

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Souleman Bİ HASSAN

**MANYOKUN (CASSAVA) SPONTAN FERMANTASYONU VE
FERMENTASYONDA ROL ALAN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ADANA-2020

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MANYOKUN (CASSAVA) SPONTAN FERMENTASYONU VE
FERMENTASYONDA ROL ALAN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN
STARTER KÜLTÜR ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Souleman Bİ HASSAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu Tez .././2020 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği ile Kabul Edilmiştir.

.....
Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA
DANIŞMAN

.....
Doç. Dr. Asiye AKYILDIZ
ÜYE

.....
Dr. Öğr. Üyesi Emel ÜNAL TURHAN
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FYL-2018-11271

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MANYOKUN (CASSAVA) SPONTAN FERMENTASYONU VE FERMENTASYONDA ROL ALAN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN STARTER KÜLTÜR ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Souleman Bİ HASSAN

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Zerrin Erginkaya
Yıl: 2020, Sayfa: 51
Jüri : Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA
: Doç. Dr. Asiye Akyıldız
: Dr. Öğr. Üyesi Emel Ünal Turhan

Bu çalışmada, laboratuvar koşullarında üretimi gerçekleştirilen manyok(cassava) örneklerinin, raf ömrü süresince pH, mikrobiyotadaki değişimi incenerek, mayalar ve laktik asit bakterileri(LAB) tanımlanmış ve fermentasyonda rol alan LAB'ların antibiyotiklere karşı direnç özellikleri belirlenmiştir. Fermentasyon süresince, manyok örneklerinde, toplam LAB, *Enterococcus*, toplam mezofil aerob bakteri (TMAB), aerob sporlu bakteri, toplam koliform, *Escherichia coli* ve toplam maya sayıları saptanmıştır. Manyok örneklerinin pH değerleri 4,08 - 4,90 arasında bulunmuştur.LAB, TMAB, *Enterococcus*, toplam maya ve toplam koliform sayıları ise sırasıyla 6.16 log kob/g; 4.04- 6,33 log kob/g; 3.52 – 3,87 log kob/g; 4.38 - 7.16 log kob/g ve 0 - 1.77 log EMS/g arasında saptanmıştır. Hiçbir örnekte aerob sporlu bakterilere ve *Escherichia coli* bulunamamıştır.Toplam LAB'nın tanımlanmaları amacıyla katalaz negatif ve Gram pozitif özelliklerine sahip olan 19 suş belirlenmiştir. Maya izolatlarından 10 suş seçilmiştir. % Vitek 2 compact analizi sonucunda suşların *Pediococcus* (%30), *Leuconostoc* (%25), *Enterococcus* (%40) ve *Streptococcus* (%5) cinslerine dahil oldukları belirlenmiştir. Maya suşlarının ise *Candida kefyr* (%50), *Cryptococcus albidus* (%10) ve *Rhodotorula glutinis* (%40) türleri olduğu bulunmuştur.Elde edilen sonuçlara göre *Pediococcus* suşlarının, vankomisin (%100), tetrasiklin (%100), siprofloksasin (%100) ve kloramfenikol (%66.67) karşı dirençli oldukları saptanırken, rifampisin (%100), gentamisin (%100), ampisilin (%66.67) ve eritromisin (% 66.67) duyarlı veya orta duyarlı oldukları bulunmuştur. *Leuconostoc* suşlarının ise vankomisin (%100), siprofloksasin (%100), gentamisin (%60) ve tetrasiklin'e (%20) karşı dirençli oldukları, kloramfenikol (%100), rifampisin (%60), ampisilin (%80) ve eritromisin (%60) duyarlı oldukları belirlenmiştir. *Enterococcus* suşlarının, gentamisin (%87.5), rifampisin (%75), eritromisin (%25) ve siprofloksasin (%50) karşı dirençli, ampisilin (%87.5),vankomisin(%75),kloramfenikol (%62.5) ve tetrasiklin (%62.5) duyarlı oldukları saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Manyok, fermentasyon, Laktik asit bakterileri, Maya, Antibiyotik direnci

ABSTRACT

MSC THESIS

SPONTANEOUS FERMENTATION OF MANIOC (CASSAVA) AND DETERMINATION OF STARTER CULTURAL PROPERTIES OF LACTIC ACID BACTERIA IN FERMENTATION

Souleman Bİ HASSAN

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING

Supervisor : Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA
Year: 2020, Pages: 51
Jury : Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA
: Assoc. Prof. Dr. Asiye AKYILDIZ
: Asst. Prof. Dr. Emel ÜNAL TURHAN

In this study, the production of manyok samples produced under laboratory conditions, and shelf life, pH, microbiota change, yeasts identified and involved in fermentation Antibiotic resistance properties of LABs were determined. During fermentation, manyok pH measurements, total LAB, *Enterococcus*, total mesophile aerob bacteria (TMAB), aerobic spore bacteria, total *Coliform*, *Escherichia coli* and total yeast counts Respectively. pH values of cassava samples Between 4.08 - 4.90. Total LAB, TMAB, *Enterococcus* bacteria, total yeast and total *Coliform* counts respectively $6.16.10^7$ log cfu / g; $4.04-6.33.10^7$ log cfu / g; $3.62 - 3.87$ log cfu / g; 4.38 to 7.16 log cfu / g and 0 to 1.77 log EMS / g between. No aerobic spore bacteria and *Escherichia coli* were detected in any sample. To define the total LAB catalase negative and Gram positive properties 19 strain was determined. As a result of Vitek 2 compact analysis *Pediococcus* strains (30%), *Leuconostoc* (25%), *Enterococcus* (40%) and *Streptococcus* (5%). Yeast strains *Candida kefyr* (50%), *Cryptococcus albidus* (10%) and *Rhodotorula glutinis* (40%) species. Antibiotic resistance of LABs Kirby-Bauer disk diffusion method. According to the results obtained *Pediococcus* strains, vancomycin (100%), tetracycline (100%), ciprofloxacin (100%) and chloramphenicol (66.67%) rifampicin (100%), gentamicin (100%), ampicillin (66.67%) and erythromycin (66.67%). *Leuconostoc* strains resistant to vancomycin (100%), ciprofloxacin (100%), gentamicin (60%) and tetracycline (20%) are susceptible to chloramphenicol (100%), rifampicin (60%), ampicillin (80%) and erythromycin (60%). they were determined. *Enterococcus* strains, gentamicin (87.5%), rifampicin (75%), erythromycin (25%) and ciprofloxacin (50%) resistant, ampicillin (87.5%), vancomycin (75%), chloramphenicol (62.5%) and tetracycline (62.5%).

Keywords: Cassava fermentation Lactic acid bacteria, Yeast, Antibiotic resistance

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Fermantasyon, gıdaların üretimi ve muhafazası için kullanılan en eski teknolojilerden biridir. Gıdaların tat ve aromasının geliştirilmesi ve çeşitlendirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Diğer yandan fermantasyon, özellikle gelişmekte olan ülkelerdeki milyonlarca insan için gıdaları korumak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılan bir teknolojidir (Odunfa ve ark., 1985). Orta Afrika'da fermente ürünler, halkın günlük yaşamında ve beslemesinde önemli yer almaktadır. Manyok, mısır ve sorgum bitkisi, Afrika'da yetiştirilen ve tüketilen en önemli tahıl çeşitleridir. Bu tahıl çeşitleri, Orta Afrika'nın tropikal bölgelerinde yetişmektedir ve genellikle, Afrika ve Asya ülkelerinde birçok geleneksel fermente ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır. Manyok, tahıl bazlı gari, fufu, gibi fermente bir gıda olduğu için besin değeri açısından zengin bir üründür ve çeşitli vitaminler (A, B1, B2, C, E, K1) ve yüksek oranda karbonhidrat içermektedir (Majid ve ark., 2014).

