

Geleneksel Yoğurtlardan İzole Edilen *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* İzolatlarının Bazı Aroma Metabolitlerinin HPLC İle Belirlenmesi

Fadime YAZDIÇ^{1*}, İsmail AKYOL², Ferit Can YAZDIÇ³

¹Bingöl Üniversitesi, Merkezi Laboratuvar Uygulama ve Araştırma Merkezi, Bingöl, ²Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Ankara, ³Munzur Üniversitesi, Pertek Sakine Genç Meslek Yüksekokulu/Veterinerlik Bölümü, Tunceli

¹<https://orcid.org/0000-0002-2515-9400>, ²<https://orcid.org/0000-0001-8856-0018>, ³<https://orcid.org/0000-0002-2762-3027>
✉: fyazdic@bingol.edu.tr

ÖZET

Bu çalışma, geleneksel yöntemle üretilen Türk yoğurtlarından izole edilmiş laktik asit bakterilerinin, süt laktozunun karbonhidrat metabolizmasındaki kullanım miktarlarını ve format, pirüvat, 3-hidroksi-2-bütanon (asetoin), etanol ve 2,3-bütandiol üretim miktarlarını HPLC ile tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Geleneksel ve endüstriyel yoğurt üretiminde yaygın olarak kullanılan iki laktik asit bakteri türü *Streptococcus thermophilus* (*St. thermophilus*) ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (*Lb. bulgaricus*) kültür stoğundan kullanılmıştır. 88 adet *St. thermophilus* ve 12 adet *Lb. bulgaricus*'un yukarıda adı geçen metabolitlerinin farklı besiyerlerinde ve sütte üretim potansiyelleri araştırılmıştır. *St. thermophilus* izolatları, anaerobik SM17, aerobik SM17, LM17 ve sütte, *Lb. bulgaricus* izolatları anaerobik MRS (Man, Rogosa ve Sharpe Broth) aerobik MRS ve sütte geliştirilmiştir. *St. thermophilus* izolatlarının belirlenen metabolit konsantrasyon aralıkları format, pirüvat, 3-hidroksi-2-bütanon, etanol ve 2,3-bütandiol miktarları sırasıyla $0.1\pm 0.0-77.0\pm 0.2$ mg/kg, $0.1\pm 0.0-90.2\pm 0.0$ mg/kg, $0.1\pm 0.0-127.0\pm 8.4$ mg/kg, $2.1\pm 0.0-191.4\pm 1.1$ mg/kg ve $1.1\pm 0.0-130.0\pm 5.2$ mg/kg olarak belirlenmiştir. *Lb. bulgaricus* izolatlarının format, pirüvat, 3-hidroksi-2-bütanon, etanol ve 2,3-bütandiol miktarları sırasıyla $0.2\pm 0.0-57.0\pm 1.0$ mg/kg, $0.1\pm 0.0-3.2\pm 1.0$ mg/kg, $0.1\pm 0.1-77.0\pm 2.0$ mg/kg, $9.1\pm 3.0-95.3\pm 5.0$ mg/kg ve $6.2\pm 0.2-98.4\pm 2.0$ mg/kg olarak belirlenmiştir. Çalışmada miktar aralıkları tespit edilen metabolitler, geleneksel yöntemlerle fermente edilen yoğurtlardan izole edilen bakterilerin alt kültürlerine aittir. Bu izolatlar ticari yoğurt endüstrisi için başlangıç kültürü olma potansiyeli taşımaktadır.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 04.08.2019

Kabul Tarihi : 28.11.2019

Anahtar Kelimeler

Yoğurt

St. thermophilus

Lb. bulgaricus

Aroma metaboliti

HPLC

Determination of Some Aroma Metabolites of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* Isolates from Traditional Yogurt, by HPLC

ABSTRACT

This study was conducted to determine lactic acid bacteria isolated from Turkish yoghurts produced by traditional methods, amounts of usage of milk lactose in carbohydrate metabolism and formate, pyruvate, 3-hydroxy-2-butanone (acetoin), ethanol and 2,3-butandiol production amounts by HPLC. Two lactic acid bacteria species, widely used in traditional and industrial yoghurt production *Streptococcus thermophilus* (*St. thermophilus*) and *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (*Lb. bulgaricus*) were used from cultural stock. Production potentials of the above mentioned metabolites of 88 pieces of *St. thermophilus* and 12 pieces of *Lb. bulgaricus* were researched in different mediums and milk. *St. thermophilus* isolates were grown in anaerobic SM17, aerobic SM17, LM17 and milk and *Lb. bulgaricus* isolates were grown in anaerobic MRS (Man, Rogosa and Sharp Broth), aerobic MRS and milk. Amounts of formate, pyruvate, 3-hydroxy-2-butanone, ethanol and 2,3-butandiol determined by HPLC of *St. thermophilus* isolates were specified respectively as $0.1\pm 0.0-77.0\pm 0.2$

Research Article

Article History

Received : 04.08.2019

Accepted : 28.11.2019

Keywords

Yoghurt

St. thermophilus

Lb. bulgaricus

Aroma metabolite

HPLC

mg/kg, 0.1±0.0-90.2±0.0 mg/kg, 0.1±0.0-127.0±8.4 mg/kg, 2.1±0.0-191.4±1.1 mg/kg and 1.1±0.0-130.0±5.2 mg/kg. Amounts of formate, pyruvate, 3-hydroxy-2-butanone, ethanol and 2,3-butandiol of *Lb. bulgaricus* isolates were specified respectively as 0.2±0.0-57.0±1.0 mg/kg, 0.1±0.0-3.2±1.0 mg/kg, 0.1±0.1-77.0±2.0 mg/kg, 9.1±3.0-95.3±5.0 mg/kg and 6.2±0.2-98.4±2.0 mg/kg. Metabolites that determined quantified ranges in study, belong to subcultures of bacteria isolated from yoghurts fermented by traditional methods. These isolates have the potential to be a starter culture for commercial yogurt industry.

To Cite : Yazdıç F, Akyol İ, Yazdıç FC Geleneksel Yoğurtlardan İzole Edilen *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* İzolatlarının Bazı Aroma Metabolitlerinin HPLC İle Belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 23 (2): 480-493. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.601431.

GİRİŞ

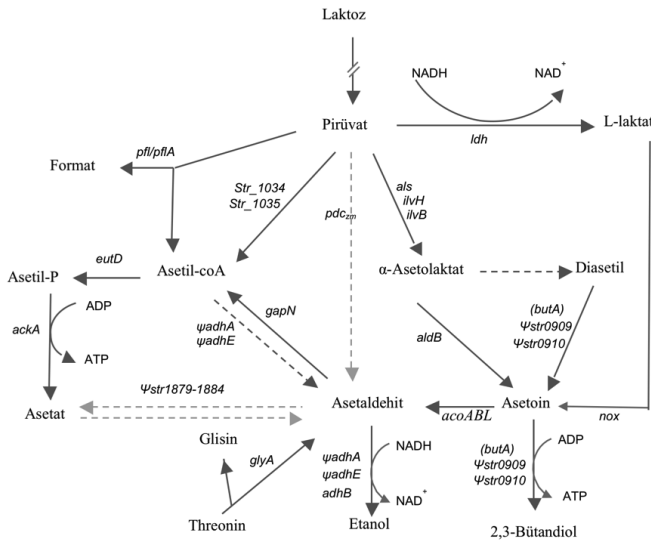
Yoğurt, *Lb. bulgaricus* ve *St. thermophilus* bakteri kültürleri tarafından üretilen fermente bir süt ürünüdür (Shoji ve ark., 2013). Bu bakteriler, pirüvat metabolizması yoluyla homofermentatif olarak altı karbonlu şekerleri laktik asit ve çeşitli karbonil bileşiklerine çevirirler (Gezginc ve ark., 2015). *Lb. bulgaricus* ve *St. thermophilus* arasındaki biyokimyasal protokooperasyon, *Lb. bulgaricus*'un büyümesi için gerekli olan ve *St. thermophilus* tarafından sağlanan format metaboliti ve *Lb. bulgaricus* suşları tarafından üretilen süt proteinleri kaynaklı serbest amino asitler ve peptitler tarafından uyarılmasına dayanmaktadır (Horiuchi ve Sasaki, 2012).

Bu bileşenlerin miktarları yoğurda aroma verirler ve yoğurdun tekstür yapısını etkilerler. *St. thermophilus*'un süt fermentasyonundaki ana rolü galaktozu metabolize etmek suretiyle laktik asit üreterek asitlik seviyesini yükseltmektir. Bu asitlik patojen mikroorganizmaların bulaşmasına engel olur (Derzelle ve ark., 2005) ve yoğurdun tadına katkıda bulunur.

Tat ve aroma, çeşitli fizikokimyasal özelliklere sahip pek çok uçucu ve uçucu olmayan bileşenlere bağlıdır (Rabha ve ark., 2011). Süt laktozu, *Lb. bulgaricus* ve *St. thermophilus* tarafından laktik asitle birlikte küçük miktarlarda aroma bileşenlerine metabolize edilirler (Örneğin; ketonlar, asitler, furanlar, aldehitler, sülfür bileşenleri ve diğer bileşenler; 10-50 mg/kg) (Cayot ve ark., 2011). Aslında yoğurt aroması, çok sayıda uçucu organik bileşen arasındaki dengedir ama yalnızca çok az bir bileşimin algılanan aromada önemli bir etkiye sahip olduğu görülmüştür (Imhof ve ark., 1995). LAB'de aroma oluşumunun başlangıcı ve merkezi olan pirüvat metabolizmasından sonraki biyokimyasal yollar, çeşitli aroma bileşenlerinin (Örneğin; asetat, format, etanol, asetaldehit, diasetil, asetoin ve 2,3-bütandiol) oluşumunu sağlamaktadır (Liu, 2003). Laktik asidin öncüsü (prekürsör) pirüvat, LAB tarafından karbondhidratlar, organik asitler ve amino asitler gibi pek çok substrattan üretilir. LAB'de pirüvat ve laktik asit formasyonu için, şekerler (altı

karbonlular ve beş karbonlular) genel olarak öncül substratlardır. Ancak, heksozlar (altı karbonlular) ve pentozların (beş karbonlular) pirüvat ve laktik aside dönüşümü için metabolik yolların kısa bir ana hattı Şekil 1'de gösterilmiştir. Bazı LAB, şeker fermentasyonlarını kullanarak pirüvat ve laktat üretir. Bunlar polioller, organik asitler, ve amino asitlerdir. Bu substratların pirüvat ve laktik aside transformasyonu türe özgüdür. Polioller genel olarak LAB tarafından fermente edilemezler ancak bazıları istisnadır. Bazı hekzitol (altı-karbonlu polioller) ve pentioller (beş-karbonlu polioller) karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılabilirler. Örn: Mannitol (hekzitol) (Liu, 2003). Ortamda glukoz sınırlı olduğunda, *St. thermophilus*'un sütte büyümesi ile pirüvat-format liyaz (*pfh*) aktivitesi ile format metaboliti sentezlenmektedir (Perez ve ark, 1991). Pirüvatın laktik aside indirgenmesinde Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) yolu kullanılır. Laktat dehidrogenaz (*ldh*) enzim geni bu sentezde rol oynamaktadır. LAB tarafından glukoz monomerleri, treonin amino asidi ve nükleik asitlerden bazı enzim sistemleri (sırasıyla aldehiddehidrogenaz, treonin aldolaz, deoksiriboaldolaz) ile asetaldehit metaboliti ve alkoldehidrogenaz enzimi ile etanol metaboliti sentezlenmektedir (Yazdıç, 2017).

