Metabolizmalarının Belirlenmesi

Bozadan izole edilen mikroorganizmaların karbonhidrat metabolizmalarının belirlenmesi için API 50 CH kiti kullanılmıştır. Bu kit, anaerobik ve aerobik zonları bulunan 50 mikrotüpten oluşmaktadır.

İlk mikrotüp substrat içermemekte ve negatif kontrol olarak kullanılmaktadır. Geriye kalan mikrotüpler karbonhidrat ailesi ve türevlerine (heterosidler, polialkoller, üronik asitler) ait belirlenmiş miktarda susuz (dehydrate) substrat içermektedir. Bu substratlar çeşitli biyokimyasal yollarla metabolize edilebilmektedir. Seçilen ortam içinde yer alan bir pH indikatörü aracılığıyla saptanan asit üretimine bağlı olarak renk değişimleri gözlenmektedir.

İnokülasyon maddesi olarak kullanılan API 50 CHL medium *Lactobacillus* ve ilişkili cinslerin identifikasyonu için hazırlanmış bir besiyeridir. API 50 CH kiti ile 49 karbonhidratın fermentasyon özellikleri tespit edilebilmektedir. Besiyeri içinde test edilecek mikroorganizma ile bir süspansiyon hazırlanır ve kitteki her tüp inoküle edilir. İnkübasyon sırasında karbonhidratın fermentasyonu ile asidik ortam oluşur ve buna bağlı olarak pH düşer. Bu ortam değişikliği indikatörler sayesinde tespit edilir. Bu sonuçlar süşun biyokimyasal profilini ortaya koymakta ve tanımlamada kullanılmaktadır.

Bozadan izole edilen kültürlerin saflığı kontrol edildikten sonra MRS agar besiyerinde kültürü yapılarak 24 saat süreyle izole edildiği sıcaklığa bağlı olarak 30°C veya 37°C’ de inkübe edilmiştir. Kiti uygulamak için 45°C’ den izole edilen süşların da 37°C’ de gelişebilirliği kontrol edilmiştir. 24 saatlik kültürlerdeki tüm bakteriler eküvyon yardımıyla alınmış ve 2 ml steril distile sudan oluşan süspansiyon ortamında yoğun bir süspansiyon hazırlanmıştır. 5 ml steril distile sudan oluşan süspansiyon ortamına süspansiyondan belli sayıda damlatılarak 2 McFarland’ a eşdeğer türbidite seviyesine sahip süspansiyon elde edilmiştir. Damla sayısı ‘n’ olarak kaydedilmiştir. API 50 CHL medium ampülüne damla sayısının 2 katı kadar (2n) süspansiyon ilave edilerek inoküle edilmiştir. Medium karıştırılarak homojenize edilmiştir. Kitin içindeki tüpler API 50 CHL medium ile inoküle edilmiş ve tüm tüpler mineral yağı ile kaplanmıştır. 48 saat süreyle aerobik olarak 30° C ya da 37° C’ de inkübe edilmiştir. Tüm testlerin 24 ve 48 saat sonunda okumaları yapılmıştır. Medium içindeki bromkrezol moru indikatörünün sarıya dönmesiyle ortaya çıkan

asidifikasyon ile testin pozitifliği ortaya çıkmaktadır. 25 nolu tüpteki eskülin için de mordan siyaha dönüşüm pozitif olarak değerlendirilmiştir. API kitlerinin sonuçları Apilab Plus Software ile karşılaştırılmıştır (Rocha ve Malcata, 1999).

3.2.3.5. İzolatların Enzimatik Aktivitelerinin Belirlenmesi

Bozadan elde edilen izolatların enzimatik aktivitelerinin belirlenmesinde API ZYM (BioMerieux, Fransa) enzim kiti kullanılmıştır. Her enzim için renkler belirlenmiş olan kitte spesifik rengin oluşumu pozitif sonuç, açık sarı veya reksiz olanlar negatif sonuç olarak değerlendirilmektedir.

3.2.4. Boza Laktik Florasını Oluşturan Suşlardan Ekzopolisakkarit İzolasyonu ve Saflaştırılması

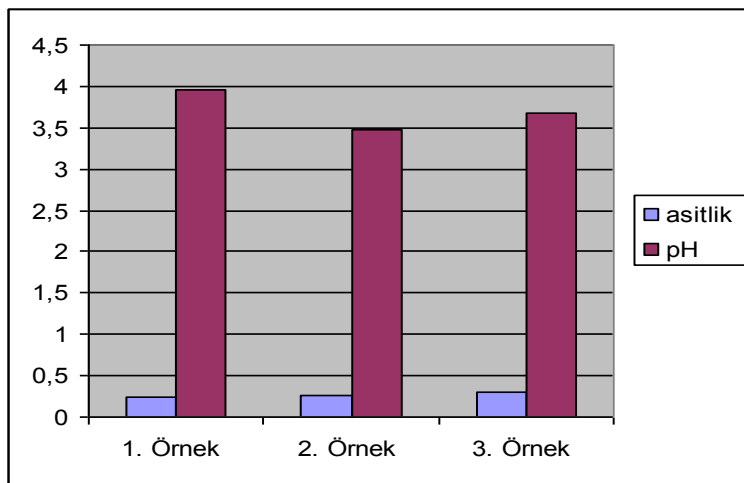
Boza laktik florasını oluşturan suşlardan ekzopolisakkaritlerin izolasyon ve saflaştırılması için Cerning ve diğ. (1994), van Geel-Schutten ve diğ. (1998) ve Smitinont ve diğ. (1999)' nin metotları adapte edilerek gerçekleştirilmiştir.

Ekzopolisakkaritlerin izolasyonu için saklanan kültürler önce MRS brot besiyerinde 24 saat süreyle izole edildikleri sıcaklıklarda inkübe edilerek aktive edilmiştir. Daha sonra normalde 20 g/l glukoz içeren MRS brot besiyeri yerine karbonhidrat kaynağı olarak 100 g/l sakkaroz içeren sıvı modifiye- MRS (m-MRS) besiyeri hazırlanmıştır. Şekerler ayrı olarak otoklavlanmıştır. Kültürler 10 ml' lik m- MRS besiyerinde 37°C' de anaerobik olarak 3 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda kültürler 6000 rpm' de 20 dakika boyunca santrifüj edilerek (Hettich, Universal 16 A) hücreler uzaklaştırılmıştır. Süpernatanta 3 hacim etanol (Riedel-deHaën) ilave edilerek 4°C' de 24 saat bekletilerek çöktürülmüştür. Çökelti 6000 rpm' de 20 dakika santrifüj edilerek toplanmıştır. Çökelti 10 ml suda çözündürülerek distile suya karşı 4°C' de 24 saat diyaliz edilmiştir (Sigma, MA>12000). Saflaştırılan EPS' de toplam şeker içeriği fenol sülfürik asit metodu ile glukoz standart olarak kullanılıp belirlenmiştir (Dubois ve diğ., 1956).