Bu çalışmada, Orta Afrika'da yaygın olarak tüketilen ve manyok fermente ürünü olan gari, fufunun geleneksel kültür ile üretimi gerçekleştirilerek, mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi, fermantasyonda rol alan laktik asit bakterileri(LAB) ve mayaların tanımlanması ve izole edilen LAB'ların antibiyotik dirençlilik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Üretilen manyok, 21 gün boyunca $4\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de fermantasyon. Fermantasyon süresince, üretimin 1.7. 14.ve 21. günlerinde her örneğin pH'sına bakılarak mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır. Mikrobiyolojik özelliklerini belirlenmek amacıyla, yayma ekim yöntemi kullanılarak toplam LAB (4.77 – 7.79 log kob/g), *Enterococcus* (2.61 –3.56 log kob/g) , toplam maya (3.38 - 7.16 log kob/g), toplam mezofil aerob bakteriler ($4\cdot10^4$ - 6.33 log kob/g), toplam koliform bakteriler (0 - 1.77 log EMS/g) belirlenmiştir. Hiçbir örnekte aerob sporlu bakteriler ve *Escherichia coli* tespit edilmemiştir. Ayrıca, toplam LAB ve maya kolonileri saflaştırarak izolasyon gerçekleştirilmiştir. Manyok örneklerine ait olan ve izole edilen bazı toplam LAB kolonilerine katalaz

testi uygulanmıştır. Katalaz negatif olan koloniler seçilip, Gram boyamaya tabi tutularak, Gram pozitif olan suşlar seçilmiştir. Toplam 19 LAB suşu ve 10 maya suşu izole edilmiştir. İzolatların identifikasyonu VITEK-2 (Biomerieux) compact otomatik sistemi ile yapılmıştır. LAB'nın tanımlanması için GP ID (Gram pozitif bakteri tanımlama kartı) kartları kullanılmıştır. Mayaların tanımlanması amacıyla YST ID (Maya tanımlama kartı) kartları kullanılmıştır. Vitek-2 sisteminin kütüphanesindeki verilere göre, LAB suşlarının, %30'u *Pediococcus*, %25'i *Leuconostoc*, %40'ı *Enterococcus* ve %5'i *Streptococcus* cinslerine dahil oldukları belirlenmiştir. Maya suşları ise; *Candida kefir* (%50), *Cryptococcus albidus* (%10) ve *Rhodotorula glutinis* (%40) türleri olarak bulunmuştur. Toplam LAB'ların antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi amacıyla Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. İzolatlar, MRS agar besiyeri kullanılarak yayma ekim yapılmıştır. Bu işlem iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Suşların yoğunluğu 0.5McFarland standard'a göre ayarlandıktan sonra, ekimler yapılmış ve hemen ardından beklemeden petri kutularının yüzeyine dispenser aracılığı ile antibiyotik içeren kâğıt diskler yerleştirilerek, 37 °C'de 24 saatlik anaerobik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda zon çapları ölçülmüştür. Sonuçlar, NCCLS (the National Committee for Clinical Laboratory Standards) doküman M2-A9 kriterlerine göre dirençli, orta derecede duyarlı ve duyarlı olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, tüm *Pediococcus* suşlarının tamamı % 100 tetrasiklin, vankomisin ve siprofloksasine karşı dirençli bulunurken, rifampisin ve gentamisin'e karşı duyarlılık ve orta duyarlılık göstermişlerdir. kloramfenikola karşı %66.67'si dirençli ve %33.33'ü orta duyarlı bulunmuştur. Ampisilin'e karşı suşların %66.67'si duyarlı ve %33.33'ünün dirençli oldukları saptanmıştır. Eritromisine karşı suşların %66.67'si duyarlı ve %3.33'ü orta duyarlı olarak belirlenmiştir. Tüm *Leuconostoc* suşlarının tamamı %100 vankomisin ve siprofloksasine karşı dirençli bulunurken, kloramfenikol'e karşı duyarlı oldukları saptanmıştır. Rifampisine karşı suşların %60'ı duyarlı ve %40'ı dirençli olarak bulunmuştur. Ampisiline karşı %80'i duyarlı ve %20'si dirençli olarak

belirlenmiştir. Gentamisine karşı % 60'ı dirençlilik ve % 40'ı duyarlılık göstermiştir. Tetrasikline karşı %20'si dirençli, %40'ı duyarlı ve %40'ı orta duyarlı olarak saptanmıştır. Eritromisine karşı ise %60'ı orta duyarlı ve %40'ı duyarlı bulunmuştur. *Enterococcus* suşlarının, gentamisine karşı %87.5'i dirençli ve %12.5'si duyarlı olarak belirlenmiştir. Ampisiline karşı %87.5'i duyarlı ve %12.5'i dirençli bulunurken, vankomisin'e karşı %75'i duyarlı ve % 25'i dirençli olarak saptanmıştır. Kloramfenikol ve tetrasiklin'e karşı ise %62.5'i duyarlı, % 12.5'i dirençli ve %25'i orta duyarlı olarak belirlenmiştir. Rifampisine karşı %75'i dirençlilik ve %25'i duyarlılık göstermişlerdir. Eritromisine karşı %37.5'i duyarlı, %37.5'i orta duyarlı ve %25'i dirençli olarak bulunmuştur. Siprofloksasine karşı ise %50'si dirençlilik, %25'i duyarlılık ve %25'i orta duyarlılık göstermişlerdir.



TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı gerçekleştirmemde bana çalışma olanağı sağlayan, araştırmalarım ve tezimin yazımı süresince yol gösteren ve destekleyen danışmanım Prof.Dr.Zerrin ERGİNKAYA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Jüri üyesi olarak tezimi değerlendiren değerli hocalarım Doç. Dr. Asiye AKYILDIZ, Dr. Öğr. Üyesi Emel ÜNAL TURHAN ve Arş. Gör. Gözde KONURAY'a teşekkür ederim ve aynı zamanda tez çalışmam süresince her zaman destek veren laboratuvar ekibimize teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, bana bu çalışmamda maddi destek sağlayan Yurt Dışı Türkler ve Akraba Topluluklar Başkanlığı (YTB) ve Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma projeler (BAP) teşekkürlerimi sunarım. Büyük fedakarlıklar yaparak, benim bu noktaya gelmemi sağlayan bütün aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

Öz.....	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XIV
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	9
2.1. Manyok Kökü	9
2.1.1. Manyok üretimi.....	12
2.1.2. Manyok Kökünün Fermentasyonu ve Rol Alan Mikroorganizmalar	12
2.1.3. Manyok Bitkisinin Kullanım Alanları	14
2.2. Manyok İle ilgili Yapılan Bazı Çalışmalar	16
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	19
3.1. Materyal	19
3.1.1. Besiyerleri	19
3.2. Yöntem.....	20
3.2.1. Manyok üretimi.....	20
3.2.2. pH Tayini	20
3.2.3. Koliform Bakteri Sayılarının Belirlenmesi	21
3.2.4. Toplam Aerobik Mezofilik Bakterilerilerin Sayımı.....	21
3.2.5. Maya Sayılarının Belirlenmesi ve Stok Kültürlerinin Hazırlanması	22
3.2.6. Laktik Asit Bakterileri Sayılarının Belirlenmesi ve Stok Kültürlerinin Hazırlanması	22

3.2.7. Aerob Spor Bakteri Sayılarının Belirlenmesi.....	23
3.2.8. Laktik Asit Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi	23
3.2.9. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu	24
3.2.10. Laktik Asit Bakterilerinin ve Mayaların Tanımlanması.....	24
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	27
4.1. pH Sonuçları	27
4.2. Toplam Mezofil Aerob Bakteri Sayım Sonuçları	28
4.3. Laktik Asit Bakterileri Sayım Sonuçları	29
4.4. Maya Sayım Sonuçları	31
4.5. Toplam Koliform ve <i>Escherichia coli</i> Sayım Sonuçları	32
4.6. Laktik Asit Bakterileri ve Mayaların İzolasyonu.....	32
4.6.1. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu.....	32
4.6.2. Laktik Asit Bakteri ve Mayaların Tanımlanması.....	33
4.7. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi	36
4.7.1. <i>Pediococcus</i> Cinsi İzolatların Antibiyotik Dirençlilikleri.....	37
4.7.2. <i>Leuconostoc</i> Cinsi İzolatların Antibiyotik Dirençlilikleri.....	38
4.7.3. <i>Enterococcus</i> Cinsi İzolatların Antibiyotik Dirençlilikleri	39
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	41
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	51

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 2.1. Manyok kökünün bazı özellikleri	11
Çizelge 3.1. Besiyerleri.....	19
Çizelge 3.2. AB için NCCLS doküman M2-A9 zon çapı yorumlama	24
Çizelge 4.1. Fermantasyon Süresince Belirlenen pH Değerleri ve Mikroorganizma Sayım Sonuçları	28
Çizelge 4.2. İzolatların özellikleri.....	33
Çizelge 4.3. Tanımlama sonuçları.....	34