İki dehidrogenaz geni (*adhA* ve *adhB*) ve diasetil/asetoin redüktaz geni (*butA*) diasetil ve asetoin metabolitlerinin oluşumundan sorumludur (Hols ve ark., 2005). Asetoin üretimi hakkındaki bir diğer yaygın yaklaşım, 2,3-bütandiolün seçici oksidasyonudur. Asetoin, fermentasyonun başlangıcında 2,3-bütandiole dönüşürken, fermentasyon ortalarına doğru az miktarda da olsa 2,3-bütandiol asetoina dönüşebilmektedir (Rao ve ark., 2011). Tüm bu aromalar, gıda ürününün tadı ve patojenlerce güvenilir olması konularında önemlidirler. Bu ise aroma üreten mikrobiyal suşların seçimini önemli kılmaktadır. Lezzet fermente süt ürünlerinin vazgeçilmez özelliğidir ve bu nedenle aroma üreten genel olarak güvenli bakterilerle araştırmaların yapılması ve bu bakterilerin süt endüstrisine kazandırılması gerekmektedir.



Sekil 1. Bir hekzozun pirüvat metabolizmasında aroma metabolitlerine indirgenmesi (Yazdıç, 2017).

Figure 1. Reduction of a hexose to aroma metabolites in pyruvate metabolism.

Bu çalışma, geleneksel yöntemle fermente edilen yoğurtlardan izole edilen bakterilerin (*St. thermophilus* ve *Lb. bulgaricus*) aroma profillerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Böylece yeni suş olma potansiyeli taşıyan izolatlar yoğurt endüstrisi için önerilebilecektir.

MATERYAL ve METOD

Suşların Tanımlanması

Morfolojik ve Biyokimyasal Tanımlama. Geleneksel olarak üretilmiş yoğurtlardan izole edilen (Gezginc, 2010) ve kültür stoğunda bulunan toplam 100 izolat (88 adet *St. thermophilus* ve 12 *Lb. bulgaricus*) ve iki adet *St. thermophilus* referans suşu (NCBF2393 ve NIZO130) çalışmada kullanılmıştır. *St. thermophilus* izolatları SM17 (% 0,5 sükrözlu LM17) besiyerinde 42°C'de, *Lb. bulgaricus* izolatları ise MRS besiyerinde (deMan, ve ark., 1960) 37°C'de aktive edilmiştir. Standart gram boyama metodu ile kok ve çubuk morfolojisine sahip *St. thermophilus* ve *Lb. bulgaricus* kolonileri birbirinden ayrılmıştır. Katı besiyerinde geliştirilen bazı izolatlar, karbon kaplama yapılarak Scanning Electron Microscop (Zeiss; EVO LS 10) ile görüntülenmiştir. Petrilere gelişen gram pozitif hücre kolonileri üzerine %3'lük H₂O₂ (Sigma-Aldrich) damlatılmak ve kabarcık oluşumu gözlemlenmek suretiyle katalaz aktivitesi varlığı test edilmiştir. İzolatlar arasından rastgele seçilen bir kaç tanesi BIOLOG ile biyokimyasal olarak tanımlanmıştır. Bir mikroorganizmanın 71 farklı karbon kaynağı ve 23 farklı kimyasala karşı hassasiyet (inhibe edici kimyasallara dayanıklılık) olmak üzere toplam 94 fenotipik yönden test edilmesi temeline dayanan bu yöntem ile standart *St. thermophilus* suşu NIZO130,

BioSt4, BioSt8, BioSt45 ve BioSt46 izolatları biyokimyasal olarak tanımlanmıştır.

Moleküler Tanımlama. Gelişen tek kolonilerden türe özgü polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) gerçekleştirilmiştir (Tabasco ve ark., 2007). *St. thermophilus* ve *Lb. bulgaricus* izolatları için 16S rRNA bölgesine özgü primerler kullanılarak, PZR ürününün uzunluğuna göre tanımlama gerçekleştirilmiştir (St F: 5' ACGCTGAAGAGAGGAGCTTG 3', St R: 5' GCAATTGCCCTTTCAAATA 3', Lb F: 5' TCAAAGATTCCTTCGGGATG 3', LB R: 5' TACGCATCATTGCCTTGTA 3'; Iontek-İstanbul, Türkiye). Polimeraz zincir reaksiyonu, 5 U/μL DNA polimeraz (Vivantis, Taiwan), 10X PZR tamponu (Vivantis, Taiwan) ileri ve geri primerlerden 20'şer pmol ve 2 mM deoksiniukleozit trifosfat (Sigma-Aldrich) olmak üzere toplam 40 μL hacimde yapılmıştır. PZR şartları, 95°C'de 5 dk ön denatürasyon, 94°C'de 30 sn, 60°C'de 20 sn ve 72°C'de 20 sn olarak toplamda 30 döngü ve son uzama 72°C'de 5 dk aksesuar basamağı olarak gerçekleştirilmiştir. Amplikonlar, (5 μL PZR ürünü ve 1 μL 6X yükleme tamponu) %1'lik agaroz jelde koşturulmuş ve UV altında görüntülenmiştir. *St. thermophilus* ampikon büyüklüğü yaklaşık 137 baz çifti, *Lb. bulgaricus* ampikon büyüklüğü yaklaşık 232 baz çifti büyüklüğünde belirlenmiştir.

Büyüme Şartları

St. thermophilus izolatları çiğ sütte ve % 0,5 sükröz içeren M17 (SM17) besiyerinde aerobik ve anaerobik şartlarda ve % 0,5 laktöz içeren M17 (LM17) aerobik şartta 42°C'de büyütülürken, *Lb. bulgaricus* izolatları, çiğ sütte, MRS besiyerinde aerobik ve anaerobik şartlarda 37°C'de geliştirilmiştir (Anaerobik şartlar Gezginc ve ark., 2015'teki gibidir).

HPLC ile Metabolik Son Ürünlerin Analizi

Format, pirüvat, 3-hidroksi-2-bütanon, etanol ve 2,3-bütandiol metabolitlerinin miktar tayinleri HPLC ile Gezginc ve ark., (2015)'te belirtildiği gibi Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi ÜSKİM'de yapılmıştır. Format, pirüvat ve asetoin absorbans değerleri 210 nm, etanol ve 2,3-bütandiol'ün absorbans değeri ise 190 nm'dir. Aroma metabolitlerinin ayrımı 30°C'de, 20 dk sürede gerçekleştirilmiştir. Metabolitler, HPLC Capcell Pak 5 μM C18 MG (150X4.6 mm) kolonda (Shiseido Co. Ltd., Tokyo, Japonya) ayrılmıştır. Fosfat tampon çözeltisi olarak metafosforik asit (Sigma-Aldrich) çözeltisi kullanılmıştır. Tüm inoküle kültürlerden 2 ml steril ependorflara eklenmiş ve 14,000 g'de 5 dk santrifüj edilerek, 0.5 ml süpernatant steril bir ependorfa eklenmiştir. Üzerine aynı hacimde %1'lik (w/v) metafosforik asit çözeltisinden eklenerek, 14,000 g'de 5 dk santrifüj edilmiştir. HPLC vial şişelerine 500 μl

süpernatant aktarılıp, HPLC'de okutulmuştur. Bu işlem her bir izolat için üç tekerrürlü yapılmıştır. Kalibrasyon eğrileri, metabolitlerin farklı konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla farklı absorbanslarda tespit edilerek çizilmiş, standartların R² denklemleri oluşturulmuştur. İzolatlara ait metabolit tekerrürlerinin ortalaması alınmış ve standart sapmaları hesaplanmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

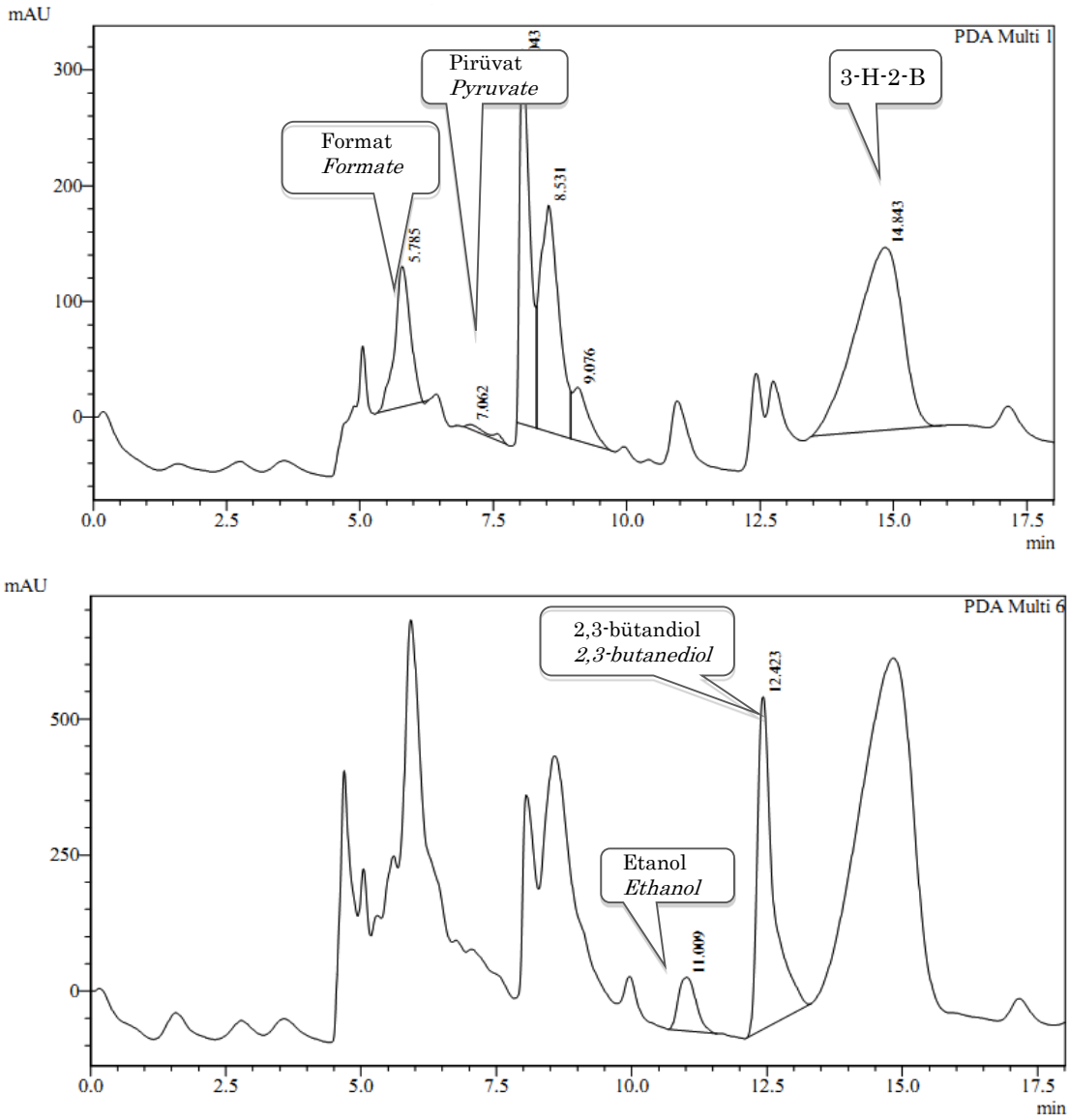
Bu çalışmada, geleneksel Türk yoğurtlarından izole edilmiş doğal *Lb. bulgaricus* ve *St. thermophilus* izolatlarının bazı metabolit (format, pirüvat, 3-H-2-B, etanol ve 2,3-bütandiol) üretim potansiyellerini araştırmak amaçlanmıştır. Buna göre, toplam 88 adet *St. thermophilus* izolatı 157 bç uzunluğunda PZR ürünü vermiş ve 12 adet *Lb. bulgaricus* izolatı ise 232

bç uzunluğunda PZR ürünü vererek tür bazında tanımlanmıştır.