IV. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Kimyasal Analiz Sonuçları

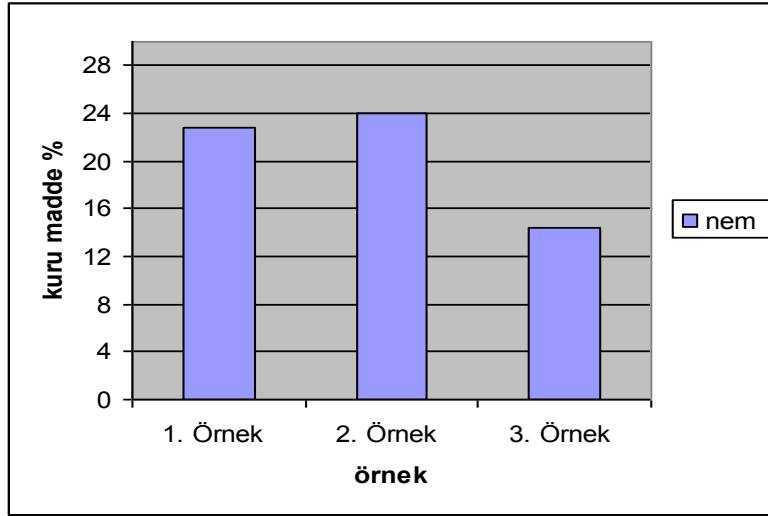
Boza örneklerinin % asitlik ve pH değerleri Şekil 4.1’ de gösterilmiştir.



Şekil 4.1: Boza örneklerinin % asitlik ve pH değerleri

Yapılan analizlerde boza örneklerinin pH değerleri 3 örnek için sırasıyla 3.95, 3.47 ve 3.68, asitlik değerleri ise % 0.25, 0.27 ve 0.3 olarak saptanmıştır. Asitlik değerleri % 0.2-0.5 arası olup boza standardında yer alan tatlı boza özelliklerine uymaktadır. Sonuçlar Kozat (2000)’ in bulduğu % 0.32-0.64 değerlerinden daha düşük çıkmıştır. Pamir (1961)’in çalışması ile de (% 0.28-0.46) tek örnek açısından uyum göstermektedir.

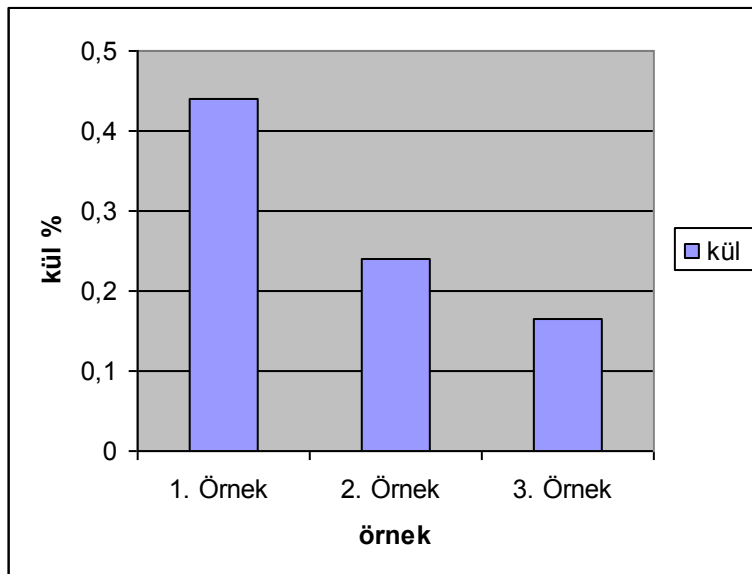
Boza örneklerinin % kuru madde değerleri Şekil 4.2' de gösterilmiştir.



Şekil 4.2: Boza örneklerinin % katı madde değerleri

Kuru madde miktarı tayini sonuçları sırasıyla % 22.74, 24.07 ve 14.39 olarak saptanmıştır. TS' de bozanın kuru madde miktarının en az % 20 olması gerektiği belirtilmiştir. Bu sonuca göre 1. ve 2. örnekler standarda uyarken 3. örnek uymamaktadır. Yavuz (2000) katı madde miktarını %23.40, Kentel (2001) ortalama % 25,95 olarak bulmuştur.

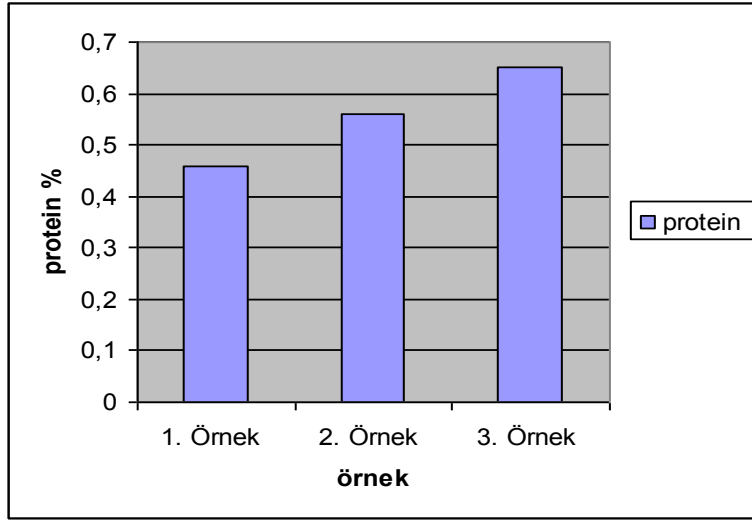
Boza örneklerinin % kül değerleri Şekil 4.3' de gösterilmiştir.



Şekil 4.3: Boza örneklerinin % kül değerleri

Kül miktarı 3 örnek için % 0.44, 0.24 ve 0.17 olarak saptanmıştır. Yavuz (2000) ise kül miktarını 0.33 olarak saptamıştır.

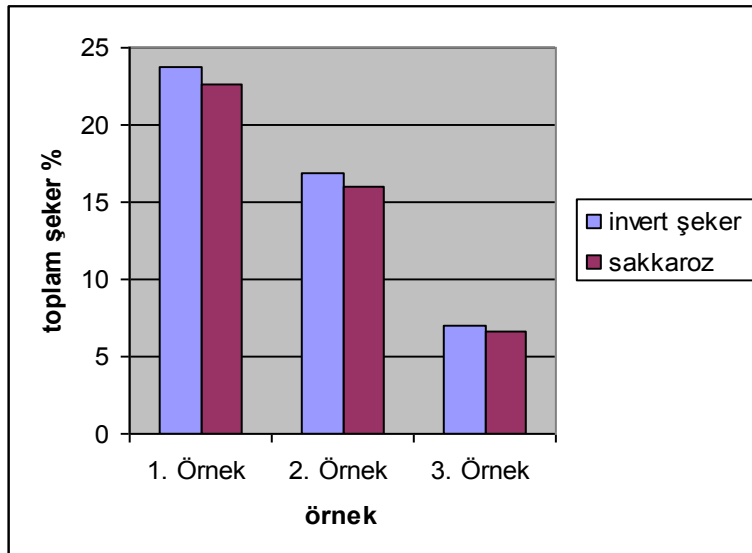
Boza örneklerinin % protein değerleri Şekil 4.4' de gösterilmiştir.



Şekil 4.4: Boza örneklerinin % protein değerleri

Boza örneklerinin protein değerleri % 0.46, 0.56 ve 0.65 olarak saptanmıştır. Standartta protein ile ilgili bir değer verilmemiştir. Kozat (2000) protein değerlerini % 0.3-0.6 arası, Yavuz (2000) %1.33, Pamir (1961) ise nitrojen içeren bileşiklerin miktarını % 0.88-1.66 olarak saptamıştır.

Şekil 4.5' de boza örneklerinin % toplam şeker değerleri invert şeker ve sakkaroz cinsinden gösterilmiştir.