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 2.1. Manyok kökü	10
Şekil 2.2. Manyok üretimi.	12
Şekil.2.3. Manyok birası.	14
Şekil.2.4. Manyok nişastası	15
Şekil.2.5. Lafun.....	16
Şekil.2.6. Chikwangu	16
Şekil.3.1. Manyok fermantasyon aşamaları.	20
Şekil.3.2. Toplam Aerobik Mezofilik bakteri sayısının belirlenmesi	21
Şekil.3.3. Vitek 2 Compact cihazı	25
Şekil.3.4. GP ID Ve YST ID kartları yerleşmesi.....	26
Şekil.4.1. Manyok örneklerinde fermantasyon süresince pH değişimi.....	28
Şekil.4.2. Toplam Mezofil Aerob Bakteri Sayım Sonuçları	29
Şekil 4.3. Laktik Asit Bakterileri sayım sonuçları.....	30
Şekil 4.4. Enterokok sayısı.....	31
Şekil.4.5. Maya sayısı	32
Şekil 4.6. Manyokdan tanımlanan LAB'lara ait türlerin % dağılımları.....	36
Şekil.4.7. <i>Pediococcus acidilactici</i> antibiyotik dirençlilikleri	38
Şekil.4.8. <i>Leuconostoc</i> antibiyotik dirençlilikleri	39
Şekil.4.9. <i>Enterococcus faecium</i> antibiyotik dirençlilikleri.....	40



SİMGELER VE KISALTMALAR

AM10	: Ampisilin
C30	: Kloramfenikol
CIP5	: Siprofloksasin
CN10	: Gentamisin
E15	: Eritromisin
EMP	: Embden Meyerhoff Parnas
EMS	: En Muhtemel Sayı
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GP ID	: Gram pozitif bakteri tanımlama kartı
GRAS	: generally regarded as safe
HMP	: Heksoz monofosfat
I	: Intermediate sensitive (orta duyarlı)
KAA	: Kanamycin Aesculin Azide
LAB	: Laktik Asit Bakteri
LSB	: Lauryl sulfate broth
MBK	: Minimum Bakterisit Konsantrasyon
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MPN	: Most Probable Number
NCCLS	: the National Committee for Clinical Laboratory Standards
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDA	: Potato Dextrose Agar
R	: Resistant (dirençli)
RA5	: Rifampisin
S	: Sensitive (duyarlı)
TE30	: Tetrasiklin
TMAB	: Toplam Mezofilik Aerobik Bakteriler

VA30 : Vankomisin
YST ID : Maya tanımlama kartı



1. GİRİŞ

Dünya gıda üretiminin %60'ından fazlası, tahıllar ve yağlı tohumlardan oluşmakta olup, bu ürünlerle, özellikle gelişmekte olan ülke nüfusununkarbonhidrat, enerji, mineral ve vitamin ihtiyacına önemli ölçüde katkı sağlanmaktadır.Bitkisel gıdaların tüm çeşitlerinin büyük bir çoğunluğu Afrika'nın tropikal bölgelerinde yetişmekte olup, ana ürün olarak tüketilmektedir. İnci darısı (millet), manyok, mısır ve sorgum bitkisi başlıca yetiştirilen ve tüketilen tahıl çeşitleridir. Bu bitkiler, Afrika ve Asya ülkelerinde birçok geleneksel fermente ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır (Göral ve ark., 2018).

Afrika ve Güney Amerika'daki popülasyonların günlük kalori ihtiyacının % 60'ını karşılaması sayesinde manyok, önemli bir kalori kaynağıdır. Orta Afrika'da, manyok kökleri ağırlıklı olarak yerel adı “chikwangu” olan manyok ekmeği şeklinde tüketilmektedir. Manyok kökleri protein, vitaminler ve mineraller bakımından zayıfken, manyok yapraklarının besin içeriği daha zengindir. Diğer önemli bir konu ise, işlenmemiş manyoklarda siyanojenik glikozitlerin bulunmasıdır (Dini ve ark., 2014).

Hasat veya fermentasyon sırasında zarar görmüş manyok dokusu, endojen enzimler aracılığı ile bu glikozidleri hidrosiyanik aside hidrolize ederler. Bu nedenle de manyok köklerinin fermentasyon yolu ile işlenmesi, gıda güvenliği açısından hayati bir öneme sahiptir. Fermentasyon sırasında bakteriler tarafından sentezlenen linamarazın aktivitesi %70 azalmaktadır. Manyok kökleri ve yaprakları siyanürik glikozitlerinden olan linamarin ve lotaustralin formunda siyanür içermektedir. Orta Afrika'da, manyok kökünü ve yapraklarındaki siyanürik glikozit kaynaklı riskleri ortadan kaldırmak için geleneksel fermentasyon gibi bazı işleme teknolojileri geliştirilmiş ve böylece insan tüketimi için uygun hale getirilmiştir. Ancak bu üretimler hijyenik olmayan koşullarda gerçekleştirilmektedir. Manyok yapraklarının ve köklerinin gerek duyuşal özellikleri gerekse fermentasyonda rol alan mikroorganizmalar ile siyanürik glikozitlerin parçalanma reaksiyonları,

manyok köklerinin ve yapraklarının türüne, fermantasyon koşullarına ve ilgili mikroorganizmalara bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Fermantasyon, gıdaların üretimi ve muhafazası için kullanılan en eski teknolojilerden ve en sık uygulanan yöntemlerdendir. Fermantasyon, gıdaların tat ve aromasının geliştirilmesi ve çeşitlendirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Diğer yandan, özellikle gelişmekte olan ülkelerdeki milyonlarca insan için gıdaları korumak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla fermantasyon yönteminden yararlanmaktadır (Holzapfel ve ark., 2002).

Ancak kullanılan hammadde, fermantasyon koşulları ve son ürünü duyuşal nitelikleri kültürden kültüre(halktan halka) değişebilmektedir. Fermantasyon özellikle gelişmekte olan ülkeler için önemlidir, çünkü ucuz ve tahıllı ürünlerin besinsel ve duyuşal niteliklerinin geliştirilmesi için basit bir yöntemdir. Afrika'da en çok fermente gıdalar manyok kökleri ve tahıl bazılarıdır. Manyok Türkiye'de yetiştiği yerler ise, Güneydoğu, İç Anadolu, Karadeniz, Ege, Marmara ve Doğu Anadolu'dur. Bu bitki, Afrika ve Asya ülkelerinde çeşitli geleneksel fermente ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır (Glover, 2007).

İnci darısı, birçok fermente ürünün yapımında hammadde olarak kullanılmakta olup, manyok fermantasyonuyla daha besleyici ve fonksiyonel özellikte gıdalar elde edilmektedir. Batı Afrika'da bu fermente tahıllı gıdalar en bilinen ve yaygın ürünlerdir (Güneş, 2016). Orta Afrika ve Batı Afrika'nın manyok fermantasyonu birkaç ülkesi Nijeria Senegal, Buukina-faso, Mali, Benin, Gine Cumhuriyeti ve Fildişi sahili'nde kamerun ve Orta Afrika Cumhuriyeti geleneksel ya da yarı endüstriyel şekilde üretilerek tüketilmektedir.

Manyok, yöre halkı tarafından yüksek oranda tüketilen bir üründür ve besin değeri yüksek özelliklere sahip bir ürün olarak bilinmektedir. Manyok fermente bir üründür, ancak üretim sürecinde sadece gari, fufu, chikwan fermantasyonu gerçekleştirilir ve pişirilmiş inci darısı eklenerek tüketilir (González ve ark., 2004).

Proteinler vs. ile kompleks şekilde var olan fitatın enzimatik bozulması için uygun koşulları sağlanmaktadır. Batı Afrika’da mısır, sorgum bitkisi ve inci darılı gıdaların fermantasyonu evlerde, doğal fermantasyon yoluyla yapılmaktadır (Ceylan ve ark., 2019).

Manyok ürünlerinin üretiminde, ferment olarak marketten satın alınan hazır garı kullanılmaktadır. Fermente gıdalarda bulunan en yaygın mikroorganizmalar maya ve laktik asit bakterileridir. Bu mikroorganizmaların tür ve suşları kullanılan hammaddeler, coğrafi faktörler, çalışma yöntemleri, üretim hijyen koşullarına bağlı olarak değişmektedir (Mulenga ve ark., 2018).

Laktik asit fermantasyonu, tahıl esaslı gıdaların güvenliğinin yanı sıra, besin değeri, raf ömrü ve kabul edilebilirliğine katkıda bulunmaktadır (Oyewole ve ark., 2006). Laktik asit bakterileri (LAB), gıdalardaki yaygın mikroorganizmalardır ve fermantasyon işlemlerinde starter kültür olarak kullanımlarından dolayı fermente gıdalar ve içecekler ile birlikte yaygın olarak tüketilmektedir (Jiwuba ve ark., 2018).