St. thermophilus ve *Lb. bulgaricus* İzolatları 'nın Metabolit Üretimi

İzolatların metabolit konsantrasyonlarını tespit etmek için kullanılan beş farklı standart analitten format, pirüvat, laktat ve 3-hidroksi-2-bütanon (asetoin) 210 nm'de ve etanol, 2,3-bütandiol ise 190 nm'de absorbans vermiştir. Metabolitlere ait kromatogramlar Şekil 2'de gösterilmiştir.

Format: Çok çeşitli bileşikler (alkoller, aldehitler, esterler, kısa yağ asidi zincirleri, laktonlar, fenoller ve sülfür bileşikleri) gıda ürünlerinin tipik aromasını oluştururlar (Rabha ve ark.,2011). Fermente gıdalarda



Şekil 2. 5 farklı metabolit karışımının HPLC kromatogramı. A) format, pirüvat, asetoin 210nm'de, B) etanol ve 2,3-bütandiolün 190nm'de belirlenmesi.

Figure 2. HPLC chromatogram of 5 different metabolite mixtures. A) Determination of formate, pyruvate, acetoin at 210 nm, B) Ethanol and 2,3-butanediol at 190 nm

bu aromaların oluşumu kullanılan suşa, substrat çeşidi ve miktarına bağlıdır. Aroma biyosentezinde, LAB, genellikle pH ve sıcaklık gibi çevresel faktörlerden de etkilenebilmektedir. Çoğunlukla yeterli glukoz bulunduğu baskın olarak laktik aside dönüşen pirüvat, glukoz sınırlı olduğunda *pfl* enzim geni ile bir miktar formata dönüşmektedir (Olieman ve Vries, 1988). Çalışmada kullanılan *Lb. bulgaricus* ve *St. thermophilus* izolatlarında tespit edilen format miktarlarının az olması ve diğer metabolit miktarlarının daha yüksek olması (Çizelge 1 ve Çizelge 2), substrat konsantrasyonu bakımından yeterli besiyerlerinin kullanılmasıyla, pirüvatın çoğunlukla sonraki metabolitlere dönüştüğü şeklinde açıklanabilir. Pirüvat, öncelikle, LDH ile laktata katalize edilir. Bunun dışında, pirüvat dehidrogenaz, pirüvat oksidaz veya pirüvat-format liyaz enzimleri ile asetat, format ve CO₂ gibi ürünlere metabolize edilebilir (Liu, 2003). 3C'lu pirüvat, hem aerobik hem de anaerobik şartlarda altı karbonlu şekerlerin son ürüne dönüşümünde ara bileşik olduğu için HPLC ile miktar tayininde az çıkması beklenen bir durumdur (Çizelge 1).

St. thermophilus izolatları ve referans suşların HPLC analiz sonuçları Çizelge 1'de gösterilmiştir. Bu analize göre, sütte NCBF2393 suşu için format üretim miktarı 2.0±0.0 mg/kg iken, NIZO130 suşu için format üretim miktarı 2.2±0.1 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Sütte, BioSt83 izolatı, 51.3±0.1 mg/kg format ile en üretken izolat iken, (Şekil 3), 0.1±0.0 mg/kg miktarla pek çok izolat en düşük miktarda formatı üretmiştir.

Bazı izolatların ise formatı hiç üretmediği görülmüştür. Besiyerleri içerisinde, anaerobik SM17 besiyerinde BioSt76 izolatı 77±0.2 mg/kg ile en yüksek miktarda formatı üretmiştir. Format için tüm besiyerlerinde alt sınır 0.1±0.0 mg/kg olarak belirlenmiştir. Çizelge 2'de görüldüğü gibi, *Lb. bulgaricus* izolatları içerisinde sütte en yüksek format miktarı BioLb130 izolatında 8.2±1.0 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Sütte en düşük format üretimi 0.2±0.0 mg/kg olarak BioLb89, BioLb94 ve BioLb98 izolatlarında tespit edilmiştir. Besiyerleri içerisinde anaerobik MRS'de BioLb151 izolatının 57.0±1.0 mg/kg ile en yüksek miktarda format ürettiği görülürken, en düşük format miktarı BioLb65 izolatında 11.3±10.0 olarak belirlenmiştir.

Pirüvat. Besiyerinde bulunan karbon kaynakları, pirüvat dekarboksilaz yolu ile metabolize edildiğinden, pirüvatın ortamdaki varlığı kısa süreli olmaktadır. Analiz sonucunda ise, sütte pirüvat miktarı ya hiç bulunmamakta veya az miktarda bulunabilmektedir. Bu sonuç, pirüvatın ya tamamen metabolize olduğu yahut tamamına yakınının metabolize olduğu anlamına gelmektedir. Toplam 59 *St. thermophilus* izolatında, pirüvat metaboliti belirlenmemiştir. Bu sonuç, bu izolatlarda pirüvatın tamamen metabolize

olduğunu göstermektedir. Diğer izolatlarda ise en düşük 0.1±0.0 mg/kg, en yüksek 44.5±0.1 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Bu sayı, ortalama değerlerin çok üzerinde olduğundan bunun suşla ilgili bir nedenden kaynaklandığı söylenebilir. Süt dışındaki gelişme ortamlarında ise oldukça düşük miktarlarda varlığı görülmüştür. Anaerobik SM17'de en yüksek miktar 90.2±0.0 mg/kg olarak BioSt76 izolatında tespit edilirken, en düşük miktar 0.1±0.0 mg/kg olarak BioSt43 izolatında tespit edilmiştir. *Lb. bulgaricus* izolatları arasında, pirüvat miktarı, yalnızca BioLb130 ve BioLb157 izolatlarında tespit edilmiştir. BioLb130 izolatı için sütte 0.1±0.0 mg/kg, BioLb157 izolatı için ise sütte 0.1±0.0 mg/kg pirüvat tespit edilmiştir. Aerobik MRS ortamında ise BioLb157 izolatı için 3.2±0.0 mg/kg ile en yüksek pirüvat miktarı tespit edilirken, en düşük pirüvat miktarı 0.1±0.0 mg/kg olmuştur.

3-hidroksi-2-bütanon (Asetoin). Sütteki 3-H-2-B miktarı NCBF2393 suşu için 5.3±0.4 mg/kg, NIZO130 suşu için 5.3±0.4 mg/kg olarak belirlenmiştir (Çizelge 3). İzolatlar arasında BioSt75 sütte 63.0±0.0 mg/kg (en yüksek miktar), BioSt3, BioSt12, BioSt29 suşları için 0.1±0.0 mg/kg (en düşük miktar) 3-H-2-B tespit edilmiştir. Besiyerleri arasında en yüksek 3-H-2-B miktarı aerobik SM17'de 127±8.4 mg/kg ile BioSt112 izolatında görülürken, en düşük miktar 0.1±0.0 mg/kg ile sütte bazı izolatlarda (BioSt3, BioSt12, BioSt29) belirlenmiştir. Sütte, en yüksek 3-H-2-B, BioLb65 izolatı için 66.2±2.4 mg/kg, BioLb157 izolatı için 7.0±0.0 mg/kg 3-H-2-B (en düşük miktar) tespit edilmiştir (Çizelge 4). Anaerobik MRS'de BioLb155 izolatı için 0.1±0.1 mg/kg 3-H-2-B (en düşük miktar), yine aynı besiyerinde BioLb130 izolatı için 77.0±2.0 mg/kg 3-H-2-B (en yüksek miktar) tespit edilmiştir. Valenberg ve ark. (2014), yaptıkları çalışmada asetoin değerlerini nispi olarak yüksek miktarda bulduklarını belirtmişlerdir. *St. thermophilus* ve *Lb. bulgaricus* karışık kültürüne *L. rhamnosus* ve *B. animalis* subsp. *lactis* (YBB-12) suşlarını ayrı ayrı inoküle ederek fermente ettikleri yoğurt örnekleri arasında ilk dört saatte asetoin düzeyi anlamlı olarak daha yüksek (P < 0.05) bulunmuştur. Bu metabolit miktarlarındaki bulgular, bir günlük yoğurtta 0.24 ± 0.09 mg/kg (Gürsel ve ark., 2016) ve 89.06 mg/kg (Basioli ve ark., 2015) olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız referans suşlar (NCBF2393 ve NIZO130), *Lb. bulgaricus* ve *St. thermophilus* izolatlarında alt ve üst sınırlar arasındaki değerler daha önce yapılan çalışmalarla paralellik göstermektedir (Çizelge 3 ve Çizelge 4).

Rao ve ark. (2011), yaptıkları çalışmada, 96 saatten önce glukozun *B. subtilis* tarafından asetoina dönüştürüldüğünü ve asetoin miktarının 21.0 g/l olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuç kendi çalışmadaki sütte en yüksek sonuç (63.0±0.0 mg/ kg)

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan *St. thermophilus* izolatlarının HPLC ile belirlenen format ve pirüvat miktarları (En yüksek değerler sarı ile, en düşük değerler gri ile gösterilmiştir).

Table 1. *St. thermophilus* isolates, used in the study, of formate and pyruvate amounts determined by HPLC (The highest values shown in yellow and the lowest values in grey).