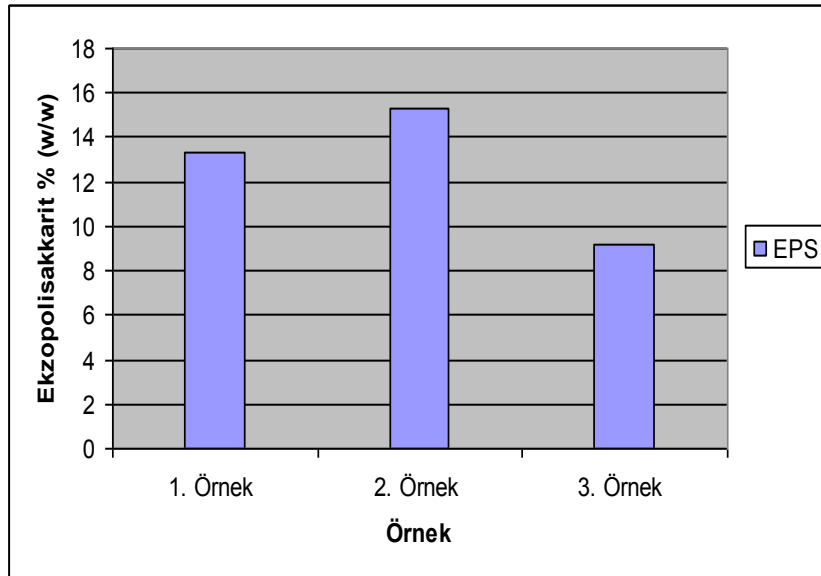


Şekil 4.5: Boza örneklerinin invert şeker ve sakkaroz cinsinden % toplam şeker değerleri

Çalışmada TS' de belirtilen şeker ve invert şeker çözeltileri yeterli olmadığından % 20'lik şeker çözeltisi ve % 10'luk standart invert şeker çözeltileri kullanılmıştır. Buna göre 1., 2. ve 3. örnekler için toplam şeker miktarları invert şeker cinsinden % 23.8, 16.84 ve 6.98, sakkaroz cinsinden de % 22.62, 16.0 ve 6.63 olarak saptanmıştır.

Boza standardında toplam şeker miktarı sakkaroz cinsinden minimum % 10 olarak verilmiştir. Buna göre 3. örnek standarda uymamaktadır. Kozat (2000) toplam şeker miktarını % 5.98-11.68, Yavuz (2000) % 16.6 olarak tayin etmiştir. Saptanan değerler Kozat (2000)' a göre tüm örnekler, Yavuz (2000)' a göre de 1. örnek yüksek bulunmuştur.

Şekil 4.6' de boza örneklerinin % w/w ekzopolisakkarit değerleri verilmiştir.



Şekil 4.6: Boza örneklerinin % w/w ekzopolisakkarit değerleri

Fenol sülfürik asit metoduna göre yapılan ekzopolisakkarit (toplam karbonhidrat) değerleri 1., 2. ve 3. örnekler için glukoz kalibrasyon eğrisi kullanılarak % 13.3, 15.3 ve 9.2 olarak saptanmıştır. Kozat (2000) ise bu değerleri % 6.71- 15.7 olarak tayin etmiştir.

Boza örneklerinin su aktivitesi değerleri ise sırasıyla 0.94, 0.91 ve 0.92 olarak ölçülmüştür.

4.2. Mikrobiyolojik Analizler

4.2.1. Laktik Asit Bakterilerinin Sayımı

Piyasadan sağlanan boza örnekleriyle sıcaklık olarak 30°C, mezofilik laktik asit bakterileri için 37°C ve termofilik laktik asit bakterileri için 45°C kullanılarak Man Rogosa ve Sharpe (MRS), Rogosa ve M17 katı besiyerlerine yapılan ekimlerden 48 saatlik inkübasyon sonucunda laktik asit bakteri sayımı kob/g cinsinden gerçekleştirilmiştir. Elde edilen değerler kob cinsinden tablo 4.1’de de gösterilmiştir. Bunun sonucunda laktik asit bakteri 30°C, 37°C ve 45°C’ de sırasıyla MRS besiyerinde; $1,4 \cdot 10^9$, $2,1 \cdot 10^8$ ve $3,2 \cdot 10^7$ kob/ g, Rogosa besiyerinde; $9,7 \cdot 10^7$, $5,1 \cdot 10^7$ ve $1,9 \cdot 10^5$ kob/ g, M17 besiyerinde ise; $1,2 \cdot 10^8$, $2,3 \cdot 10^8$ ve $2,7 \cdot 10^7$ kob/ g olarak bulunmuştur.

Tablo 4.1: 30°C, 37°C, 45°C’ de MRS, Rogosa ve M17 besiyerlerinde gerçekleştirilen laktik asit bakteri sayımları (kob/g)

Sıcaklık	Besiyeri		
	MRS	Rogosa	M17
30° C	$1,4 \cdot 10^{10}$	$9,7 \cdot 10^8$	$1,2 \cdot 10^9$
37° C	$2,1 \cdot 10^9$	$5,1 \cdot 10^8$	$2,3 \cdot 10^9$
45° C	$3,2 \cdot 10^8$	$1,9 \cdot 10^6$	$2,7 \cdot 10^8$

4.2.2. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyon ve İdentifikasyonu

3.2.2.2’ye göre yapılan izolasyon işlemi sonucunda farklı sıcaklık ve besiyerinden izole edilen 52 izolat saflaştırılmıştır. Tüm izolatlar gram pozitif, katalaz negatif ve oksidaz negatif sonuç vermiştir. İzolatlar API CHL 50 kiti ve API Plus Software kullanılarak tanımlanmıştır. Buna göre piyasadan sağlanan bozalardaki laktik mikroflora *Lactobacillus plantarum* (%19.2), *Lactobacillus paracasei* alttür *paracasei* (%15.4), *Lactobacillus fermentum* (%9.6), *Leuconostoc mesenteroides* alttür *mesenteroides/dextranicum* (%9.6), *Lactococcus lactis* alttür *lactis* (%9.6), *Leuconostoc citreum* (%7.7), *Leuconostoc lactis* (%7.7), *Lactobacillus delbrueckii* alttür *delbrueckii* (%7.7), *Lactococcus raffinolactis* (%5.8), *Lactobacillus salivarius*

(%1.9), *Lactobacillus coprophilus* (%1.9), *Lactobacillus brevis* (%1.9), *Pediococcus* spp. (%1.9) olarak saptanmıştır.

Laktik asit bakterilerinin izole edildikleri sıcaklık ve besiyerleri tablo 4.2’ de belirtilmiştir.