Laktik asit bakterileri gelişme ortamlarında fermantasyonun başlıca ürünü olarak laktik asit üreten, Gram pozitif, sporsuz, hareketsiz ve genelde katalaz negatif olan mikroorganizmalardır (Wanapat ve ark., 2014). Laktik asit bakterileri, glikozu homofermentatif ve heterofermentatif olmak üzere iki şekilde katabolize ederler. Bu fermentatif durum, laktik asit bakterilerinin tanımlanmasına yardımcı olmaktadır. Homofermentatif laktik asit bakterileri: Glikozu EMP (Embden Meyerhoff Parnas) yolunu kullanarak, %90 laktik asit, %10 CO₂ oluşturan bakterilerdir. Örneğin: *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* homofermentatif LAB ‘dir laktik asit bakterileri. Glikozu HMP (Heksoz monofosfat) yoluyla laktik asitin yanı sıra, etanol, asetik asit ve CO₂ oluşturlar. Örneğin: *Weisella* ve *Leuconostoc*. Laktik asit bakterileri tarafından oluşturulan laktik asitin miktarı türlere göre değişmektedir. Fermantasyon esnasında yoğurdun yapısı ve tadı, manyok şekeri üzerinde laktozun parçalanmasıyla meydana gelen laktik asit etkisiyle oluşmaktadır (Yalçın ve ark., 2019).

Laktik asit bakterileri, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından GRAS (generally regarded as safe) yani “güvenli olarak kabul edilen” statüsündedir. Bununla birlikte son 15 yıl içerisinde, gıda ve yem uygulamalarında LAB kültürlerinin güvenli kullanımına ilişkin bazı tartışmalar ve buna bağlı olarak da araştırmalar söz konusudur. Bunun en önemli nedeni de, laktik asit bakterilerinin antibiyotik direnç genleri açısından rezervuar olarak rol oynamalarıdır (Bali ve ark., 2018)

Fermente gıdalar tüketildiğinde, insan vücuduna oldukça fazla miktarda canlı bakteri girmektedir. Bu durumda gıda ürünleri insan sindirim sistemi ve hayvan bağırsağı mikrobiyotası arasında antibiyotik direnci transferinin bir aracı olduğunu belirlenmiştir (Yalınkılıç ve ark., 2012).

Antibiyotik, herhangi bir mikroorganizma tarafından, başka bir mikroorganizmayı öldürmek veya çoğalmasını durdurmak için üretilen her türlü madde (metabolitler) olarak tanımlanır. Antibiyotik üretimi, onu üreten mikroorganizma için selektif bir avantaj sağlar. Örnek olarak, *Penicillium* tarafından üretilen antibiyotikler, doğada rekabet halinde olduğu diğer mikroorganizmaların gelişimini önleyerek, önemli bir avantaj sağlar. Antibiyotikler, mikroorganizmalar üzerindeki etki derecelerine göre iki gruba ayrılırlar (Akarca ve ark., 2018).

“Bakteriyostatikler” diye isimlendirilen grup, bakteri hücrelerinin gelişmesini veya üremesini önlerler. Örneğin; Tetrasiklinler, Makrolitler, Linkozamidler, Amfenikoller. Bakteriyostatik etkisi belirlemek için MİK (Minimum İnhibitör Konsantrasyonu) kullanılmaktadır. “Bakterisitler” diye isimlendirilen grup ise, bakteri hücrelerini öldürürler (Örneğin; Beta-laktamlar). Bakterisitlerin etkisi belirlemek için MBK (Minimum Bakterisit Konsantrasyonu) kullanılmaktadır (Tomar ve ark., 2019).

Mikroorganizmalar, antibiyotiklere karşı çeşitli mekanizmalarla direnç geliştirebilirler. Antibiyotik dirençliliği, doğal (intrensek) direnç, kazanılmış direnç ve çapraz direnç şeklinde üç yolla oluşmaktadır. Doğal direnç genellikle aynı

türdeki tüm bakterilerde bulunan direnç mekanizmasıdır. Mikroorganizmaların türe göre ilacın etki mekanizmana göre değişir özelliği olarak ilacın hedefi olan yapıyı taşımamalarının veya ilacın yapısal bir özellikten dolayı hedefine ulaşmamasının bir sonucu olarak ortaya çıkar. Örneğin ilacın dış membrandan geçmemesi nedeniyle Gram negatif bakteriler, vankomisine doğal olarak dirençlidir. Kazanılmış direnç durumunda ise aynı türdeki tüm bakterilerde olmayan, gen aktarımı ya da mutasyonla oluşan dirençtir (Çamoğlu ve ark., 2015).

Bir bakteri genetik özelliklerindeki değişimlere bağlı olarak, eskiden duyarlı olduğu bir antibakteriyel ajandan etkilenmeyip direnç kazanmış olabilir. Genetik kaynaklı direnç kromozomal (spontan oluşan mutasyonlar) veya kromozom dışı elemanlara (plazmid, transpozon ve integron gibi genetik elemanlar) bağlı olabilir (Kılıç ve ark., 2018).

Çapraz direnç ise, belli bir ilaca karşı dirençli olan bazı mikroorganizmaların, aynı veya benzer mekanizma ile etkili diğer ilaçlara karşı da dirençli olmaları halidir. Çapraz direnç kromozomal veya ekstrakromozomal orjinli olabilir (LAB’de doğal ve kazanılmış dirençlilik bilinmektedir. Örneğin, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* ve bazı diğer Gram pozitif bakteriler doğal olarak vankomisine yüksek direnç göstermektedir (Kailasapathy ve ark., 2003).

Laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençleriyle ilgili yapılan çalışmaların çoğu, gıda mikroorganizmaları arasında farklı bir yere sahip olan *Enterococcus* cinsine ait türler üzerine yoğunlaşmıştır. Ayrıca, düşük G+C oranına dahil pek çok LAB (örneğin, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* (*Oenococcus*), *Pediococcus* ve *Streptococcus thermophilus*), antibiyotik direnci ile ilgili özellikleri tespit edilmiştir (Yaşar ve ark., 2018).

Laktik asit bakterilerinin antimikrobiyellere duyarlılıkları kadar, direnç genlerini barındırmaları ve aktarmaları da önemlidir. Bazı fermente gıdalar tüketildiğinde, insan vücuduna oldukça fazla miktarda canlı bakteri girmektedir. Bu durumda söz konusu bakteriler kommensal ya da patojen bakterilere taşınabilir

ve antibiyotik direncini aktarabilirler. Bu durum antibiyotiklerin yemlerde, ziraat ve veteriner uygulamalarında yanlış ve aşırı kullanımından dolayı daha zararlı bir hale getirme olasılığını taşımaktadır (De Souza ve ark., 2014).

Manyok fermentasyonunda ortamda laktik asit bakterilerinin bulunması veya starter kültür olarak kullanımı, lif içeriğini artırmasının yanı sıra, yapı, siyanojenik glikozid indirgemesi ve diğer beyazlık ve viskozite gibi çeşitli özellikleri iyileştirmektedir. Fermentasyon sırasında, mikroorganizmalardaki doğal enzimlerle manyok kökü hücre duvarını parçalamakta ve polisakkariti hidrolize etmektedir. Bu nedenle, manyok dokusu parçalanırken çözünür lif artmakta, yumuşak doku elde edilmektedir (Civelek, 2017).

Yapılan birçok çalışma, *L. plantarum*'un selüloz, hemi-selüloz dahil olmak üzere hücre duvarı parçalanmasını içeren çeşitli enzimlerden olan, amilaz ve pektinaz gibi amilolitik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Benzer başka bir çalışmada ise, *L. plantarum*'un, manyok fermentasyonu sırasında 37°C sıcaklıkta amilolitik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Tokatlı ve ark., 2018).

Selülitik özellik, mikroorganizmalar tarafından manyok köklerinin hücre duvarını parçalamak için esastır. (Tanetrungroj ve ark., 2018).

Bakteriyel kültür, şekerin geri kalanını, uçucu yağ asitlerine (asetik, propiyonat ve bütirat) ve alkole dönüştürmektedir (Suganthi ve ark., 2017).

Özet olarak, manyok fermentasyonu sırasında, doğal aromasını oluşturan birçok uçucu bileşikler oluşmakta ve selüloz, hemi-selüloz, amilaz gibi hücre duvarı parçalanmasını sağlayan çeşitli enzimler faaliyet göstermektedir.

Fermentasyon sırasında *L. plantarum* ve diğer laktik asit bakterilerinin yanı sıra, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Rhizopus oryzae* gibi başka mikroorganizmalara da rastlanmaktadır (Oyewole ve Phillip, 2006).

Manyok kökü kalori ve karbonhidrat açısından yüksek olmakla birlikte, bir günde ihtiyacınız olan lif, C vitamini ve manganezin iyi bir kısmını da karşılamaktadır (Jiwuba ve ark., 2019).