İzolat <i>Isolate</i>	Format (mg/kg) <i>Formate (mg/kg)</i>				Pirüvat (mg/kg) <i>Pyruvate (mg/kg)</i>			
	SM17 broth		SM17 broth		SM17 broth		SM17 broth	
	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>
NCBF2393	29.0±0.0	0.2±0.0	41.2±0.0	2.0±0.0	4.0±0.2	1.3±0.0	1.0±0.0	-
NIZO130	1.0±0.0	46.0±2.1	1.3±0.2	2.2±0.1	5.0±0.3	1.5±0.1	0.5±0.0	-
BioSt1	1.0±0.0	0.4±0.1	3.0±0.4	-	1.1±0.0	0.5±0.4	1.0±0.0	-
BioSt3	0.1±0.0	5.1±1.1	1.0±0.3	1.0±0.2	2.0±0.2	0.3±0.0	0.3±0.1	-
BioSt4	0.2±0.0	1.0±0.0	1.0±0.1	1.0±0.3	2.0±0.1	0.3±0.0	0.1±0.0	4.0±0.0
BioSt7	0.3±0.0	1.0±0.2	1.0±0.2	0.1±0.0	2.0±0.1	0.5±0.2	1.0±0.3	-
BioSt8	4.0±0.3	0.1±0.2	12.1±4.1	0.5±0.1	1.0±0.3	0.1±0.0	0.3±0.0	-
BioSt9	0.3±0.1	0.2±0.0	1.1±0.1	0.2±0.2	2.0±0.1	0.5±0.2	0.3±0.2	-
BioSt10	17.3±0.5	1.0±0.5	1.0±0.2	1.0±0.2	-	0.1±0.2	0.1±0.2	-
BioSt12	0.2±0.1	0.1±0.0	0.5±0.3	1.0±0.3	2.0±0.1	-	-	-
BioSt13	0.5±0.1	9.0±0.5	19.0±0.4	1.0±0.1	1.0±0.2	0.5±0.0	0.3±0.0	-
BioSt14	0.2±0.0	0.5±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	2.0±0.0	-	-	-
BioSt15	1.0±0.1	7.1±6.0	0.1±0.0	0.3±0.2	1.0±0.2	0.5±0.3	0.2±0.3	-
BioSt16	2.5±1.0	7.1±6.0	11.0±1.1	0.3±0.1	1.0±0.1	0.4±0.0	0.3±0.1	-
BioSt17	5.4±1.0	8.0±1.0	11.0±1.0	1.0±0.1	1.0±1.0	0.5±0.2	0.3±0.1	-
BioSt18	0.5±0.1	7.0±3.0	5.2±1.0	0.4±0.2	1.1±1.0	0.4±0.1	6.2±0.2	-
BioSt19	0.5±0.0	7.2±5.5	10.4±9.0	1.0±0.2	1.0±1.0	0.5±0.1	0.4±0.1	-
BioSt20	1.5±0.5	4.0±0.1	6.0±0.0	1.0±0.1	1.0±0.7	0.5±0.1	0.3±0.3	-
BioSt25	1.1±0.4	8.1±5.3	12.5±9.0	1.0±0.2	1.0±0.1	1.0±0.4	0.3±0.2	-
BioSt26	2.1±0.2	0.6±0.1	0.4±0.1	-	-	1.0±0.4	0.1±0.0	-
BioSt27	0.3±0.1	7.4±6.4	1.0±0.2	1.0±0.2	1.5±0.3	0.3±0.1	0.2±0.0	-
BioSt28	0.2±0.1	4.0±0.5	1.0±0.2	1.0±0.1	2.0±0.1	0.3±0.1	0.2±0.1	-
BioSt29	1.0±0.3	0.3±0.1	1.0±0.4	-	1.0±1.0	1.0±0.2	0.5±0.1	-
BioSt30	0.2±0.1	0.1±0.3	1.0±0.3	-	1.0±0.1	1.0±0.3	1.0±0.4	0.2±0.1
BioSt33	0.1±0.0	0.1±0.0	1.0±0.1	-	1.0±1.0	1.0±0.3	0.5±0.4	0.1±0.0
BioSt34	0.2±0.2	0.2±0.2	1.0±0.3	-	1.0±0.1	1.0±0.2	0.4±0.1	-
BioSt35	0.2±0.0	0.2±0.0	1.0±0.3	-	1.0±0.0	1.0±0.2	1.0±0.4	-
BioSt36	2.0±0.1	0.3±0.1	0.2±0.1	-	0.3±0.1	0.4±0.0	0.3±0.1	0.5±0.1
BioSt37	0.2±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1	-	1.0±0.1	0.3±0.1	1.0±0.1	0.3±0.1
BioSt38	0.4±0.1	0.1±0.1	1.0±0.1	-	2.0±0.1	1.0±0.1	1.0±0.1	-
BioSt40	0.3±0.1	2.2±0.1	0.1±0.1	0.2±0.1	-	-	-	0.4±0.3
BioSt42	8.0±1.0	1.2±0.0	1.0±0.3	-	1.0±0.0	1.2±1.0	1.0±0.0	-
BioSt43	1.0±0.0	1.0±0.3	1.5±0.5	-	0.1±0.0	1.4±1.0	1.0±0.0	-
BioSt44	-	1.0±0.3	3.0±2.3	-	1.3±0.1	2.2±0.1	1.3±0.1	-
BioSt45	-	1.0±0.3	3.0±2.3	-	1.3±0.1	2.2±0.1	1.3±0.1	4.0±0.1
BioSt46	1.0±0.3	1.0±0.4	1.0±0.2	-	1.0±0.0	1.0±0.1	1.2±1.0	-
BioSt47	-	1.0±0.4	1.0±0.4	-	1.0±0.1	1.1±1.3	1.0±1.0	0.2±0.3
BioSt49	0.3±0.1	1.0±0.5	0.3±0.2	0.1±0.2	1.0±1.0	1.5±1.2	1.0±1.0	0.1±0.1
BioSt50	0.2±0.1	1.0±0.2	0.4±0.3	-	1.1±1.0	1.3±1.2	1.1±1.0	-
BioSt53	1.0±0.2	0.5±0.1	0.5±0.1	0.1±0.0	1.0±1.0	1.0±0.4	1.0±0.2	-
BioSt54	0.2±0.1	1.0±0.3	0.4±0.3	0.1±0.0	1.0±0.1	1.5±1.4	1.0±0.4	0.1±0.0
BioSt55	0.1±0.0	1.0±0.3	0.1±0.1	-	-	1.5±1.3	0.2±0.1	-
BioSt56	0.4±0.1	1.0±0.2	0.2±0.1	0.3±0.2	1.0±0.0	2.0±1.1	1.0±1.0	0.1±0.0
BioSt57	0.3±0.3	1.0±0.0	0.3±0.1	0.1±0.0	1.0±0.4	2.0±1.3	1.0±0.1	0.1±0.0
BioSt58	3.0±0.4	1.0±0.5	0.3±0.3	0.1±0.2	0.5±0.1	2.0±1.0	1.0±0.0	-
BioSt59	1.0±0.5	1.0±0.1	0.3±0.1	1.0±0.0	0.5±0.2	2.1±1.2	1.0±0.1	-
BioSt60	1.0±0.5	0.4±0.3	0.2±0.1	0.5±0.2	1.0±0.5	2.0±1.0	0.1±0.1	-
BioSt61	1.0±0.5	1.0±0.2	0.2±0.2	0.1±0.1	1.0±0.1	2.0±0.1	0.1±0.0	-

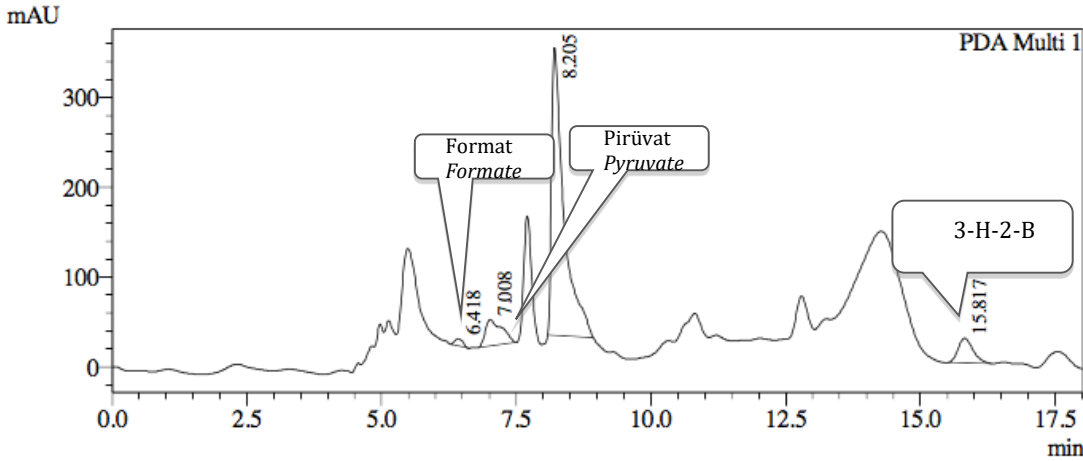
Çizelge 1. Çalışmada kullanılan *St. thermophilus* izolatlarının HPLC ile belirlenen format ve pirüvat miktarları (En yüksek değerler sarı ile, en düşük değerler gri ile gösterilmiştir) (Devam)

Table 1. *St. thermophilus* isolates, used in the study, of formate and pyruvate amounts determined by HPLC (The highest values shown in yellow and the lowest values in grey) (Continuation)