Tablo 4.2: Laktik asit bakterilerinin izole edildikleri sıcaklık ve besiyerleri

İzole Edilen LAB	Besiyeri	Sıcaklık
<i>Lb. plantarum</i>	MRS, Rogosa, M17	30°C, 35°C, 45°C
<i>Lb. paracasei</i> alttür <i>paracasei</i>	M17, Rogosa	30°C, 35°C
<i>Lb. fermentum</i>	MRS, Rogosa	35°C, 45°C
<i>Leu. mesenteroides</i> alttür <i>mesenteroides/ dextranicum</i>	MRS, Rogosa	30°C, 35°C
<i>Lc. lactis</i> alttür <i>lactis</i>	M17	30°C, 35°C
<i>Leu. citreum</i>	MRS, Rogosa	30°C
<i>Leu. lactis</i>	MRS, M17, Rogosa	30°C, 35°C
<i>Lb. delbrueckii</i> alttür <i>delbrueckii</i>	MRS	35°C, 45°C
<i>Lc. raffinolactis</i>	M17	30°C
<i>Lb. salivarius</i>	Rogosa	30°C
<i>Lb. coprophilus</i>	Rogosa	35°C
<i>Lb. brevis</i>	MRS	35°C
<i>Pediococcus</i> spp.	MRS	30°C

Boza ile ilgili olarak ülkemizde ve Bulgaristan’ da yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Ülkemizde ilk olarak Pamir (1961) yaptığı çalışmada *Micrococcus varians migula*, *Streptococcus* spp. ve *Lactobacillus* spp. izole etmiş fakat bunları tür düzeyinde belirleyememiştir.

Hancioğlu ve Karapınar (1997) tarafından yapılan çalışmada mısır, buğday ve pirinç unlarının 2:1:1 oranında karışımı kullanılarak laboratuvar koşullarında yapılan bozadan 77 izolat elde edilmiştir. İzole edilen laktik asit bakterileri *Lactobacillus sanfrancisco* (% 21.9), *Leuconostoc mesenteroides* alttür *mesenteroides* (%18.6), *Leuconostoc paramesenteroides* (%18.6), *Lactobacillus coryniformis* (%9.1), *Lactobacillus confusus* (% 7.8), *Leuconostoc mesenteroides* alttür *dextranicum* (% 7.3), *Lactobacillus fermentum* (%6.5), *Leuconostoc oenos* (%3.7) olarak bulunmuştur.

Bir diğer çalışmada bozadan elde edilen 56 izolat *Lactobacillus brevis* alttür *lidneri* (%80.4), *Lactobacillus curvatus* (%7.1), *Leuconostoc mesenteroides* alttür *mesenteroides/dextranicum* (%5.4), *Leuconostoc mesenteroides* alttür *mesenteroides/cremoris* (%3.6), *Lactobacillus plantarum* (%3.6), *Lactobacillus delbrueckii* alttür *delbrueckii* şeklinde belirlenmiştir (Kozat, 2000).

Bulgar bozası ile yapılan çalışmada da Gotcheva ve diğ. (2000) boza laktik florasını *Lactobacillus plantarum* (%24), *Lactobacillus acidophilus* (%23), *Lactobacillus fermentum* (%19), *Lactobacillus coprophilus* (%11), *Lactobacillus brevis* (%5), *Lactococcus raffinolactis* (%9), *Leuconostoc mesenteroides* (%9) olarak tespit etmiştir.

Çalışmamızda ise izole edilen LAB türü çeşidinin, daha önce boza ile yapılan laktik mikroflora çalışmalarından daha fazla olduğu saptanmıştır. Ayrıca *Lactobacillus paracasei* alttür *paracasei*, *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc lactis*, *Lactococcus lactis* alttür *lactis*, *Lactobacillus salivarius* ve *Pediococcus* spp. bozadan ilk defa izole edilen türlerdir. Bunlara ek olarak *Lactococcus raffinolactis* ve *Lactobacillus coprophilus* da Bulgar bozasında saptanmasına rağmen Türkiye’ de yapılan çalışmalarda izole edilememiştir.

Bu tür zenginliğine, bozaların yapımında kullanılan hammadde farklılığının yanında izolasyonda üç farklı sıcaklık ve üç farklı seçici besiyeri kullanılmasının etkili olduğu görülmektedir.

İzole edilen türlerden *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* alttür *paracasei*, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* alttür *mesenteroides/ dextranicum*’ un *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda probiyotik özellikler gösterdiği belirtilmiştir.

Bunlardan *Lactobacillus salivarius*; iltihaplı bağırsak hastalığı semptomlarını azaltmakta, fekal Enterokok seviyesini artırarak bağırsak florasını düzenlemekte, immün sistemde fagositik aktiviteyi artırmakta, mukozal IgA cevabını düzenlemektedir (Saarela ve diğ., 2000). Bağırsakların iltihaplanması ile oluşan iltihaplı bağırsak hastalığı (IBS) ve Crohn' s hastalığı kanser riskini artırmaktadır. *Lb. salivarius*' un iltihaplanmayı azaltmada etkili olduğu görülmüştür. *Lactobacillus paracasei* alttür *paracasei* ve *Lb. salivarius*' un *Helibacter pylori* ile oluşan ülserle karşı etkili olduğu saptanmıştır (Mattila-Sandholm ve diğ., 1999).

Lactobacillus plantarum ve *Lactobacillus fermentum*' un immün sistemi düzenleyici aktivitesi bulunmaktadır. *Lactobacillus plantarum* gıdalarda depolama sırasında ω -3 yağ asitlerini artırmaktadır. Patojenleri inhibe etmeleri ile de biyolojik korumada rol almaktadır. Birkaç türü sebzelerden nitrata elimine etmektedir. Sebzeler nitratça zengin olduğundan fazla sebze tüketimi sindirim sisteminde nitrozaminler oluşturarak kanseri teşvik etmektedir. Ayrıca barsak mukozasını korumakta, kolon hücreleri için enerji kaynağı olan kısa zincirli yağ asitlerinin oluşumuna yol açmaktadır (Bengmark, 1998, Tomasik ve Tomasik, 2003). *Leuconostoc mesenteroides* alttür *mesenteroides* ile oluşturulan izomaltooligosakkaritlerin prebiyotik ve antimutajenik aktiviteleri bulunmaktadır.

Yapılan çalışmada toplam LAB sayımlarının 45° C dışında oldukça yüksek olması ($>10^7$) saptanan probiyotik türlerin boza tüketimi sırasında da probiyotik özelliklerini koruyabileceğini göstermektedir.

4.2.3. İzolatların Enzimatik Aktivitelerinin Belirlenmesi

Bozadan elde edilen izolatların enzimatik aktivitelerini belirlemek amacıyla; alkali fosfataz, esteraz, esteraz lipaz, lipaz, lösin arilamidaz, valin arilamidaz, sistin arilamidaz, tripsin, α -kimotripsin, asit fosfataz, naftol fosfohidrolaz, α -galaktozidaz, β -galaktozidaz, β -glukuronidaz, α -glukozidaz, β -glukozidaz, N-asetil- β -glukozaminidaz, α -mannozidaz, α -fukozidaz enzimlerini içeren API ZYM enzim kiti kullanılmıştır. Sonuçlar tablo 4.2' de gösterilmiştir.