Manyok kökleri enerji açısından oldukça zengindir ve başlıca nişasta ve bazı çözülebilir karbonhidratlar içermektedir, fakat protein açısından fakirdir. Üretilen manyokun % 60'ından fazlasının insanlar tarafından tüketildiği ve hasat edilenin üçte birinin de hayvanların beslenmesinde kullanıldığı ve geri kalan kısmının da ikincil ürünlere dönüşümde kullanıldığı tahmin edilmektedir. Manyok gari (Batı Afrika) , fufu (Gana), chikwangu (Orta Afrika), ekmek yapımında kullanmak üzere un gibi ürünlere işlenebilmektedir (Smajgl ve ark., 2009).

Dünya çapında 800 milyon kişi birincil gıda olarak manyok tüketmektedir. Tropikal Afrika'nın nemli ve yarı nemli bölgelerde, manyok birincil temel gıda maddesidir örneğin, Gana'da manyok ve patates tarım ekonomisinde önemli bir yere sahip olduğu ve tarımsal gayri safi yurtiçi hasılatının yaklaşık yüzde 46'sına katkı sağladığı bilinmektedir. Gana'da neredeyse her çiftçilik ailesi tarafından yetiştirilmekte ve günlük kalori ihtiyacının yüzde 30'luk kısmı bu bitkiden sağlanmaktadır (Omar ve ark., 2016.).

Afrika ve Güney Amerika'daki popülasyonların günlük kalori ihtiyacının %60'ını karşılaması sayesinde manyok, önemli bir kalori kaynağıdır. Orta Afrika'da, manyok kökleri ağırlıklı olarak yerel adı “chikwangu” olan manyok ekmeği şeklinde tüketilmektedir. Manyok kökleri protein, vitaminler ve mineraller bakımından zayıfken, manyok yapraklarının besin içeriği daha zengindir. Bu nedenle, Afrika tüketiminin %30'unun kalori ihtiyaçlarını karşılayabilmek ve hayatlarını linamarin toksine karşı korumak için manyokun (cassava) spontan fermentasyonu ve fermentasyonda rol alan laktik asit bakterilerinin starter kültür özelliklerinin belirlenmesi. Fermentasyon sırasında bakteriler tarafından sentezlenen linamarin aktivitesi %70 ve daha fazla oranda azalmaktadır. Manyok kökleri ve yaprakları siyanürik glikozitlerinden olan linamarin ve lotaustralin formunda siyanür içermektedir. Orta Afrika'da, manyok kökünü ve yapraklarındaki siyanürik glikozit kaynaklı riskleri ortadan kaldırmak için geleneksel fermentasyon gibi bazı işleme teknolojileri geliştirilmiş ve böylece

insan tüketimi için uygun hale getirilmiştir. Ancak bu üretimler hijyenik olmayan koşullarda gerçekleştirilmektedir.

Bu çalışmada, Orta Afrika’da yaygın olarak tüketilen ve fermentasyon ürünü olan manyokun geleneksel kültür ile üretimi yapılarak mikrobiyolojik özellikleri belirlenmiş, fermentasyonda rol alan mayalar ve laktik asit bakterileri tanımlanmıştır. Ayrıca, izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Manyok Kökü

Latince olarak *Manihot esculenta* olarak bilinen manyok, Güney Amerika'ya özgü bir tür çalı türüdür. Genellikle tropikal bölgelerde, tahmini yarım milyar insan için temel besin maddelerinden biri bilinmekte olup, genelde nişastalı kökleri için yetiştirilmektedir. Aslında, mısır ve mısırdan sonra, manyok kökü, tropikal bölgelerde üçüncü en büyük karbonhidrat kaynağı olarak kabul edilir. Hem acı hem de tatlı çeşitleri mevcut olan manyok kökünün tadı, genellikle patatesle karıştırılmaktadır. Genellikle kaynatılır, kızartılır veya pişirme için kullanılmak üzere un ve toz haline getirilir. Manyok kökü bitkisinin çoğu tıbbi olarak kullanılır ve ayrıca birçok farklı yemekte tüketilir. Bazı manyok bitki türleri arasında bulmuştur(Taş ve ark., 2017).

Manyok kökü (Şekil 2.1), bütünsel ya da modern tıpta yaygın olarak kullanılmamasına rağmen, manyok kökleri, günlük diyeti destekleyen önemli gıda olarak bilinmektedir. Tarihsel olarak, manyok kökleri, Afrika'nın değişik bölgelerinde yerli halk tarafından ateş ve titreme tedavisinde, kadın doğurganlığını teşvik etmede ve ağrılı kasları hafifletmede yardımcı olarak kullanılmıştır. Manyok köklerinin kurutulması ağırlık kaybı ve mikrobiyel bozulmanın düşürülmesinde önemli bir basamaktır. Cipsler güneş ışığına açık evlerde beton zemin veya çatılar üzerinde hasırlara serilir. Daha sonra bunlar, tahta bir havan veya değirmen taşı kullanılarak bir havan içersinde ezilerek öğütülürler, bunun ardından bir elek ile elenirler. Verimlilik için bazen mekanik değirmenler de kullanılır. Manyok ürünü yapımında diğer bir önemli işlem de fermantasyondur. Manyok işlemede fermantasyon basamağının önemi, cyanogenik glukozitlerin azaltılmasıyla, lezzetin tanıtımı ve fermente üründe pH'nın azaltılmasıyla alakalıdır.

Manyok kökünü kullanırken dikkat edilmesi gereken en önemli nokta ise besin ve sağlık yararları sağlasa da, kalori ve karbonhidratlar açısından yüksek olması olarak belirtilmektedir. Ek olarak, Manyok kökü tüketirken uygun dozaj ve

uygun kullanım çok önemlidir. Manyok bitkisinin kökleri, doğru bir şekilde işlenmediği zaman siyanür gibi toksinlerin üretimini tetikleyebilen bir madde içerir. Yanlış pişirme, kusma, mide ağrısı, baş dönmesi ve baş ağrısı gibi yan etkilerine neden olabilmektedir (Egli, 2001).



Şekil 2.1. Manyok kökü

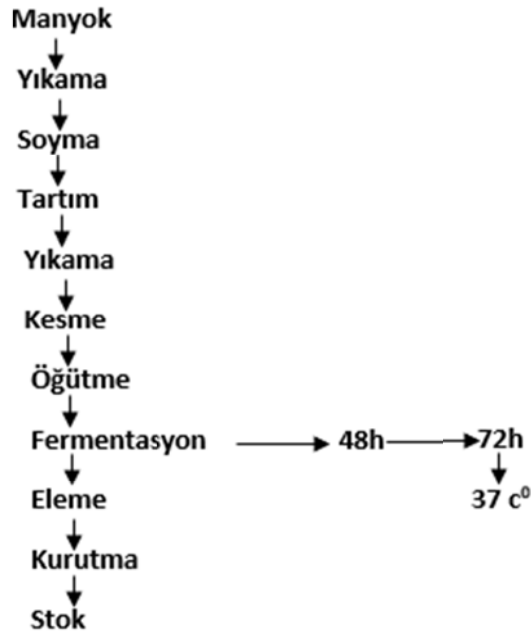
Manyok kökünün bazı özellikleri Çizelge.2.1 verilmiştir. Manyok, mümkün olduğu kadar acıdan çok tatlı çeşitleri tercih edilmekte ve soyup kesildikten sonra, pişirilerek tüketilmektedir. Bazı araştırmalar ayrıca, pişirmeden önce 48 ila 60 saat bekletmenin toksisite potansiyelini önemli ölçüde azaltabildiğini ve manyok kökü ayrıca bazı vitamin ve minerallerin emilimini engelleyebilen bileşikler olan antinutrientler içerdiğini belirtmişlerdir (Nakason ve ark., 2001).