İzolat <i>Isolate</i>	Format (mg/kg) <i>Formate (mg/kg)</i>				Pirüvat (mg/kg) <i>Pyruvate (mg/kg)</i>			
	SM17 broth		LM17	Süt <i>Milk</i>	SM17 broth		LM17	Süt <i>Milk</i>
	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>			Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>		
BioSt62	1.0±0.4	0.5±0.1	0.2±0.2	0.1±0.0	0.5±0.2	2.0±1.3	-	-
BioSt63	0.5±0.3	1.0±0.2	0.3±0.1	0.1±0.0	0.5±0.3	2.0±1.0	0.4±0.1	-
BioSt64	1.3±0.0	0.4±0.1	0.3±0.1	0.3±0.0	1.0±0.0	1.0±0.1	0.4±0.1	1.0±0.1
BioSt66	1.1±0.5	1.0±0.5	3.0±0.1	0.1±0.0	2.0±0.1	2.4±1.5	1.0±0.0	2.0±1.5
BioSt67	0.5±0.5	0.5±0.4	2.5±1.4	-	2.0±1.0	2.2±1.3	1.0±0.1	2.0±1.4
BioSt68	0.2±0.0	1.0±0.1	3.0±2.0	0.1±0.0	1.4±0.1	2.0±1.2	0.4±0.1	1.3±1.1
BioSt69	0.4±0.2	1.0±0.0	3.0±0.0	-	2.0±1.0	2.2±1.3	1.0±0.0	1.5±1.3
BioSt70	0.4±0.0	1.1±0.1	2.4±1.5	-	1.4±1.0	2.0±1.3	1.0±0.0	1.4±1.2
BioSt71	0.5±0.0	1.0±0.2	1.7±0.3	-	1.5±1.0	2.1±1.5	1.0±0.1	2.0±0.5
BioSt74	0.5±0.5	0.3±0.0	3.0±0.3	0.1±0.0	1.4±0.1	2.0±1.2	1.0±0.1	2.0±0.0
BioSt75	4.2±0.0	15.5±0.0	37.1±0.0	12.0±0.0	30.0±0.0	42.0±0.0	9.0±0.0	14.0±0.0
BioSt76	77.0±0.2	7.1±0.0	7.1±0.0	0.2±0.1	90.2±0.0	90.0±0.0	10.0±0.2	1.0±0.0
BioSt80	42.5±0.1	50.1±0.0	14.0±0.2	25.1±0.1	8.0±0.1	53.5±0.2	13.5±0.0	1.0±0.0
BioSt81	0.2±0.1	-	3.1±1.0	-	1.4±0.1	2.0±1.2	0.4±0.1	1.1±0.1
BioSt83	11.0±0.1	8.0±0.2	5.0±0.2	51.3±0.1	29.0±0.1	31.0±0.0	4.4±0.0	44.5±0.1
BioSt85	2.1±2.0	0.3±0.0	0.4±0.0	-	2.0±1.3	0.1±0.0	1.7±1.2	-
BioSt91	4.3±0.1	3.4±3.0	3.0±1.3	-	1.5±1.0	2.0±1.2	0.3±0.1	2.0±1.5
BioSt93	4.6±0.2	4.0±4.0	3.0±2.0	-	1.4±1.0	2.2±1.4	1.0±0.5	2.0±1.4
BioSt97	0.3±0.0	4.0±3.2	3.0±1.3	-	1.0±0.1	2.0±1.3	0.4±0.1	2.0±1.1
BioSt99	0.3±0.0	4.1±3.4	3.0±1.2	0.1±0.0	1.2±1.1	1.0±0.0	1.0±0.3	0.2±0.0
BioSt100	0.2±0.0	3.4±3.0	2.0±1.0	-	1.4±0.1	1.0±0.2	0.5±0.2	1.6±1.4
BioSt102	0.1±0.0	3.2±1.1	2.0±1.0	0.1±0.0	1.0±0.0	1.5±1.2	0.5±0.2	1.5±1.3
BioSt104	1.2±0.3	3.0±2.4	2.0±0.5	0.1±0.0	1.3±0.1	1.0±0.2	0.5±0.2	1.5±1.3
BioSt108	0.2±0.0	3.4±2.5	1.2±1.1	-	1.2±0.4	1.0±0.3	1.0±0.2	2.0±1.3
BioSt109	0.2±0.0	10.0±1.0	1.4±1.3	-	1.4±1.0	1.0±0.4	0.4±0.2	1.4±0.3
BioSt110	0.3±0.0	9.5±8.3	1.5±1.4	-	2.0±1.0	0.7±0.3	0.5±0.2	2.0±2.0
BioSt112	0.4±0.0	3.3±2.5	1.5±1.3	-	1.5±1.0	1.0±0.4	1.0±0.0	2.0±1.4
BioSt115	0.5±0.0	7.3±2.1	3.4±0.2	-	1.2±0.2	2.0±1.3	1.0±0.0	2.0±2.0
BioSt118	0.5±0.0	1.0±0.5	2.2±2.2	-	2.0±1.2	1.2±0.2	1.0±0.0	2.1±2.0
BioSt119	0.4±0.0	1.2±0.4	1.3±1.2	-	1.4±1.2	2.0±0.0	1.0±0.1	2.4±2.0
BioSt121	-	2.0±1.0	1.3±0.2	-	3.0±2.0	3.0±1.0	2.1±0.1	2.0±1.5
BioSt123	-	2.0±1.2	1.0±0.0	-	3.0±2.1	3.0±2.0	2.2±2.0	2.0±1.4
BioSt127	-	7.0±1.3	1.4±1.3	-	3.0±2.2	3.0±2.1	2.1±2.0	2.0±1.4
BioSt132	0.5±0.4	1.1±1.0	1.4±1.3	-	1.0±0.0	1.1±0.1	0.5±0.2	1.3±1.0
BioSt134	6.0±0.4	5.0±0.4	9.0±1.2	-	2.0±1.4	2.2±1.0	2.0±1.3	2.0±1.4
BioSt161	-	9.0±7.2	1.0±0.1	0.1±0.0	1.0±0.0	2.3±1.0	2.1±0.1	2.0±0.4
BioSt162	11.1±5.2	13.1±2.3	8.0±0.4	-	2.2±0.1	2.2±0.1	2.0±1.2	1.5±0.3
BioSt164	4.2±1.0	8.0±1.2	1.5±0.3	-	1.0±0.1	1.0±0.5	1.2±1.0	0.4±0.0
BioSt169	12.2±2.3	9.0±0.1	3.0±0.2	-	1.0±0.2	2.4±0.1	1.3±0.4	0.3±0.3
BioSt171	13.3±2.0	-	3.0±0.4	-	9.0±0.1	-	2.0±0.1	0.1±0.0
BioSt172	11.0±2.5	-	3.0±0.1	-	1.0±0.2	-	2.2±0.1	0.1±0.0
BioSt173	10.0±2.5	-	3.0±0.1	-	0.3±0.0	-	2.0±0.1	1.4±0.1

ile kıyaslandığında, oldukça yüksek görünmektedir. Fermentasyon sonunda bu sayının 42.2 g/l'ye ulaştığını belirtmişlerdir. Dolayısıyla Rao ve ark. (2011)'nin bulguları çalışmamız ile paralellik göstermemektedir.

Etanol. Fermentatif mikroorganizmaların biyosentezi, tipik olarak gıda patojenleri ve bulaşıcı organizmaların büyümesini durduran asitler ve alkollerin üretimi ile sağlanmaktadır (Sieuwerts ve ark., 2008). Bir alkol türevi olan etanol metaboliti, asetaldehit oluşumundan sonra sentezlenir.



Şekil 3. BioSt83 izolatının geliştiği süt ekstraktının 210 nm'deki kromatogramı.
Figure 3. The chromatogram at 210 nm of the milk extract that BioSt83 isolate grew.

Çizelge 2. Çalışmada kullanılan *Lb. bulgaricus* izolatlarının HPLC ile belirlenen format ve pirüvat miktarları (En yüksek değerler sarı ile, en düşük değerler gri ile gösterilmiştir).

Table 2. *Lb. bulgaricus* isolates, used in the study, of formate and pyruvate amounts determined by HPLC (The highest values shown in yellow and the lowest values in grey).

İzolat Isolate	Format (mg/kg) (Formate (mg/kg))			Pirüvat (mg/kg) (Pyruvate (mg/kg))		
	MRS Broth			MRS Broth		
	Anaerobik Anaerobic	Aerobik Aerobic	Süt Milk	Anaerobik Anaerobic	Aerobik Aerobic	Süt Milk
BioLb65	19.0±6.1	11.3±10.0	-	-	-	-
BioLb89	19.3±7.1	13.0±2.0	0.2±0.0	-	-	-
BioLb94	15.3±0.5	20.1±0.1	0.2±0.0	-	-	-
BioLb98	19.0±8.0	12.2±2.0	0.2±0.0	-	-	-
BioLb130	19.0±6.1	-	8.2±1.0	0.1±0.0	-	0.1±0.0
BioLb151	57.0±1.0	17.4±1.0	3.0±1.0	-	-	-
BioLb152	17.2±3.0	-	-	-	-	-
BioLb153	19.3±1.1	17.3±1.0	0.3±0.1	-	-	-
BioLb154	21.2±5.0	18.0±1.0	0.4±0.2	-	-	-
BioLb155	21.1±0.4	18.1±4.4	1.7±0.2	-	-	-
BioLb157	24.0±0.0	18.5±5.3	3.0±0.3	0.5±0.0	3.2±1.0	0.1±0.0
BioLb159	27.0±1.0	22.0±0.2	0.3±0.0	-	-	-

Çizelge 4. Çalışmada kullanılan *Lb. bulgaricus* izolatlarının HPLC ile belirlenen 3-H-2-B, etanol ve 2,3-bütandiol miktarları (En yüksek değerler sarı ile, en düşük değerler gri ile gösterilmiştir).

Table 4. *Lb. bulgaricus* isolates, used in the study, of 3-H-2-B, ethanol and 2,3-butanediol amounts determined by HPLC (The highest values shown in yellow and the lowest values in grey).

İzolat Isolate	3-H-2-B (mg/kg)			Etanol (mg/kg) Ethanol (mg/kg)			2,3-bütandiol (mg/kg) 2,3-butanediol (mg/kg)		
	MRS Broth			MRS Broth			MRS Broth		
	Anaerobik Anaerobic	Aerobik Aerobic	Süt Milk	Anaerobik Anaerobic	Aerobik Aerobic	Süt Milk	Anaerobik Anaerobic	Aerobik Aerobic	Süt Milk
BioLb65	2.4±2.2	3.5±1.0	66.2±2.4	26.2±8.0	52.1±6.0	32.0±3.5	96.0±1.0	44.5±1.0	23.3±9.0
BioLb89	1.2±1.5	4.0±3.4	-	90.0±4.0	66.4±3.0	62.0±5.0	17.0±4.0	49.0±3.0	32.0±3.1
BioLb94	75.4±0.0	4.0±2.3	-	66.5±2.0	25.0±6.4	76.2±3.2	17.0±5.0	49.0±1.5	32.0±4.0
BioLb98	-	8.1±3.0	-	92.0±4.3	62.1±3.1	47.0±3.0	30.0±3.3	12.0±2.3	28.0±3.0
BioLb130	77.0±2.0	-	-	35.5±8.0	48.0±0.0	56.0±0.0	22.0±4.0	98.0±5.1	30.1±3.1
BioLb151	4.0±0.3	4.0±0.3	-	21.0±3.4	24.0±4.0	65.4±3.2	18.0±1.4	78.0±1.4	30.0±0.3
BioLb152	1.0±0.1	-	-	78.2±5.0	-	-	73.2±1.3	-	-
BioLb153	1.0±0.1	4.0±1.1	-	31.0±9.0	9.1±3.0	75.1±2.0	98.4±2.0	79.0±6.0	6.2±0.2
BioLb154	20.0±5.0	5.0±0.1	-	87.0±8.0	18.0±2.0	67.1±2.0	16.4±2.1	30.1±3.0	30.3±2.0
BioLb155	0.1±0.1	-	-	95.3±5.0	92.1±4.0	27.0±4.0	31.0±3.0	88.0±3.0	28.4±2.3
BioLb157	25.0±3.0	6.0±2.0	7.0±0.0	90.0±11.0	19.0±4.0	20.1±7.1	13.5±1.1	20.4±2.1	27.0±4.0
BioLb159	-	3.5±2.0	-	85.0±8.0	61.1±2.0	28.0±0.0	18.0±1.2	14.4±4.4	69.1±0.0

Çizelge 3. Çalışmada kullanılan *St. thermophilus* izolatlarının HPLC ile belirlenen 3-H-2-B, etanol ve 2,3-bütandiol miktarları (En yüksek değerler sarı ile, en düşük değerler gri ile gösterilmiştir)

Table 3. *St. thermophilus* isolates, used in the study, of 3-H-2-B and ethanol and 2,3-butanediol amounts determined by HPLC (The highest values shown in yellow and the lowest values in grey)