Tablo 4.3: Bozadan elde edilen izolatların enzimatik aktiviteleri

	<i>Lc. raffinolactis</i>	<i>Pediococcus spp</i>	<i>Lb. salivarius</i>	<i>Leu. citreum</i>	<i>Lb. coprophilus</i>	<i>Leu. mes. alttür mes</i>	<i>Lb. delbrueckii</i>	<i>Lb. paracasei</i>	<i>Leu. lactis</i>	<i>Lb. fermentum</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lc. lactis alttür lactis</i>	<i>Lb. brevis</i>
Alkali fosfataz	+				+				+			+	+
Esteraz	+					+		+		+		+	+
Esteraz lipaz	+	+	+					+		+	+	+	+
Lipaz													
Lösin arilamidaz	+	+	+	+			+	+	+	+	+	+	+
Valin arilamidaz	+	+	+				+	+	+	+	+		+
Sistin arilamidaz	+	+	+					+		+	+		+
Tripsin													
α -Kimotripsin	+												+
Asit fosfataz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Naftol fosfohidrolaz	+	+	+		+			+	+	+	+	+	+
α -galaktozidaz			+							+			+
β -galaktozidaz					+			+		+			+
β -glukuronidaz													+
α -glukozidaz	+	+	+	+		+		+		+	+		+
β -glukozidaz	+	+	+					+			+		+
N-asetil- β -glukozaminidaz											+		+
α -mannozidaz													+
α -fukozidaz													+

Tablo 4.3'ün incelenmesi ile görüldüğü gibi bozadan izole edilen laktik asit bakterilerinin hiçbirisinin lipaz ve tripsin enzimi üretmedikleri belirlenmiştir. Buna karşılık tüm izolatlar asit fosfataz üretmiştir. İzolatlar içerisinde ürettiği enzim çeşidi en fazla olan bakteri ise *Lb. brevis* dir.

4.2.4. Boza Laktik Florasını Oluşturan Suşlardan Ekzopolisakkarit İzolasyonu ve Saflaştırılması

Fermente gıdalardan (süt ürünleri, hububat bazlı fermente ürünler, et ürünleri) ekzopolisakkarit üreten suşların belirlenmesi ve bunların miktarlarının tayini ile ilgili son yıllarda pek çok çalışma yapılmaktadır. Hububat bazlı ürünlerden sadece ekmek ile çalışmakta, boza ve diğer hububat kaynaklı ürünlerle bir çalışma bulunmamaktadır.

Laktik asit bakterileri tarafından üretilen ekzopolisakkaritleri izole etmek ve incelemek için MRS besiyeri, sentetik besiyerleri, süt ve peynir altı suyu içeren besiyerleri kullanılmıştır (Degeest ve diğ., 2001). Önceleri sentetik besiyerlerinde ve MRS' de ekzopolisakkaritler gözlenemediği için süt en fazla kullanılan besiyeri olmuştur (Garcia- Garibay ve Marshall, 1991, Cerning ve diğ., 1992, Ludbrook ve diğ., 1997, De Vuyst ve diğ., 1998, Mårtensson ve diğ., 2000, Sanni ve diğ., 2002). Peynir altı suyu içeren besiyerlerinden de sonuç alınmıştır (Ariga ve diğ., 1992). Gasse ve diğ. (1997) vizkozitedeki değişimi baz alarak peynir altı suyu içeren besiyeri kullanmıştır. Daha sonraları sentetik ve yarı sentetik besiyerleri geliştirilmiştir (Cerning ve diğ., 1994, Kimmel ve Roberts, 1998). Karbonhidrat kaynağı, aminoasit, vitaminler, mineraller, nükleik asitler içeren bir besiyerinde bileşenlerin gelişim, metabolik yollar ve ekzopolisakkarit oluşumuna etkilerini incelemek daha rahat olmuştur.

Bunun yanında son yıllarda normalde glukoz içeren MRS besiyerinde, sakkaroz, fruktoz, rafinoz, ramnoz gibi farklı karbonhidrat kaynakları kullanılarak hazırlanan modifiye MRS besiyerlerinde de sıkça çalışmalar yapılmaktadır (van Geel- Schutten ve diğ., 1998, Smitinont ve diğ., 1999, Tieking ve diğ., 2003, Savadogo ve diğ., 2004).

Laktik asit bakterileri tarafından üretilen ekzopolisakkaritlerin verimi besiyeri bileşimine (karbon ve nitrojen kaynakları, gelişme faktörleri v.b.), sıcaklık, pH,

oksijen miktarı, inkübasyon süresi gibi faktörlere bağlıdır. Üretilen EPS verimi optimize edilmeyen kültür koşullarında türden türe 0,045-0,350 g/L arasında değişmektedir. Optimal kültür koşullarında ise 0,150-0,600 g/L olmaktadır. *S. thermophilus* LY03 türü ile optimal karbon/ nitrojen oranında süt ve MRS besiyerlerinde 1,5 g/L' ye ulaşılmaktadır. *Lactobacillus sakei* 0-1 ve *Lactobacillus rhamnosus* 9595M türleri ile sırasıyla 1,4 ve 1,3 g/L ekzopolisakkarit elde edilmiştir (Degeest ve diğ., 2001).

Van Geel- Schutten ve diğ. (1998)' nin yaptığı çalışmada MRS besiyerinde yapılan modifikasyon ile yüksek oranda EPS elde edilmiştir. Normalde 20g/L glukoz içeren MRS sıvı besiyerinde karbon kaynağı olarak 100 g/L sakkaroz, fruktoz, maltoz, rafinoz, galaktoz, laktoz ve glukoz kullanılmıştır. En iyi enerji kaynağı sakkaroz olarak belirlenmiştir. Test edilen 182 türden 60 tanesi EPS pozitif olarak tespit edilmiştir (Van Geel- Schutten ve diğ., 1998). Buna karşı 10 g/L glukoz içeren süt besiyerinde ise 607 türden 30 tanesi EPS pozitifdir (Degeest ve diğ., 2001). Modifiye MRS kullanımı, yüksek EPS üretme potansiyeline sahip türlerin belirlenmesinde daha etkili bir yöntem olduğu belirtilmiştir. Türlerin % 10'u 0,1 g/L' den fazla, 5 tür 1 g/L' den, bunların 2 tanesi de 4 g/L' den fazla EPS üretmiştir. Bu değerler, van den Berg ve diğ. (1995) tarafından yapılan çalışmadaki değerlerden 10-100 kat daha fazla bulunmuştur.

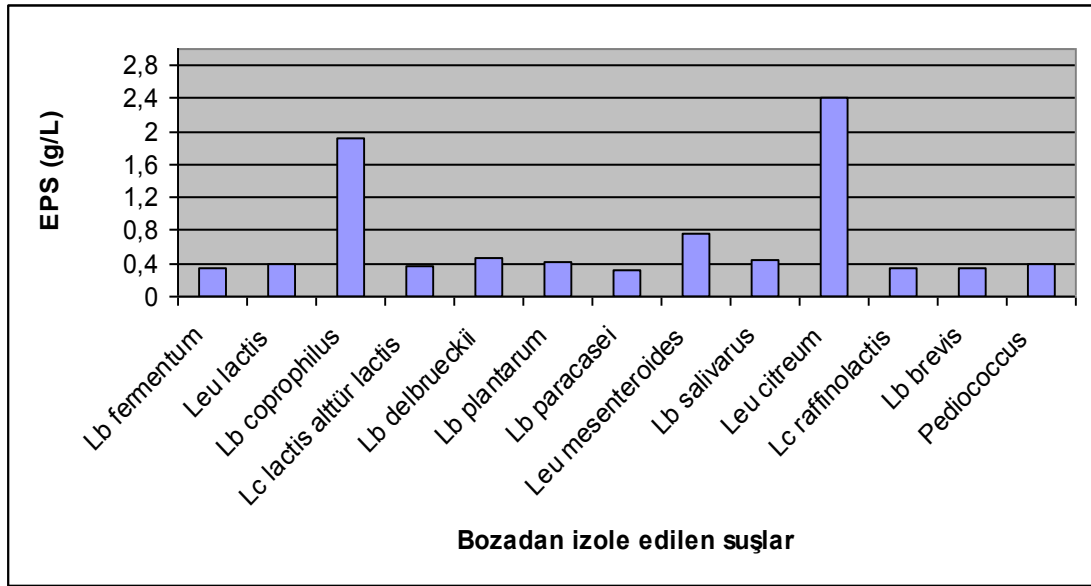
Van Geel- Schutten ve diğ. (1998)' nin yaptığı çalışmada alınan sonuçlar doğrultusunda karbon kaynağı olarak 100 g/L sakkaroz içeren sıvı m- MRS besiyerleri hazırlanmıştır. İnkübasyondan sonra besiyerinden hücreler santrifüjle uzaklaştırılmış, süpernatanttaki EPS etanol ile çöktürülmüştür. Tekrar santrifüj edilerek elde edilen çökeltide EPS tayini fenol sülfürik asit metoduna göre yapılmış ve türlerin 0,327- 2,4 g/L arası EPS ürettiği saptanmıştır. Bozadan izole edilen suşların ürettiği EPS miktarları tablo 4.4' te gösterilmiştir. Buna göre en fazla EPS üreten suşlar *Leuconostoc citreum*, *Lactobacillus coprophilus* ve *Leuconostoc mesenteroides* alttür *mesenteroides/ dextranicum* olarak saptanmıştır. Şekil 4.7' de de türlerin ürettiği EPS miktarları arası fark daha açık olarak belli olmaktadır.