Çizelge 2.1. *Manyok kökünün bazı özellikleri (Nakason ve ark., 2001).*

Morfoloji	
Form	İnce parçacıklar
Koku	Normal
Renk	Beyaz
İncelik	
Elek 100 ile eleme	Min% 90
Elek 80 ile eleme	100%
Nem	Maksimum% 13
Kül	Maksimum% 1.5
Ham lif	Maksimum% 2
Beyazlık derecesi (MgO = 100)	Min 87
Kükürt dioksit (SO ₂)	Negatif
Asit derecesi (mL NaOH 1 N / 100 g)	Maksimum 4
HCN (mg / kg)	Maksimum 10
Metal kirliliği (mg / kg)	
Kadmiyum (Cd)	Maksimum 0.2
Kurşun (Pb)	Maksimum 0.3
Kalay (Sn)	Maksimum 40
Merkür (Hg)	Maksimum 0,05
Arsenik (AS)	En fazla 0,5
Mikrobiyel kirlenme (kob/ g)	
Toplam canlı sayısı (35 ° C, 48 saat)	Max 10 ⁶
<i>Escherichia coli</i>	Max 10
<i>Bacillus cereus</i>	Max 10 ⁴
Küf-Maya	Max 10 ⁶

2.1.1. Manyok üretimi

Manyok yumruları kökleri, yaprakları ve artıklar ayırmak için manuel olarak ayrılır; tartılır ve daha sonra manuel olarak soyulur. Soyulmuş yumrular iyice yıkanır ve mekanik bir rende ile rendelenir. Elde edilen püre bir torbaya konulur ve beş gün boyunca ağır basınca maruz bırakılır, bu sırada fermentasyon meydana gelir.



Şekil 2.2. Manyok üretimi.

2.1.2. Manyok Kökünün Fermentasyonu ve Rol Alan Mikroorganizmalar

Lactobacillus plantarum, fermentasyon sırasında en önemli LAB'lerden biridir. Daha sonra *L. brevis* manyok fermentasyonu sırasında önemli rol oynarlar ve % 16'ya varan sıklıkta bu bakterilere rastlanmaktadır (Morgan ve ark., 2016)

Manyok fermentasyonunda ortamda laktik asit bakterilerinin bulunması veya starter kültür olarak kullanımı, lif içeriğini artırmasının yanı sıra, yapı, siyanojenik glikozid indirgemesi ve diğer beyazlık ve viskozite gibi çeşitli

özellikleri iyileştirmektedir. Fermantasyon sırasında, mikroorganizmalardaki doğal enzimlerle manyok kökü hücre duvarını parçalamakta ve polisakkariti hidrolize etmektedir. Bu nedenle, manyok dokusu parçalanırken çözünür lif artmakta, yumuşak doku elde edilmektedir (Min ve ark., 2007).

Yapılan birçok çalışma, *L. plantarum*'un selüloz, hemi-selüloz dahil olmak üzere hücre duvarı parçalanmasını içeren çeşitli enzimlerden olan, amilaz ve pektinaz gibi amilolitik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Yapılan bir çalışmada, *L. plantarum*'un, manyok fermentasyonu sırasında 37°C sıcaklıkta amilolitik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Selülitik özellik, mikroorganizmalar tarafından manyok köklerinin hücre duvarını parçalamak için esastır (Lozano ve ark., 2015).

Bakteriyel kültür, öte yandan, şekerin geri kalanını, uçucu yağ asitlerine (asetik, propiyonat ve bütirat) ve alkole dönüştürmektedir. Özet olarak, manyok fermentasyonu sırasında, doğal aromasını oluşturan birçok uçucu bileşikler oluşmakta ve selüloz, hemi-selüloz, amilaz gibi hücre duvarı parçalanmasını sağlayan çeşitli enzimler faaliyet göstermektedir (Kıvanç ve ark., 2016). Fermantasyon sırasında *L. plantarum* ve diğer laktik asit bakterilerinin yanı sıra, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Rhizopus oryzae* gibi başka bir mikroorganizmalara da rastlanmaktadır (Adetunji ve ark., 2017).

Manyok kökü kalori ve karbonhidrat açısından yüksek olmakla birlikte, bir günde ihtiyacınız olan lif, C vitamini ve manganezin iyi bir kısmını da karşılamaktadır (Jiwuba ve ark., 2018).

Manyok kökleri enerji açısından oldukça zengindir ve başlıca nişasta ve bazı çözülebilir karbonhidratlar içermektedir, fakat protein açısından fakirdir. Üretilen manyokun %60'ından fazlasının insanlar tarafından tüketildiği ve hasat edilenin üçte birinin de hayvanların beslenmesinde kullanıldığı ve geri kalan kısmının da ikincil ürünlere dönüşümde kullanıldığı tahmin edilmektedir. Manyok *gari* (Batı Afrika) , *fufu* (Gana), *chikwangu* (Orta Afrika), ekmek yapımında kullanmak üzere un gibi ürünlere işlenebilmektedir (Gunun ve ark., 2013).

Dünya çapında 800 milyon kişi birincil gıda olarak manyok tüketmektedir. Tropikal Afrika'nın nemli ve yarı nemli bölgelerde, manyok birincil temel gıda

olduğunu örneğin, Gana’da manyok’un ve patates tarım ekonomisinde önemli bir yere sahip olduğu ve tarımsal gayri safi yurtiçi hasılatının yaklaşık %46’sına katkı sağladığı bilinmektedir. Gana’da neredeyse her çiftçilik ailesi tarafından yetiştirilmekte ve günlük kalori ihtiyacının yüzde 30'luk kısmı bu bitkiden sağlanmaktadır (Morgan ve Choct, 2016).

2.1.3. Manyok Bitkisinin Kullanım Alanları

Manyok bazı yemekler bitkinin yetiştirildiği her yerde yaygın tüketilmektedir. Bazı yerlerde bölgesel, ulusal veya etnik bir öneme sahip olan manyok, birçok şekilde patates gibi pişirilerek tüketilmektedir. Tatlı, kurabiye olarak pastacılıkta ve ekmek olarak yine unundan yararlanılmaktadır. bazı evlerde. Brezilya'da, manyoktan yararlanılarak, “farofa” denilen gevrek elde edilerek, tereyağı ile ya da tost yapılarak garnitür olarak tüketilmektedir (Aloys ve ark., 2006)

Manyok birası (Şekil 2.3) içecek olarak, Cauim ve tiquira (Brezilya), kasiri (Guyana, Surinam), impala (Mozambik), Masato (Peru Amazonia chicha), parakari veya kari (Guyana), nihamanchi da nijimanche olarak bilinen (Güney Amerika) (Ekvator ve Peru), Doi (chicha de Yuca, NGabe-Bugle, Panama) Sakura (Brezilya, Surinam), tarul ko jaarh (Darjeeling, Sikkim, Hindistan) gibi ürünler bulunmaktadır (Ajibola, 2000)



Şekil.2.3. Manyok birası.

Manyok bol miktarda nişasta içerir, oldukça besleyicidir ve yüksek bir enerji kaynağıdır (Şekil 2.4). Beyaz manyok kökünde A vitamini yoktur fakat sarı renkteki manyok kökünde A vitamini mevcuttur. Tapyoka adı verilen, ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen tatsız, kokusuz ve renksiz bir tür nişasta elde edilir. Hindistanda ,tapyoka, acı tapyoka, manyok, boba, kapa isimleriyle adlandırılır. Tapyoka, gıdalarda kıvam koyulaştırıcı madde olarak dünyanın her yerinde yaygın olarak kullanılan bir maddedir. Gluten içermeyen ve hemen hemen proteinsiz bir maddedir. Manyok Afrikada yaygın olarak yetiştirilen ve tüketilen bir bitkidir köklerinden elde edilen un ile ekmek yapıyor ve bitkinin toprak üstü kısmı sebze olarak tüketiliyor.



Şekil.2.4. Manyok nişastası

Manyoktan elde edilen diğer bir ürün ise lafun'dur (Şekil 2.5). Manyok köklerinin kabukları soyulur, yıkanır ve rendelenir. Püre kılıflar içine yerleştirilir ve fermantasyon ile detoksifikasyonu sağlamak için minimum 48 saat sıkılır (ya çubuklarla bağlanarak ve sürekli olarak ipler sıkılarak ya da vidalı veya hidrolik preslerin yardımıyla). Hamur kızartılır plastik paketlerde mühürlenir ve böylece çorbalarla, soslarla ve bazen de şekerle yeniden sulandırılarak tüketilebilir. "lafun" yapımında ise, yine manyok köklerinin kabukları soyulur (bazen suda ıslatıldıktan sonra) ve haşlanır veya buharla pişirilir, ardından bir havanda ezilerek balık, et ve/veya sebze içeren çorbalarla beraber tüketilir. Fufu fermantasyonu sırasında, indirgen rol oynayan organizmaların başında *L. plantarum* gelmektedir. Sıcaklık ve tuz fermentasyon üzerinde önemli bir etkiye sahiptir.



Şekil.2.5. Lafun

Chikwangue yapımında ise (Şekil 2.6), *manyok* yumuşayınca kadar birkaç gün su içersinde ıslatılır, daha sonra köklerin kabukları soyulur, suda yumuşatılır ve liflerin ayrılması için elenir. Macun veya hamur muz yaprakları içersine ambalajlanır ve genellikle kaynatıldıktan sonra tüketilir.