İzolat <i>Isolate</i>	3-H-2-B (mg/kg)				Etanol (mg/kg) <i>Ethanol (mg/kg)</i>				2,3-bütandiol (mg/kg) <i>2,3-butanediol (mg/kg)</i>			
	SM17 broth				SM17 broth				SM17 broth			
	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>
NCBF2393	10.0±0.1	5.3±0.1	9.0±2.0	5.3±0.4	-	-	13.0±1.0	-	-	-	-	162.1±7.4
NIZO130	10.0±0.1	11.4±1.5	12.5±5.2	5.3±0.4	-	-	-	-	58.5±18.1	66.0±11.0	-	118.2±7.0
BioSt1	99.2±2.2	2.0±0.3	3.5±1.0	0.5±0.0	49.4±0.0	48.4±1.1	39.0±5.1	60.1±12.1	86.5±0.0	13.0±0.3	24.5±3.4	27.4±4.0
BioSt3	4.3±0.5	10.0±1.0	7.1±5.0	0.1±0.0	26.2±6.0	97.0±2.0	33.0±4.3	17.3±2.0	5.0±0.3	3.1±3.0	4.5±2.0	33.0±4.0
BioSt4	4.1±0.1	6.4±0.4	5.2±2.5	0.2±0.0	26.0±5.0	5.1±0.4	28.0±3.1	19.0±0.2	6.0±0.3	4.0±0.2	5.0±0.1	34.1±4.4
BioSt7	5.0±0.1	7.2±3.2	4.5±2.3	0.2±0.0	23.4±2.0	22.1±1.0	50.0±5.0	17.0±2.3	7.0±0.2	52.0±1.0	74.0±1.1	33.5±3.4
BioSt8	1.0±0.4	59.4±2.1	94.2±4.4	8.0±0.0	17.3±6.2	11.3±6.0	49.0±16.2	15.0±3.0	7.0±0.4	14.4±1.1	16.2±4.0	30.0±7.3
BioSt9	1.0±0.4	59.4±4.1	58.1±9.2	4.4±0.7	7.2±2.0	20.0±10.2	7.2±2.0	-	-	78.5±58.4	35.0±6.2	-
BioSt10	1.0±0.4	59.4±9.1	58.1±4.2	4.4±1.7	-	-	-	-	39.5±22.3	22.2±0.4	9.0±0.5	-
BioSt12	4.2±0.1	4.2±2.2	4.0±0.4	0.1±0.0	92.2±12.3	48.4±3.1	75.0±13.4	14.0±4.4	6.0±0.1	43.3±6.3	59.2±9.3	31.0±1.0
BioSt13	1.0±0.0	2.0±0.1	7.0±1.2	3.0±1.0	47.0±4.0	55.1±6.0	52.0±4.5	58.0±7.0	42.0±3.0	39.0±3.4	56.2±3.3	41.2±5.0
BioSt14	5.0±0.5	57.1±0.1	4.4±0.2	-	47.2±10.3	75.0±14.5	46.5±10.2	18.5±1.4	6.0±3.0	15.0±1.2	9.0±0.0	36.3±4.0
BioSt15	1.1±0.5	1.4±0.3	3.1±0.2	2.0±0.5	51.2±7.1	61.5±4.3	44.0±4.0	72.2±8.0	42.3±7.3	36.1±3.0	56.1±8.3	47.4±3.1
BioSt16	1.2±0.5	2.0±0.4	31.0±1.0	2.0±0.1	55.0±7.1	89.0±7.0	47.0±6.0	66.1±4.5	43.4±7.3	38.0±6.0	64.0±9.0	25.4±3.0
BioSt17	1.1±0.4	2.0±0.5	3.0±1.1	1.4±1.2	14.5±7.3	11.0±3.0	44.2±1.3	77.0±3.0	43.6±5.5	37.5±5	58.3±9.0	29.2±2.4
BioSt18	1.1±0.4	2.0±0.3	2.0±1.0	2.2±0.2	38.2±4.2	58.0±1.2	41.0±7.0	12.2±5.0	43.0±4.4	38.0±6.0	56.0±2.0	42.0±4.0
BioSt19	1.3±0.4	2.0±0.4	3.0±2.0	3.0±1.5	60.0±7.2	26.2±8.2	82.0±10.0	71.0±10.3	42.3±3.3	39.0±7.2	59.0±9.5	40.3±2.0
BioSt20	1.3±0.3	1.5±0.2	4.0±0.5	2.3±2.0	91.5±8.0	49.0±3.0	38.5±1.3	70.0±10.2	23.0±2.2	90.0±6.0	41.1±3.0	31.0±7.3
BioSt25	1.2±0.1	2.0±0.1	3.3±1.0	2.0±0.2	99.0±13.2	57.6±5.0	43.3±3.4	80.0±2.1	42.1±7.0	39.4±6.2	56.2±10.0	39.0±2.0
BioSt26	2.0±2.1	1.1±0.1	2.0±1.0	2.2±1.0	12.0±8.4	20.5±4.0	10.0±8.4	11.0±1.0	86.1±11.2	16.3±2.1	89.0±7.0	15.0±1.3
BioSt27	4.0±0.1	3.4±2.0	4.0±0.3	-	30.0±2.2	44.0±5.3	76.1±7.0	16.0±1.5	6.0±1.0	3.0±2.0	79.2±5.2	34.1±5.0
BioSt28	4.5±0.5	3.7±1.2	4.0±0.3	-	41.0±4.2	58.0±6.3	39.0±7.2	15.0±1.4	7.0±1.4	50.3±6.4	57.2±8.1	36.2±1.1
BioSt29	1.3±0.2	1.0±0.4	4.0±0.5	0.1±0.0	97.0±3.4	46.0±3.5	84.0±0.3	29.3±6.0	6.2±0.3	19.7±5.5	10.4±4.4	35.0±4.0
BioSt30	1.0±0.1	1.2±1.0	3.5±1.0	0.3±0.0	73.0±8.5	103.5±5.0	56.0±8.3	5.0±2.0	48.0±1.4	44.1±5.5	54.0±1.0	33.0±5.0
BioSt33	9.0±2.0	1.1±1.0	3.5±1.0	2.2±2.0	55.0±7.1	102.4±4.3	59.3±1.3	5.0±1.0	49.3±3.5	44.3±6.0	54.2±1.0	33.2±4.0
BioSt34	1.0±0.1	1.0±0.1	4.0±0.5	1.4±0.5	79.0±5.3	18.1±2.0	31.3±3.0	11.0±1.0	41.0±7.0	45.5±8.5	58.5±9.4	42.0±1.2
BioSt35	1.0±0.1	1.0±0.3	4.4±0.2	1.3±0.3	42.4±5.0	83.0±3.1	80.0±7.5	11.0±4.0	42.0±1.0	45.4±8.0	55.1±5.0	42.0±7.2

Çizelge 3. Çalışmada kullanılan *St. thermophilus* izolatlarının HPLC ile belirlenen 3-H-2-B, etanol ve 2,3-bütandiol miktarları (En yüksek değerler sarı ile, en düşük değerler gri ile gösterilmiştir) (Devam)

Table 3. *St. thermophilus* isolates, used in the study, of 3-H-2-B and ethanol and 2,3-butanediol amounts determined by HPLC (The highest values shown in yellow and the lowest values in grey) (Continuation)

İzolat <i>Isolate</i>	3-H-2-B (mg/kg)				Etanol (mg/kg) <i>Ethanol (mg/kg)</i>				2,3-bütandiol (mg/kg) <i>2,3-butanediol (mg/kg)</i>			
	SM17 broth				SM17 broth				SM17 broth			
	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>
BioSt36	6.1±0.1	4.0±3.3	1.0±0.2	0.2±0.1	41.0±2.0	114.5±9.2	38.0±3.0	4.0±0.3	54.3±4.0	14.1±9.0	42.0±2.0	22.0±9.0
BioSt37	3.1±0.4	0.2±0.0	3.5±1.0	-	47.0±9.0	42.2±6.0	31.0±3.5	8.0±3.3	78.0±1.2	84.0±5.3	87.0±1.0	39.3±4.4
BioSt38	-	7.1±0.1	10.0±1.1	0.5±0.0	67.5±9.5	12.4±1.0	35.0±5.1	97.0±0.4	1.5±0.2	9.3±0.5	6.0±0.4	42.0±3.0
BioSt40	0.2±0.2	0.3±0.0	0.4±0.4	23.0±2.0	81.1±0.3	47.1±1.0	28.5±3.0	22.0±2.1	48.0±8.0	81.0±7.1	17.4±3.0	84.0±2.5
BioSt42	6.5±2.4	1.2±1.0	2.0±1.0	1.0±0.3	53.5±1.3	45.0±7.0	46.0±2.0	11.4±1.5	62.4±1.0	61.0±5.0	76.3±1.0	29.0±2.0
BioSt43	6.0±0.4	2.0±1.4	2.2±1.5	1.0±0.3	21.4±2.0	43.0±1.5	42.5±3.0	7.0±1.5	63.0±4.2	65.2±10.0	76.3±5.1	12.5±2.0
BioSt44	7.5±1.4	2.3±0.2	2.1±1.1	-	21.2±0.4	46.3±3.0	61.5±2.0	7.3±2.0	5.0±1.0	7.1±0.3	14.3±0.2	27.0±1.0
BioSt45	7.5±1.4	2.3±0.2	2.1±1.1	1.0±0.1	21.2±0.4	46.3±3.0	61.5±2.0	7.3±2.0	5.0±0.5	7.1±0.3	14.3±0.2	27.0±1.0
BioSt46	6.6±0.3	2.0±1.3	2.0±1.0	0.2±0.1	38.3±4.0	81.0±2.0	63.5±5.3	13.0±0.4	56.0±0.5	68.0±6.1	81.0±1.0	28.5±0.5
BioSt47	27.3±0.0	2.1±0.1	1.3±0.4	12.4±0.2	20.0±1.3	10.1±1.0	26.0±4.0	0.2±0.1	76.0±5.2	38.0±2.0	40.5±3.3	43.4±0.2
BioSt49	3.4±3.0	3.0±1.4	2.0±1.1	12.5±1.1	62.0±4.2	29.1±8.0	93.0±4.1	36.0±3.0	41.4±6.1	42.0±6.1	69.0±9.4	35.0±1.2
BioSt50	4.0±3.0	2.4±1.0	2.0±1.1	0.2±0.0	68.4±5.5	18.2±7.0	62.0±3.0	8.4±0.4	14.0±1.5	47.0±6.2	72.0±1.2	22.1±2.0
BioSt53	4.0±3.0	2.1±2.0	2.0±1.0	10.0±1.4	59.0±3.4	29.0±0.5	10.0±4.3	31.0±2.0	11.0±8.0	31.2±6.4	30.6±2.4	33.3±2.0
BioSt54	4.0±0.2	4.3±1.3	2.0±1.2	9.0±1.2	65.0±6.5	18.0±5.0	76.0±2.3	42.0±3.0	20.2±4.5	96.1±1.4	96.5±4.1	32.0±1.0
BioSt55	0.3±0.0	3.0±1.0	2.0±1.1	-	46.4±1.0	50.0±2.0	20.0±5.4	-	42.0±2.4	17.4±6.1	85.0±2.0	-
BioSt56	6.0±1.4	6.0±5.2	2.0±1.3	13.1±2.2	78.3±2.3	78.5±3.0	61.0±1.3	47.0±3.0	58.0±0.1	49.1±8.0	68.5±6.0	37.5±0.5
BioSt57	6.0±1.1	5.0±1.2	3.0±1.0	8.2±2.0	62.2±4.4	74.5±5.0	90.1±2.5	91.3±3.0	69.5±1.1	54.0±0.4	61.0±2.4	33.5±7.3
BioSt58	6.2±2.0	6.0±2.5	3.1±0.1	5.4±0.2	45.5±4.0	87.3±4.2	66.1±2.0	51.4±3.0	41.0±3.5	99.5±3.2	93.3±2.0	32.0±2.0
BioSt59	8.0±1.0	9.0±0.1	3.0±2.1	9.3±8.3	22.0±1.0	39.2±5.0	14.5±1.5	73.2±2.0	71.5±1.1	34.2±1.3	67.3±1.2	48.2±2.1
BioSt60	8.5±3.0	7.0±3.5	2.0±1.3	9.5±0.1	42.5±2.0	34.0±6.5	13.0±2.3	75.3±3.0	69.0±2.0	93.0±3.0	62.2±2.0	39.0±12.0
BioSt61	6.4±0.2	9.5±2.0	1.0±0.0	8.3±1.0	51.0±3.0	31.5±6.0	13.5±2.4	69.0±0.0	57.2±5.5	58.0±9.0	66.1±1.5	34.5±2.0
BioSt62	6.5±0.0	6.0±0.5	2.0±1.0	9.3±0.3	18.1±6.0	31.0±8.0	13.2±2.0	80.0±1.0	58.0±10.0	59.5±2.5	62.5±1.4	32.3±12.0
BioSt63	64.0±0.1	10.0±0.1	1.3±0.1	7.0±1.0	11.1±1.4	37.1±2.0	37.0±5.0	24.0±2.0	46.4±1.0	65.0±3.1	15.0±0.3	28.4±1.4
BioSt64	1.0±0.1	8.0±0.1	1.3±0.1	13.5±1.0	11.1±0.2	37.1±3.0	37.0±1.0	24.0±5.2	59.4±1.0	66.1±0.3	84.3±1.0	19.3±0.5
BioSt66	9.0±5.0	19.3±5.0	5.2±3.0	10.0±0.1	27.0±2.4	17.0±0.1	56.5±3.0	88.2±0.1	66.0±0.2	69.0±0.2	95.0±0.1	32.0±7.5
BioSt67	6.0±2.0	12.2±2.5	9.5±3.4	9.0±0.4	58.0±4.5	12.3±0.1	92.0±10.0	99.5±0.2	86.0±10.0	68.0±0.3	71.3±1.0	32.0±6.0
BioSt68	18.0±7.0	95.1±2.0	55.5±4.0	10.0±0.1	91.5±2.0	66.0±6.0	18.2±5.0	96.0±2.0	62.0±0.5	61.5±0.4	72.1±0.1	51.0±10.0
BioSt69	6.0±1.4	13.0±1.0	8.0±0.5	11.0±0.1	55.4±2.0	17.0±1.2	34.3±6.5	97.0±0.2	84.0±3.0	63.0±1.0	71.2±0.2	32.0±1.5