Literatürde LAB arasında *Leuconostoc mesenteroides* alttür *mesenteroides*, *Leuconostoc mesenteroides* alttür *dextranicum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* alttür *lactis*, *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus* spp. türlerine ait

suşların ekzopolisakkarit üretebildiği belirtilmektedir (DeVuyst ve Degeest, 1999, Ruas- Madiedo ve diğ., 2002, Mårtensson ve diğ., 2003). 2002 yılında yapılan yeni bir çalışmada Meksika’ da mısırdan üretilen fermente içecekte *Leuconostoc citreum*’ un inülosükraz enzimi ile inülin benzeri polisakkarit ürettiği bulunmuştur (Tieking ve diğ., 2003).

Tablo 4.4: Bozadan izole edilen suşların ürettiği EPS miktarları

Laktik Asit Bakteri Türleri	EPS Miktarı (g/L)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	0,405
<i>Lactobacillus paracasei</i> alttür <i>paracasei</i>	0,327
<i>Lactobacillus fermentum</i>	0,337
<i>Leu. mes.</i> alttür <i>mes./ dextranicum</i>	0,766
<i>Lc. lactis</i> alttür <i>lactis</i>	0,363
<i>Leuconostoc citreum</i>	2,400
<i>Leuconostoc lactis</i>	0,392
<i>Lb. delbrueckii</i> alttür <i>delbrueckii</i>	0,472
<i>Lactococcus raffinolactis</i>	0,343
<i>Lactobacillus salivarius</i>	0,435
<i>Lactobacillus coprophilus</i>	1,926
<i>Lactobacillus brevis</i>	0,351
<i>Pediococcus spp.</i>	0,397



Şekil 4.7: Bozadan izole edilen suşların ürettiği EPS miktarları (g/L)

Genelde süt endüstrisinde kullanılan ekzopolisakkaritlerin hububat bazlı ürünlerde kullanımı bulunmamaktadır. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda ekmek ve hamur reolojisini, besinsel değerlerini geliştirmek için kullanılmaktadır. *Leuconostoc mesenteroides* tarafından üretilen dextran, fırınlamada ticari olarak uygulanmaktadır. EPS' ler, hamur reolojik parametrelerini ve ekmek kalitesini geliştirmektedir. Kilogram başına 5 g eklenen dextran buğdaydan yapılan hamurların viskoelastik özelliklerini etkileyerek ekmek hacmini artırmaktadır. *In situ* (yerinde) olarak üretilen EPS ilave edilenlere göre daha etkili olmaktadır. Sakkarozdan EPS oluşumu mannitol, glukoz, asetat gibi ekmek kalitesini geliştiren metabolitlerin oluşumunu da sağlamaktadır. EPS' ler hamurun su absorpsiyonunu, bayatlamasını, soğuk depolama sırasında hamur stabilitesini, hacmini etkileyerek ekmek ve hamur kalitesine etki etmektedir. Ekmeğin aroma, doku, raf ömrü gelişmekte, katkı maddesi kullanımı azalmaktadır (Tieking ve Gänzle, 2005).

Bozanın raf ömrünü uzatmak için pastörizasyon çalışmaları bulunmaktadır (Pamir, 1961, Hancıoğlu, 1996, Kentel, 2001). Bu çalışmalarda uygulanan sıcaklık ve depolama süresine bağlı olarak artan serum ayrılması saptanmıştır. Hancıoğlu (1996) çalışmasında 65°C' de 15 dakika, 75°C' de 10 dakika, 80°C' de 5 dakika ve 8°C' de 10 dakika pastörizasyon uygulanmış boza örneklerinde 25°C ve 4°C' de 6 günlük depolama sonucunda oluşan önemli ölçüde serum ayrılması sonucu ürünün stabilitesinin bozulduğu saptanmıştır. 93°C' de 4 dakika pastörize edilmiş örneklerde

15 gün sonunda hafif serum ayrılması gözlenmiştir. Kentel (2001) de pastörize örneklerde 3. günden itibaren yaklaşık 1 mm' lik serum ayrılması saptamış, bunun ilerleyen günlerde arttığı ve 30. günde yaklaşık 10 mm' ye ulaştığı belirtilmiştir.

Yoğurtta su tutma kapasiteleri ile serum ayrılmasını önlemek için kullanılan EPS' lerin bozada da aynı amaç için kullanılabileceği ve bozanın raf ömrünü artıracadığı düşünülmektedir. Burada EPS üreten türlerin yüksek sıcaklıklara dayanıklılığı da önem taşımaktadır.

5. SONUÇ

Çalışmada ilk olarak geleneksel fermente içeceğimiz bozanın laktik mikroflorası belirlenmiştir. Buna göre piyasadan sağlanan bozalardaki laktik mikroflora *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* alttür *paracasei*, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* alttür *mesenteroides/ dextranicum*, *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc lactis*, *Lactococcus lactis* alttür *lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* alttür *delbrueckii*, *Lactococcus raffinolactis*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus coprophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus* spp. olarak saptanmıştır. Bunlardan *Lactobacillus paracasei* alttür *paracasei*, *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc lactis*, *Lactococcus lactis* alttür *lactis*, *Lactobacillus salivarius* ve *Pediococcus* spp. bozadan ilk olarak izole edilen LAB türleridir.

Elde edilen kültürlerin ekzopolisakkarit oluşturma kapasiteleri saptanmıştır. Buna göre *Leuconostoc citreum*, *Lactobacillus coprophilus* ve *Leuconostoc mesenteroides* alttür *mesenteroides/ dextranicum* ekzopolisakkaritleri en fazla miktarda üreten türler olarak belirlenmiştir.

Yapılan enzimatik aktivitelerinin belirlenmesi çalışmasında da bozadan izole edilen laktik asit bakterilerinin hiçbirisinin lipaz ve tripsin enzimi üretmediği belirlenmiştir. Buna karşılık tüm izolatlar asit fosfataz üretmiştir. İzolatlar içerisinde ürettiği enzim çeşidi en fazla olan bakteri ise *Lb. brevis* olarak saptanmıştır.