Şekil.2.6. Chikwangue

2.2. Manyok İle ilgili Yapılan Bazı Çalışmalar

Afrika geleneksel fermente gıdalarda manyokun mikrobiyotasını tanımlamak amacıyla yapılan bir çalışmada, polimeraz zincir reaksiyon(PCR) metodunu kullanmışlardır. Bu yöntem ile manyokta bulunan mikroorganizmalar *Lactobacillus gasseri*, *Enterococcus sp.*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis* ve *Lactobacillus casei* olarak tanımlanmıştır (Anike ve ark., 2008).

Burkina Faso’da üretilen manyok üretimi gerçekleştirilmiş, elde edilen ürünün biyokimyasal ve mikrobiyel özelliklerini incelenmiştir. Fermantasyon öncesinde mezofilik laktik asit bakterilerinin ve maya ve küflerin sayısının sırayla 0,843 kob/g ve 0,773 kob/g olarak belirlenmiştir. Ayrıca fermantasyonun son günü olan altıncı günde aynı mikroorganizmaların sayısı sırayla 0.996 kob/g ve 0.934 kob/g olarak bulunmuştur. Toplam koliform bakterilerin sayısı, fermentasyon öncesinde 0.708 kob/g iken, fermentasyon sonrasında 0.769 kob/g olarak saptanmıştır (Adetunji ve ark., 2017).

Manyok yapraklarının protein (% 17-34) ve esansiyel amino asitler açısından zengin olduklarını belirlemişlerdir (Awobusuyi, 2015).

Manyok doğal fermantasyonu sırasında baskın olan bakterinin *Lactobacillus plantarum* olduğunu ve fermantasyonda rol alan diğer laktik asit bakterilerinin ise *L. fermentum* ve *L. brevis* olduğu bildirmiştir (Myeni, 2015).

Lactobacillus plantarum’un manyok yumrularında en yüksek asit üretme kabiliyetine sahip olduğunu ve aroma bileşiklerinin sentezinde de önemli rol aldığını belirlemişlerdir, *actobacillus*, *Leuconostoc* ve *Streptococcus* cinslerine ait laktik asit bakterilerinin, manyokta baskın mikroorganizmalar olduğunu belirlemişlerdir (Myeni, 2015).

Manyokdan laktik asit bakteri ve non-laktik asit bakterileri izole ederek, tanımlamışlardır. Bu araştırmada, 16 manyok örneğinden, laktik asit bakterilerine ait toplam 125 suş izole etmişlerdir. 68 suş *Lactobacillus* ve 57 suş *Lactococcus* olarak tanımlanmıştır (Yılmaz ve ark., 2003).

Brezilya’da water buffalo mozzarella manyokürünüden izole edilen laktik asit bakterilerinin tanımlanması amacıyla RAPD-PCR (randomly amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction) yöntemi, 16S rRNA gen sekansı ve Vitek 2 sistem yöntemlerini kullanılmıştır. Bu çalışmada, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus durans*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Lactobacillus helveticus* olmak

üzere 12 farklı LAB tanımlanmıştır. Daha sonra, izolatların sıvı dilüsyon yöntemi ile antibiyotik dirençlilik profilleri çıkartılmıştır. Bu bakterilerin ampisilin, kloramfenikol, klindamisin ve eritromisine duyarlı, fakat vankomisin, kanamisin ve streptomisine dirençli oldukları belirlenmiştir. Tetrasiklin ve gentamisin antibiyotiklerinde değişken duyarlılık profilleri gözlenmiştir. *Lactobacillus plantarum*, *L. salivarius*, *W. Confusa* (SK9-5 suşu hariç) ve *L. fermentum* türü tetrasikline duyarlıyken, *Pediococcus* ve *L. ghanensis* türleri dirençli bulunmuştur (Mahanama ve ark., 2011).

Başka bir araştırmada ise, *L. plantarum* kullanımının manyok fermentasyonun protein içeriğini önemli ölçüde artırabileceğini ve fermentasyon sırasında karbon ve azotun varlığının proteinlerin geliştirilmesinde önemli rol alacağı vurgulanmıştır (Simon ve ark.; Sousa, 2016).

Manyok fermentasyonunda, ürününün fiziksel özelliklerinin iyileştirilmesi açısından Laktik asit bakterinden özellikle *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis* kültürlerinin kullanımının önemli olduğu ve ayrıca, amilazın varlığının nişastanın hidrolizi açısından yine LAB içeren biyo-starter kullanmanın avantaj sağlayacağı belirtilmektedir (Anike ve Okafor, 2008).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada kullanılmış olan manyok kökleri Orta Afrika Cumhuriyeti'nden Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirilmiştir. Manyok üretimi toplam 3 tekerrürlü gerçekleştirilmiştir. Fermentasyonu süresince, üretimin 1., 7. 14. ve 21. günlerinde her örneğin pH'sına bakılarak mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır.

3.1.1. Besiyerleri

Araştırmada örneklerde bulunan mikroorganizmaların, izolasyon, tanımlama ve antibiyotik dirençliliklerini belirlenmek amacıyla kullanılan besiyerleri ve kullanım amaçları Çizelge 3.1 'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Besiyerleri

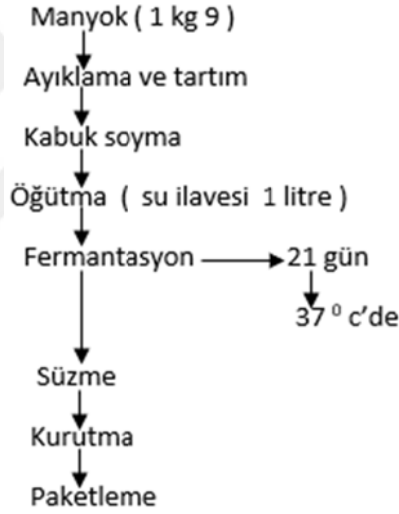
Besiyeri	Kullanım amacı	İnkübasyon koşulları
Nutrient agar (NA)- Merck	-Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı - Aerobik sporlu bakteri sayımı	30 °C'de 48 saat, aerobik 37 °C'de 48 saat, aerobik
MRS agar- Merck	Toplam LAB sayımı ve izolasyonu	30 °C'de 48 saat, anaerobik
M17 agar- Merck	Kok şeklindeki LAB sayım ve izolasyonu	30 °C'de 48 saat, aerobik
KAA agar- Merck	<i>Enterococcus</i> sayım ve izolasyonu	37 °C'de 48 saat, aerobik
PDA agar- Merck	Maya sayım ve izolasyonu	25 °C'de 48 saat, aerobik
LS broth- Merck	Toplam koliform ve <i>E. coli</i> bakteri sayımı	37 °C'de 24 saat, aerobik
MRS broth- Merck	Toplam LAB / kok şeklindeki LAB saflaştırması ve depolanması	30 °C'de 48 saat, aerobik
Nutrient broth- Merck	<i>Enterococcus</i> saflaştırması ve depolanması	37 °C'de 48 saat, aerobik
YM broth	Maya saflaştırması ve depolanması	25 °C'de 48 saat, aerobik

3.2. Yöntem

Araştırma kapsamında toplam 3 tekerrürlü manyok üretimi gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. Manyok üretimi

Manyok kabukları bir bıçakla çıkarılmış, üste kalan balçık veya diğer kirler su ile yıkanmıştır. Soyulmuş manyok,tekrar yıkadıktan sonra küçük yuvarlak parçalar halinde çapı yaklaşık 5 cm olacak şekilde kesilmiştir. Köklerin kabukları soyularak, yıkanmış ve rendelenmiş Fermantasyon bırakılmıştır.



Şekil.3.1. Manyok fermantasyon aşamaları.

3.2.2. pH Tayini

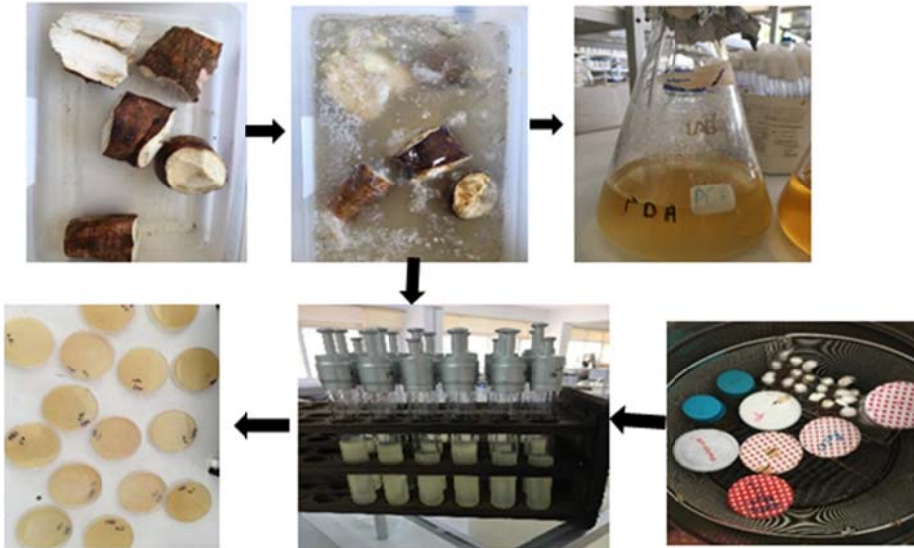
Araştırma kapsamında toplam 3 tekerrürlü manyok üretimi gerçekleştirilmiş olup, her üretimden 5 örnek alınarak, fermantasyon süresince pH ölçümleri yapılmıştır.