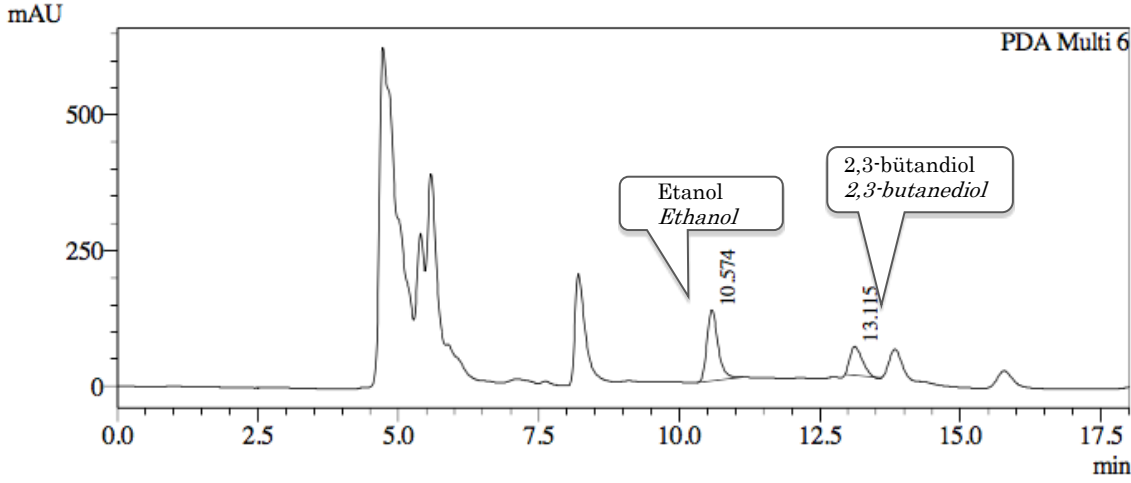
Çizelge 3. Çalışmada kullanılan *St. thermophilus* izolatlarının HPLC ile belirlenen 3-H-2-B, etanol ve 2,3-bütandiol miktarları (En yüksek değerler sarı ile, en düşük değerler gri ile gösterilmiştir) (Devam)

Table 3. *St. thermophilus* isolates, used in the study, of 3-H-2-B and ethanol and 2,3-butanediol amounts determined by HPLC (The highest values shown in yellow and the lowest values in grey) (Continuation)

İzolat <i>Isolate</i>	3-H-2-B (mg/kg)				Etanol (mg/kg) <i>Ethanol (mg/kg)</i>				2,3-bütandiol (mg/kg) <i>2,3-butanediol (mg/kg)</i>			
	SM17 broth				SM17 broth				SM17 broth			
	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>	Anaerobik <i>Anaerobic</i>	Aerobik <i>Aerobic</i>	LM17	Süt <i>Milk</i>
BioSt70	6.4±1.0	12.1±3.0	10.3±3.0	9.0±0.3	8.5±2.0	17.5±0.1	10.0±0.0	91.0±0.4	78.0±8.0	63.0±0.2	72.5±0.1	32.0±2.4
BioSt71	8.1±2.0	12.0±2.0	11.0±3.3	7.4±0.0	66.0±3.0	37.0±8.0	90.0±6.5	87.0±1.2	66.2±8.0	64.0±0.3	73.0±0.4	31.0±3.1
BioSt74	7.5±2.0	11.3±4.0	9.4±2.1	8.0±1.2	59.0±3.0	94.5±3.2	12.0±9.3	91.0±0.2	89.2±7.0	63.3±2.1	71.5±2.0	45.0±5.2
BioSt75	22.5±0.0	40.0±0.2	37.3±0.4	63.0±0.0	13.5±0.2	4.3±0.4	28.5±0.2	24.0±0.3	1.1±0.0	2.5±0.2	22.0±0.0	19.2±0.2
BioSt76	97.0±0.0	44.0±0.0	11.0±0.0	0.2±0.2	13.1±0.0	35.3±0.3	68.3±0.3	15.2±0.2	8.0±0.0	8.5±0.2	70.2±0.0	54.3±0.1
BioSt80	1.0±0.2	2.1±0.0	6.3±0.4	1.0±0.0	75.0±0.0	16.5±0.1	2.3±0.2	2.1±0.0	26.0±0.1	17.0±0.0	8.5±0.1	5.0±0.1
BioSt81	14.2±9.2	76.1±8.2	90.0±8.1	10.0±1.0	60.0±4.3	20.1±2.0	16.0±6.0	37.0±3.3	63.3±2.4	75.0±4.0	80.4±1.0	39.0±5.3
BioSt83	4.2±0.1	40.0±0.1	4.3±0.1	12.1±0.0	3.5±0.1	27.3±0.1	3.1±0.1	42.5±0.2	73.0±0.0	15.0±0.1	60.0±0.2	21.4±0.2
BioSt108	15.0±2.1	18.0±2.1	97.2±8.0	10.5±1.2	67.0±7.4	56.0±5.0	87.0±1.1	13.0±2.0	55.1±5.2	42.0±2.0	77.0±4.2	29.0±4.1
BioSt109	14.1±1.3	15.0±8.1	17.0±9.0	11.3±1.2	14.0±2.3	18.0±0.3	14.3±10.0	15.4±5.0	78.0±7.2	91.0±4.0	70.2±2.3	18.0±8.0
BioSt110	11.5±7.3	123.0±2.0	96.0±8.0	13.0±1.2	46.4±8.0	50.4±5.4	58.0±5.0	86.0±1.2	82.4±2.0	96.3±5.0	83.0±2.0	31.0±3.4
BioSt112	14.3±6.0	127.0±8.4	95.0±2.0	13.0±2.0	40.0±2.4	56.0±1.5	49.1±2.0	19.3±6.4	87.5±2.0	93.0±4.2	86.0±4.2	30.0±5.4
BioSt115	10.2±2.5	13.0±7.2	7.0±3.2	12.3±2.0	17.0±2.5	45.0±2.0	32.0±4.0	96.0±7.2	45.0±2.4	89.0±2.4	82.5±2.4	55.4±1.2
BioSt118	16.1±1.2	17.5±10.0	10.3±3.4	13.0±1.6	31.0±3.0	55.2±1.2	76.4±5.0	14.3±2.4	41.0±3.0	94.3±3.2	31.1±1.4	52.4±5.0
BioSt119	15.2±3.4	9.4±5.0	8.1±4.0	2.1±2.0	29.0±3.0	26.0±2.0	13.2±4.4	15.1±2.0	45.4±2.4	78.0±2.4	30.0±7.0	52.5±9.0
BioSt121	9.0±4.0	10.3±7.0	17.0±1.0	11.0±1.4	28.0±2.0	67.0±1.0	71.1±1.4	12.5±1.2	70.0±2.4	95.5±2.0	92.0±7.0	43.3±7.3
BioSt123	8.0±1.0	8.4±5.0	14.3±0.5	6.5±0.1	11.3±6.1	65.0±5.5	21.2±6.0	98.0±6.0	26.0±2.0	77.0±6.2	41.2±5.0	32.0±2.2
BioSt127	5.4±4.0	6.0±1.0	13.0±3.5	11.5±2.0	70.5±4.3	60.3±4.2	25.0±8.4	99.2±4.1	13.2±7.0	38.0±7.2	56.0±5.2	2.4±0.4
BioSt132	6.4±1.0	14.3±6.0	6.4±0.5	9.0±1.0	25.0±21.0	40.0±2.0	13.5±1.3	11.5±6.4	60.0±2.4	86.3±2.0	38.4±3.2	45.0±10.1
BioSt134	6.3±4.1	5.1±2.4	14.0±8.0	8.5±0.3	16.2±8.0	3.4±9.0	41.0±4.1	93.5±6.0	89.3±1.2	29.0±6.0	72.5±0.5	29.1±3.0
BioSt161	16.0±1.5	7.0±4.5	16.0±2.3	10.0±0.4	82.0±7.0	6.0±4.3	24.0±4.0	14.0±2.0	10.0±7.5	21.0±2.0	59.0±7.1	23.0±2.4
BioSt162	11.0±2.3	11.0±9.5	15.0±3.3	11.0±1.5	40.0±4.0	30.0±2.2	49.0±5.0	97.0±3.0	79.1±4.2	76.0±3.2	71.2±9.5	22.0±2.0
BioSt164	7.0±0.5	10.0±2.0	13.0±2.0	6.0±3.0	47.0±9.0	65.0±4.0	96.0±1.0	17.0±5.4	73.0±1.4	68.2±4.2	96.0±8.4	32.4±6.0
BioSt169	14.0±0.3	2.0±0.2	24.0±1.4	5.0±1.0	27.0±4.0	76.0±6.0	72.0±4.0	-	4.3±1.0	-	10.0±4.0	39.0±8.2
BioSt171	120.0±3.0	-	15.0±2.0	4.0±0.5	88.0±1.0	-	96.0±6.1	-	4.0±0.1	-	130.0±5.2	38.0±7.0
BioSt172	122.0±2.3	-	15.0±0.3	4.0±0.50	31.6±6.2	-	27.0±11.0	-	9.5±5.5	-	31.3±11.0	42.0±1.3
BioSt173	104.0±10.0	-	15.0±0.5	5.0±1.0	42.0±1.4	-	65.0±1.5	6.0±1.3	5.0±1.2	-	10.0±5.0	40.0±3.1

Yoğurdun ekşimeye başlaması ile ortamda varlığı artmaya başlamaktadır. Yoğurtta belirli miktarda asetaldehit birikmesi sonucunda, alkol dehidrogenaz enzimi, asetaldehiti etanole indirgemeye başlar (Pinto

ve ark., 2009). Sütte NCBF2393 ve NIZO130 suşları için etanol miktarı tespit edilmemiştir. BioSt67 99.5±0.2 mg/kg ile sütte en yüksek miktardaki etanolü üretmiştir (Çizelge 3, Şekil 4).



Şekil 4. BioSt67 izolatının geliştiği süt ekstraktının 190 nm'deki kromatogramı.

Figure 4. The chromatogram at 190 nm of the milk extract that BioSt67 isolate grew.