KAYNAKLAR

- Aktuğ Gönül, Ş., Hancıoğlu, Ö.** 1999. Bozanın ve bozadan izole edilen laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal etkisinin araştırılması, *Araştırma Projesi*, Ege Üniversitesi, İzmir.
- Arıcı, M., Dağlıoğlu, O.** 2002. Boza: A lactic acid fermented cereal beverage as a traditional Turkish food, *Food Reviews International*, **18 (1)**, 39-48
- Ariga, H., Urashima, T., Michihata, E., Ito, M., MOrizono, N., Kimura, T., Takahashi, S.** 1992. Extracellular polisaccharides from encapsulated *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* OR 901 isolated from commercial yogurt, *Journal of Food Science*, **57 (3)**, 625-628
- Axelsson, L.** 1998. Lactic acid bacteria: classification and physiology in *Lactic acid bacteria Microbiology and functional aspects*, pp. 1-7, Eds. Salminen, S. & von Wright, A., Marcel Dekker, New York
- Aytekin, S.** Değişik hammaddelerden farklı oranlarda şeker katkısıyla üretilen bozaların kalite kriterleri üzerinde araştırmalar, *Yüksek Lisans Tezi*, Uludağ Üniversitesi, Bursa.
- Bengmark, S.** 1998. Immunonutrition: role of biosurfactans, fiber and probiotic bacteria, *Nutrition*, **14**, 585-594
- Berg, D.J.C. van den, Robjin, G.W., Janssen, A.C., Giuseppin, M.L.F., Vreeker, R., Kamerling, J.P., Vliegenthart, J.F.G., Ledeboer, A.M., Verrips, C.T.** 1995. Production of a novel extracellular polysaccharide by *Lactobacillus sake* 0-1 and characterization of the polysaccharide, *Applied and Environmental Microbiology*, **61**, 2840-2844
- Birer, S.** 1987. Boza yapımı ve özellikleri, *Gıda*, **12(5)**, 341- 344
- Blandino, A., Al-Aseeri, M.E., Pandiella, S.S., Cantero, D., Webb, C.** 2003. Cereal based fermented foods and beverages, *Food Research International*, **36**, 527- 543
- Boels, I.C., van Kranenburg, R., Hugenholtz, J., Kleerebezem, M., de Vos, W.M.** 2001. Sugar catabolism and its impact on the biosynthesis and engineering of exopolysaccharide production in lactic acid bacteria, *International Dairy Journal*, **11**, 723-732
- Campbell- Platt, G.** 1994. Fermented foods- a world perspective, *Food Research International*, **27**, 253- 257

- Cerning, J., Bouillanne, C., Landon, M., Desmazeaud, M.** 1992. Isolation and characterization of exopolysaccharides from slime forming mesophilic lactic acid bacteria, *Journal of Dairy Science*, **75**, 692-699
- Cerning, J., Renard, C.M.G.C., Thibault, J.F., Bouillanne, C., Landon, M., Desmazeaud, M., Topisirovic, L.** 1994. Carbon source requirements for exopolysaccharide production by *Lactobacillus casei* CG11 and partial structure analysis of the polymer, *Applied and Environmental Microbiology*, **60**, 3914- 3919
- Charalampopoulos, D., Wang, R., Pandiella, S.S., Webb, C.** 2002a. Application of cereal and cereal components in functional foods: a review, *International Journal of Food Microbiology*, **79**, 131-141
- Charalampopoulos, D., Pandiella, S.S., Webb, C.** 2002b. Growth studies of potential probiotic lactic acid bacteria in cereal based substrates, *Journal of Applied Microbiology*, **92**, 851-859
- De Vuyst, L., Vaningelgem, F., Van de Ven, S., Degeest, B.** 1998. Production by and isolation of exopolysaccharides from *Streptococcus thermophilus* grown in a milk medium and evidence for their growth associated biosynthesis, *Journal of Applied Microbiology*, **84**, 1059-1068
- De Vuyst, L., Degeest, B.** 1999. Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria, *FEMS Microbiology Reviews*, **23**, 153-177
- De Vuyst, L., De Vin, F., Vaningelgem, F., Degeest, B.** 2001. Recent developments in the biosynthesis and applications of heteropolysaccharides from lactic acid bacteria, *International Dairy Journal*, **11**, 687-707
- De Vuyst, L., Neysens, P.** 2004. The sourdough microflora: Biodiversity and metabolic interactions, *Trends in Food Science and Technology*, in pres.
- Degeest, B., Vaningelgem, F., De Vuyst, L.** 2001. Microbial physiology, fermentation kinetics and process engineering of heteropolysaccharide production by lactic acid bacteria, *International Dairy Journal*, **11**, 747-757
- Duboc, P., Mollet, B.** 2001. Applications of exopolysaccharides in the dairy industry, *International Dairy Journal*, **11**, 759-768
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F.** 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Analytical Chemistry*, **28**, 350-356
- Garcia-Garibay, M., Marshall, V.M.E.** 1991. Polymer production by *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Journal of Applied Bacteriology*, **70**, 325-328
- Gassem, M.A., Schmidt, K.A., Frank, J.F.** 1997. Exopolysaccharide production from whey lactose by fermentation with *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*, *Journal of Food Science*, **62**, 171-173
- Geel- Schutten, G.H. van, Flesch, F., ten Brink, B., Smith, M.R., Dijkhuizen, L.** 1998. Screening and characterization of *Lactobacillus* strains producing large amounts of exopolysaccharides, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **50**, 697- 703

- Gotcheva, V., Pandiella, S.S., Angelov, A., Roshkova, Z.G., Webb, C.** 2000. Microflora identification of the Bulgarian cereal-based fermented beverage Boza, *Process Biochemistry*, **36**, 127-130
- Güven, S., Vatan, E., Ögütçü, M.** 2004. Boza üretiminde bazı modifikasyonlar, *Geleneksel Gıdalar Sempozyumu*, Gaziantep, 18-19 Eylül, s. 339- 342
- Hancioğlu, Ö.** 1996. Boza fermentasyonunda rol oynayan mikroorganizmaların tanımlanması v kontrollü koşullar altında boza üretimi, *Yüksek Lisans Tezi*, Ege Üniversitesi, İzmir.
- Hancioğlu, Ö., Karapınar, M.** 1997. Microflora of boza, a traditional Turkish beverage, *International Journal of Food Microbiology*, **35**, 271-274
- Hancioğlu, Ö., Karapınar, M.** 1998. Hububat bazlı fermente ürünler ve fermentasyon işleminin sağladığı avantajlar, *Gıda*, **23 (3)**, 211-215
- Harrigan, W. F.** 1998. Laboratory methods in food microbiology. 3rd edition. Academic Press. New York.
- Holzapfel, W.H., Schillinger, U.** 2002. Introduction to pre- and probiotics, *Food Research International*, **35**, 109-116
- Jolly, L., Vincent, S.J.F., Duboc, P., Neeser, J.R.** 2002. Exploiting exopolysaccharides from lactic acid bacteria, *Antonie van Leeuwenhoek*, **82**, 367-374
- Kentel, Z.B.** 2001. Bozanın raf ömrünün uzatılması üzerine çalışma, *Yüksek Lisans Tezi*, Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Kimmel, S.A., Roberts, R., Ziegler, G.R.** 1998. Optimization of exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RR grown in a semidefined medium, *Applied and Environmental Microbiology*, **64**, 659-664
- Klaenhammer, T.R., Kullen, M.J.** 1999. Selection and design of probiotics, *International Journal of Food Microbiology*, **50**, 45-57
- Kozat, P.** 2000. Microbiological and biochemical characterization of boza, a Turkish traditional fermented beverage, *Yüksek Lisans Tezi*, ODTÜ, Ankara
- Köse, E., Durak, F.,** 1998. boza üretim teknolojisi, kimyasal ve duyuşal özellikleri, *Gıda ve Teknoloji*, **3 (3)**, 81-87
- Leroy, F., De Vuyst, L.** 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry, *Trends in Food Science and Technology*, **15**, 67- 78
- Lorri, W., Svanberg, U.** 1993. Lactic fermented cereal grains with improved in vitro protein digestibility, *International Journal of Food Science and Nutrition*, **44**, 29-36
- Ludbrook, K.A., Russell, C.M., Greig, R.I.** 1997. exopolysaccharide production from lactic acid bacteria isolated from fermented foods, *Journal of Food Science*, **62 (3)**, 597-604
- Mårtensson, O., Öste, R., Holst, O.** 2000. Lactic acid bacteria in an oat based non dairy milk substitute: fermentation characteristics and exopolysaccharide formation, *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, **33**, 525- 530
- Mårtensson, O., Dueñas-Chasco, M., Irastorza, A., Öste, R., Holst, O.** 2003. Comparison of growth characteristics and exopolysaccharide formation of