En yüksek etanol miktarı anaerobik SM17'de 191.4±1.1 mg/kg olarak (BioSt99) tespit edilmiştir. En düşük etanol miktarı 2.1±0.0 mg/kg ile BioSt80 izolatında sütte tespit edilmiştir. Diğer bazı izolatlarda etanol miktarı tespit edilmemiştir. *Lb. bulgaricus* izolatları arasında etanol miktarı sütte, BioLb94 izolatında 76.2±3.2 mg/kg (en yüksek miktar), BioLb157 izolatında ise 20.1±7.1 mg/kg (en düşük miktar) olarak tespit edilmiştir. Pinto ve ark. (2009), 21 günlük depolama süresi sonunda, yoğurtta aerobik şartlarda 3.3-40 mg/L etanol tespit etmişlerdir. Anaerobik MRS besiyerinde, BioLb155 izolatı 95.3±5.0 mg/kg etanol (en yüksek miktar) tespit edilmiştir. En düşük miktar BioLb153 izolatında 9.1±3.0 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Terpou ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada, tüm yoğurt örneklerinde etanole rastladıklarını belirtmişlerdir. Gürsel ve ark. (2016), yaptıkları çalışmada bir günlük yoğurtta 3.63 ± 0.57 mg/kg etanol tespit etmişlerdir. Etanol, maya ile bulaşma veya heterofermentatif metabolizma söz konusu olmadıkça, süt ürününün son tadına direkt katkı sağlamamaktadır. Bu da etanolün büyük bir yan ürüne dönüşmesine neden olmaktadır (Birch ve ark., 2013). Çalışmamızda kullandığımız referans suşlar, *Lb. bulgaricus* ve *St. thermophilus* izolatlarının kullanılan besiyerleri ve sütte belirlenen etanol miktar aralıklarının, tespit edilen diğer metabolit miktarlarına göre daha yüksek sayılarda olması bu şekilde açıklanabilir (Çizelge 3 ve Çizelge 4).

2,3-Bütandiol. Sütte, NCBF2393 suşu için 162.1±7.4 mg/kg 2,3 bütandiol tespit edilirken, NIZO130 için 118.2±7.0 mg/kg 2,3 bütandiol tespit edilmiştir. BioSt127 izolatı için 2.4±0.4 mg/kg (en düşük değer)

tespit edilmiştir. BioSt40 için 84.0±2.5 mg/kg (en yüksek miktar) 2,3 bütandiol tespit edilmiştir. Anaerobik SM17'de BioSt75 izolatında 1.1±0.0 mg/kg (en düşük miktar) 2,3 bütandiol tespit edilmiştir. LM17 besiyerinde BioSt171 için 130.0±5.2 mg/kg (en yüksek miktar) 2,3 bütandiol tespit edilmiştir. *Lb. bulgaricus* izolatları arasında sütte 2,3-bütandiol metaboliti, en düşük 6.2±0.2 mg/kg olarak tespit edilirken (BioLb153), en yüksek 69.1±0.0 mg/kg (BioLb159) olarak tespit edilmiştir. En yüksek miktarda 2,3-bütandiol anaerobik MRS ve aerobik MRS besiyerlerinde sırasıyla 98.4±2.0 mg/kg (BioLb153) ve 98.0±5.1 mg/kg (BioLb130) olarak tespit edilmiştir. Rao ve ark. (2011), fermentasyon başlangıcında tespit ettikleri 2,3-bütandiol miktarını 41.7 g/l olarak belirtirken, fermentasyon sonrası 2,3-bütandiol miktarını 15.8 g/l olarak belirtmişlerdir. Aynı çalışmada aseton miktarı artarken 2,3-bütandiol miktarındaki azalma, bu metabolitin asetoine dönüşmüş olabileceğini düşündürmüştür. Çalışmamızda kullanılan referans suşların ve tüm izolatların her bir besiyeri ve sütteki 2,3-bütandiol değerleri ve miktar aralıkları, Rao ve ark. (2011)'nin çalışmasına göre oldukça düşük miktarda bulunmuştur (Çizelge 3 ve Çizelge 4).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmada kullanılan mikroorganizmaların spesifik besiyerlerinde, aerobik ve anaerobik şartlarda ve sütte geliştirildikten sonra HPLC analizi ile bazı aroma metabolitlerinin (format, pirüvat, aseton, etanol ve 2,3-bütandiol) miktar tayinlerinin gerçekleştirilmesi, şimdiki dek bu konuda etraflıca yapılmış ilk çalışmadır. Literatür incelendiğinde, bu

metabolitlerden bazılarında (format) dair miktar tayinine hiç rastlanmazken, bazılarının ise yalnızca yoğurttaki miktarlarının belirlendiği görülecektir. Besiyerlerinde O₂'li ve O₂'siz şartlarda geliştirmek suretiyle, sütteki değerler ile diğer ortamlardaki değerlerin karşılaştırılması ve bu hususta bir fikir yürütmek imkanı doğmuştur. Yüksek verimli teknolojiler, LAB'ini kullanarak endüstriyel yenilikler elde etmek için bize etkili yöntemler sunmaktadır. Bu sebeple, günümüzde, geniş bir aroma bileşiği çeşitliliği veya gerçek lezzet profili üretimi için çok sayıda suşun taranması mümkün olmaktadır. Son yıllarda, aroma üreten kültürlerin taranması, mevcut kültürler hakkında bilgi eksikliğinin giderilmesi hususunda önemli bir boşluğu kapatacaktır. Arzu edilen aroma oluşturuca özelliklere sahip olan suşların belirlenmesi, süt endüstrisine yeni suşların kazandırılmasını mümkün kılmaktadır.

TEŞEKKÜR

Doktora tezimin bir bölümünü oluşturan bu çalışmalara verdiği destekten ötürü TÜBİTAK'a teşekkür ederim (Proje No:110O218).

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKÇA

- Biasioli F, Benozzi E, Romano A, Capozzi V, Makhoul S, Cappellin L, Khomenko I, Aprea E, Scampicchio M, Spano G, Märk TD, Gasperi F 2015. Monitoring of lactic fermentation driven by different starter cultures via direct injection mass spectrometric analysis of flavour-related volatile compounds. *Food Research International*, 76: 682-688.
- Birch AN, Petersen MA, Hansen AS, 2013. The aroma profile of wheat bread crumb influenced by yeast concentration and fermentation temperature. *Food Science and Technology*, 50(2): 480-488.
- Cayot N, Guichard E, Pernin K, Martin K, Cachon R, De Coninck J, Gervais P 2011. Effect of oxidoreduction potential on aroma biosynthesis by lactic acid bacteria in nonfat yogurt. *Jairy of Science*, 94:614-622.
- deMan JC, Rogosa M, Sharpe M 1960. A Medium For The Cultivation of Lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, 23:130-135.
- Derzelle S, Bolotin A, Mistou MY, Rul F 2005. Proteome analysis of *Streptococcus thermophilus* grown in milk reveals pyruvate formate lyase as the major upregulated protein. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 8597-8605.
- Gezginç Y 2010. Geleneksel Yoğurtlardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Plazmit İçeriği ve Biyojenik Amin Üretimi Bakımından Gıda Endüstrisinde Kullanılabilirliğinin Araştırılması. KSÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni ABD, Doktora tezi, 245s.
- Gezginç Y, Topcal F, Comertpay S, I Akyol 2015. Quantitative analysis of the lactic acid and acetaldehyde produced by *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* strains isolated from traditional Turkish yogurts using HPLC. *Journal of Dairy Science*, 98 (3):1426-1434.
- Gürsel A, Gürsoy A, Anlı EAK, Budak SO, Aydemir S, Durlu-Özkaya F 2016. Role of milk protein-based products in some quality attributes of goat milk yogurt. *Journal of Dairy Science*, 99 (4):1-10.
- Hols P, Hancy F, Fontaine L, Grossiord B, Prozzi D, Leblond-Bourget N, Decaris B, Bolotin A, Delorme C, Dusko Ehrlich S, Guedon E, Monnet V, Renault P, Kleerebezem M 2005. New insights in the molecular biology and physiology of *Streptococcus thermophilus* revealed by comparative genomics. *FEMS Microbiology Reviews*, 29 : 435-463.
- Horiuchi H, Sasaki Y 2012. Short communication: effect of oxygen on symbiosis between *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Dairy Science*, 95(6), 2904-2909.
- Imhof R, Glaetli H, Bosset JO 1995. Volatile organic compounds produced by thermophilic and mesophilic single strain dairy starter cultures. *LWT-Food Science and Technology*, 28, 78-86.
- Liu, SQ 2003. Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations. *International Journal of Food Microbiology*, 83(2):115-131.
- MNNQ Izzreen, ÅS Hansen, MA Petersen 2016. Volatile compounds in whole meal bread crust: the effects of yeast level and fermentation temperature. *Food Chemistry*, 210:566-576.
- Olieman C, ES de Vries 1988. Determination of d- and l-lactic acid in fermented dairy products with HPLC. *Netherlands Milk Dairy Journal*, 42:111-120.
- Perez PF, Deantoni GL, Anon MC 1991. Formate production by *Streptococcus thermophilus* cultures. *Journal of Dairy Science*, 74: 2850-2854.
- Pinto SM, Clemente MDG, Abreu LRD 2009. Behaviour of volatile compounds during the shelf life of yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 62(2):215-223.
- Rabha B, Nadra RS, Ahmed B 2011. Effect of threonine on growth and acetaldehyde production by *Streptococcus thermophilus*. *World Applied Sciences Journal*, 15 (2): 160-163.
- Rao Z, Zhang X, Yang T, Lin Q, Xu M, Xia H, Xu Z, Li H 2011. Isolation and identification of an acetoin high production bacterium that can reverse transform 2,3-butanediol to acetoin at the decline

- phase of fermentation. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 27:2785-2790.
- Shoji Oliveira, AC, Balieiro JCC, Freitas O, Thomazini M, Heinemann RJB, Okuro PK, Favaro-Trindade CS 2013. Viability of *L. acidophilus* microcapsules and their application to buffalo milk yoghurt. Food and Bioproducts Processing, 91: 83-88.
- Sieuwert S, de Bok FAM, Hugenholtz J, van Hylckama V, JET 2008. Unraveling microbial interactions in food fermentations: from classical to genomics approaches. Applied and Environmental Microbiology, 74: 4997-5007.
- Tabasco R, Paarup T, Janer C, Peláez C, Requena T 2007. Selective enumeration and identification of mixed cultures of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. paracasei* subsp. *paracasei* and *Bifidobacterium lactis* in fermented milk. International Dairy Journal, 17: 1107-1114.
- Terpou A, Bekatorou A, Kanellaki M, Koutinas AA, Nigam P 2017. Enhanced probiotic viability and aromatic profile of yogurts produced using wheat bran (*Triticum aestivum*) as cell immobilization carrier. Process Biochemistry, 55: 1-10.
- van Valenberg HJF, Settachaimongkon S, Nout MJR, Fernandes ECA, van Hooijdonk TCM, Zwietering MH, Smid EJ 2014. The impact of selected strains of probiotic bacteria on metabolite formation in set yoghurt. International Dairy Journal, 38:1-10.
- Yazdıç F 2017. *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* İzolatlarının Plazmitlerinin Nükleotit Dizilenmesi ve Bazı Aroma Metabolit Kapasitelerinin Belirlenmesi. KSÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik ve Bilimleri ABD, Doktora tezi, 191s.