two lactic acid bacteria strains, *Pediococcus damnosus* 2.6 and *Lactobacillus Brevis* G-77 in an oat based nondairy medium, *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, **36**, 353-357

Mattila- Sandholm, T., Blum, S., Collins, J.K., Crittenden, R. 1999. Probiotics: towards demonstrating efficacy, *Trends in Food Science and Technology*, **10**, 393-399

Mattila- Sandholm, T., Myllärinen, P., Crittenden, G., Fondén, R., Saarela, M. 2002. Technological challenges for future probiotic foods, *International Dairy Journal*, **12**, 173-182

Monsan, P., Bozonnet, S., Albenne, C., Joucla, G., Willemot, R.M., Rемаud-Siméon, M. 2001. Homopolysaccharides from lactic acid bacteria, *International Dairy Journal*, **11**, 675- 685

Nout, M.J.R., Motarjemi, Y. 1997. Assessment of fermentation as a household technology for improving food safety: a joint FAO/WHO workshop, *Food Control*, **8**, 221-226

Oyewole, O.B. 1997. Lactic fermented foods in Africa and their benefits, *Food Control*, **8**, 289-297

Pamir, H. 1961. Boza üzerinde mikrobiyolojik ve kimyasal araştırmalar, *Doktora Tezi*, Ankara Üniversitesi, Ankara.

Rocha, J.M., Malcata, F.X. 1999. On the microbiological profile of traditional Portuguese sourdough, *Journal of Food Protection*, **62**, 1416- 1429

Ruas-Madiedo, P., Hugenholtz, J., Zoon, P. 2002. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria, *International Dairy Journal*, **12**, 163-171

Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Mättö, J., Mattila-Sandholm, T. 2000. Probiotic bacteria: safety and technological properties, *Journal of Biotechnology*, **84**, 197-215

Sanni, A.I., Onilude, A.A., Ibidapo, O.T. 1999. Biochemical composition of infant weaning food fabricated from fermented blends of cereals and soybean, *Food Chemistry*, **65**, 35-39

Sanni, A.I., Onilude, A.A., Ogunbanwo, S.T., Fadahunsi, I.F., Afolabi, R.O. 2002. Production of exopolysaccharides by lactic acid bacteria from traditional fermented foods in Nigeria, *European Food Research and Technology*, **214**, 405-407

Savadogo, A., Quattara, C.A.T., Savadogo, P.W., Baro, N., Quattara, A.S., Traore, A.S. 2004. Identification of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria from Burkina Faso fermented milk samples, *African Journal of Biotechnology*, **3 (3)**, 189-194

Shortt, C. 1999. The probiotic century: historical and current perspectives. *Trends in Food Science and Technology*, **10**, 411-417

Smitinont, T., Tansakul, C., Tanasupawat, S., Keeratipibul, S., Nvarini, L., Bosco, M., Cescutti, P. 1999. Exopolysaccharide producing lactic acid bacteria strains from traditional thai fermented foods: isolation, identification

- and exopolysaccharide characterization, *International Journal of Food Microbiology*, **51**, 105-111
- Steinkraus, K.H.** 1994. Nutritional significance of fermented foods, *Food Research International*, **27**, 259- 267
- Tallon, R., Bressollier, P., Urdaci, M.C.** 2003. Isolation and characterization of two exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* EP56, *Research in Microbiology*, **154**, 705-712
- Tamer, C.E., Çopur, Ö.U.** 2004. Gelenkesel bir içeceğimiz; boza, *Geleneksel Gıdalar Sempozyumu*, Gaziantep, 18-19 Eylül, s. 85-89
- Temmerman, R., Huys, G., Swings, J.** 2004. Identification of lactic acid bacteria: culture dependent and culture independent methods, *Trends in Food Science and Technology*, **15**, 348- 359
- Thyagaraja, N., Otani, H., Hosono, A.** 1992. Studies on microbiological changes during the fermentation of 'Idly', *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, **25**, 77-79
- Tieking, M., Korakli, M., Ehrmann, M.A., Gänzle, M.G., Vogel, R.F.** 2003. In situ production of exopolysaccharides during sourdough fermentation by cereal and intestinal isolates of lactic acid bacteria, *Applied and Environmental Microbiology*, **69** (2), 945-952
- Tieking, M., Gänzle, M.G.** 2005. Exopolysaccharides from cereal associated lactobacilli, *Trends in Food Science and Technology*, **16**, 1-6
- Tomasik, P.J., Tomasik, P.** 2003. Probiotics and prebiotics, *Cereal Chemistry*, **80**, 113-117
- TS-1135**, 1991. Hububat ve hububat mamülleri-rutubet miktarı tayini, *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.
- TS-1511**, 1974. Hububat, baklagiller ve bunların ürünleri kül tayini, *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.
- TS-1728**, 1974. Sebze ve sebze mamulleri pH tayini, *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara
- TS-7780**, 1990. Akide şekeri, *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.
- TS-9778**, 1992. Boza, *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.
- Welman, A.D., Maddox, I.S.** 2003. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria, *Trends in Biotechnology*, **21**, 269-274
- Wood, B.J.B. and Holzapfel, W.H.** 1992. The genera of lactic acid bacteria. Blackie Academic. London.
- Yavuz, M.** 2000. Bozanın reolojik karakterizasyonu, *Yüksek Lisans Tezi*, İTÜ, İstanbul.
- Zárate, G., Chaia, A.P., González, S., Oliver, G.** 2000. Viability and β -galactosidase activity of dairy propionibacteria subjected to digestion by artificial gastric and intestinal fluids, *Journal of Food Protection*, **63**, 1214-1221

ÖZGEÇMİŞ

Banu Bayram 1980 yılında İstanbul’ da doğmuştur. Özel Kültür Fen Lisesi’ nden 1998 yılında mezun olmuştur. Aynı sene İstanbul Üniversitesi Biyoloji Bölümü’ nü kazanmıştır. 2002 yılında üniversiteyi 4. sırada bitirip İTÜ Gıda Mühendisliği Bölümü’ nde yüksek lisans eğitimine başlamıştır.