3.2.3. Koliform Bakteri Sayılarının Belirlenmesi

10 g Manyok örneği, steril edilmiş 90 mL tuzlu su (% 0.85'lik) kullanılarak homojenize ettik ve % 0.85'lik tuzlu su kullanılarak ardışık olarak 1/10 'luk seyretme işlemi uygulanarak,. örnekler içerisinde durham tüpü olan lauryl Sulfat Broth LSB besiyeri içeren tüplere inoküle edilmiştir. 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakılan tüpler, daha sonra durham tüplerindeki gaz oluşumuna göre EMS tablosuna göre değerlendirilmiştir (Halkman, 2005).

3.2.4. Toplam Aerobik Mezofilik Bakterilerilerin Sayımı

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısını belirlemek amacıyla 10 g örnek alınarak, steril 90 mL tuzlu su (% 0.85'lik) içerisinde homojenize edilmiştir. Daha sonra, % 0.85'lik tuzlu su kullanılarak ardışık olarak 1/10 'luk seyretme işlemi uygulanmıştır. Her bir seyreltmeden örnekler alınarak, Nutrient Agar (NA) besiyeri üzerine yayma ekim yöntemi ile ekimler gerçekleştirilerek, 30°C'de 48 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon sonunda gelişen kolonilerin sayımları gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil.3.2. Toplam Aerobik Mezofilik bakteri sayısının belirlenmesi

3.2.5. Maya Sayılarının Belirlenmesi ve Stok Kültürlerinin Hazırlanması

Toplam maya sayımında, PDA besiyeri, *Saccharomyces* spp. olmayan mayaların sayımında L-lizin agar kullanılmıştır. Örneklerde maya sayısını belirlemek amacıyla 10 g örnek alınarak, steril edilmiş 90 mL tuzlu su (% 0.85'lik) içine aktarılıp homojenize edilmiştir. Daha sonra, % 0.85'lik tuzlu su kullanılarak ardışık olarak 1/10 'luk seyretme işlemi uygulanarak, her bir seyreltmeden, yukarıda belirtilen besiyerlerine yayma ekim yöntemi ile ekimler gerçekleştirilerek, 25°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda gelişen kolonilerin sayımları gerçekleştirilmiştir. Besiyerinde gelişen farklı kolonilerden öze yardımıyla alınarak her biri ayrı ayrı 10 mL'lik YPD broth besiyerine inoküle edilmiş, daha sonra tüm maya kültürleri, 25 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen maya kültürleri 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek elde edilen süpernatant dökülerek, 5 mL' lik eppendorf tüpleri içerisine 1 mL YPD broth, 1 mL maya kültürü ve 1 mL steril gliserin ilave edilmiş ve bu tüpler -18 °C'de saklanmıştır.

3.2.6. Laktik Asit Bakterileri Sayılarının Belirlenmesi ve Stok Kültürlerinin Hazırlanması

Laktik asit bakterilerinin belirlenmesi amacıyla 10 g manyok örneği, steril edilmiş 90 mL tuzlu su (% 0.85'lik) kullanılarak homojenize edilmiştir. Daha sonra, % 0.85'lik tuzlu su kullanılarak ardışık olarak 1/10 'luk seyretme işlemi uygulanmış, Man, Rogosa ve Sharpe Agar (MRS agar), Kanamycin Esculin Azide (KAA) agar ve *Enterococcus* Selective agar besiyerleri üzerine yayma ekim yöntemi ile ekimler gerçekleştirilerek, anaerobik olarak 30°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Gelişen kolonilerin sayımları gerçekleştirildikten sonra da tipik koloniler seçilerek saflaştırılmıştır. İzolatlar %60'lık gliserinli eppendorf tüpleri içerisinde -20°C'de depolanmıştır.

3.2.7. Aerob Spor Bakteri Sayılarının Belirlenmesi

10 g manyok örneği, steril edilmiş 90 mL dilüsyon sıvısı (% 0.85 NaCl) kullanılarak homojenize edilmiş ve dilüsyon sıvısı kullanılarak ardışık olarak 1/10 'luk seyretme işlemi uygulanmıştır. Seyreltilen örneklerle ait tüpler, 80°C’de 10 dakika su banyosunda ısıtılmış, daha sonra 37°C’ye soğutulularak, NA üzerine yayma ekim yöntemi ile ekimleri yapılmıştır. 37°C’de 48 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra, gelişen koloniler sayımları yapılarak değerlendirilmiştir (Halkman, 2005).

3.2.8. Laktik Asit Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi

Laktik asit bakteri izolatlarının antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesinde Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Bunu iki aşamada gerçekleştirmektedir. Birinci aşaması izolatların yoğunluğunu ayarlamadır ve 0.5 McFarland ($1-2 \times 10^8$ kob/mL) standarda göre yapılmıştır. Ependorf tüpünde stok edilen izolatlardan 0.1 mL alınıp 5mL’lik MRS broth’a inoküle edilmiştir ve 30 °C’de 18 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda 2 tüp karıştırılarak santrifüj edilmiştir. Süpernatant dökülüp pellet üzerine 5 mL dilüsyon sıvısı ilave edilmiştir. Elde edilen karışım numunemizdir. Daha sonra ardışık seyretme (10-7 kadar) işlemi uygulanmıştır. MRS besiyeri üzerine 0.1 mL alınıp yayma ekim yöntemi kullanılarak ekim yapılmıştır ve anaerobik koşullarda 30 °C’de 48 saat inkübe edilmiştir. Koloniler sayımında 10^{-7} petri kutusu üzerinde 18- 25 civarında koloni kabul edilmiştir. İkinci aşama’ya ise uygun bir şekilde 0.5 McFarland standardına göre ayarlanarak, MRS besiyerine yayma ekim yöntemiyle ekim yapılmıştır. Hemen ardından beklemeden inoküle edilen petri kutularının yüzeyine dispenser aracılığı ile antibiyotik (vankomisin, kloramfenikol, rifampisin, tetrasiklin, eritromisin, ampisilin, gentamisin ve siprofloksasin) içeren kâğıt diskler yerleştirilerek 37 °C’de 24 saatlik anaerobik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda zon çapları ölçülmüştür. Sonuçlar, NCCLS (the National Committee for

Clinical Laboratory Standards) doküman M2-A9 kriterlerine göre bakteri suşları, dirençli, orta duyarlı ve duyarlı olarak değerlendirilmiştir(Laktik asit bakteriler için NCCLS doküman M2-A9 zon çapı yorumlama standartları Çizelge 3.2 'de verilmiştir

Çizelge 3.2. AB için NCCLS doküman M2-A9 zon çapı yorumlama (Ünal Turhan ve ark., 2016).

Antibiyotik	Disk İçeriği	Zon Çapı Yaklaşık mm		
		R	I	S
Eritromisin(E15)	15 µg	≤13	14-22	≥23
Tetrasiklin(TE10)	30 µg	≤14	15-18	≥19
Ampisilin(AM10)	10 µg	≤16	-	≥17
Vankomisin(VA30)	30 µg	≤14	15-16	≥17
Gentamisin(CN10)	120µg	6	7-9	≥10
Siprofloksasin(CIP5)	5 µg	≤15	16-20	≥21

*R: Dirençli , *I: Orta duyarlı, *S: Duyarlı

3.2.9. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu

MRS, M17 ve KAA agarlarından manyok örneklerine ait olan ve izole edilen kolonilere katalaz testi uygulanmıştır. Katalaz negatif olan kolonileri seçilip, gram bayamaya tabi tutularak, Gram pozitif kolonileri izole edilmiştir. İzolatlar %60'lık gliserinli eppendorf tüpleri içerisinde -20°C'de depolanmıştır.

3.2.10. Laktik Asit Bakterilerinin ve Mayaların Tanımlanması

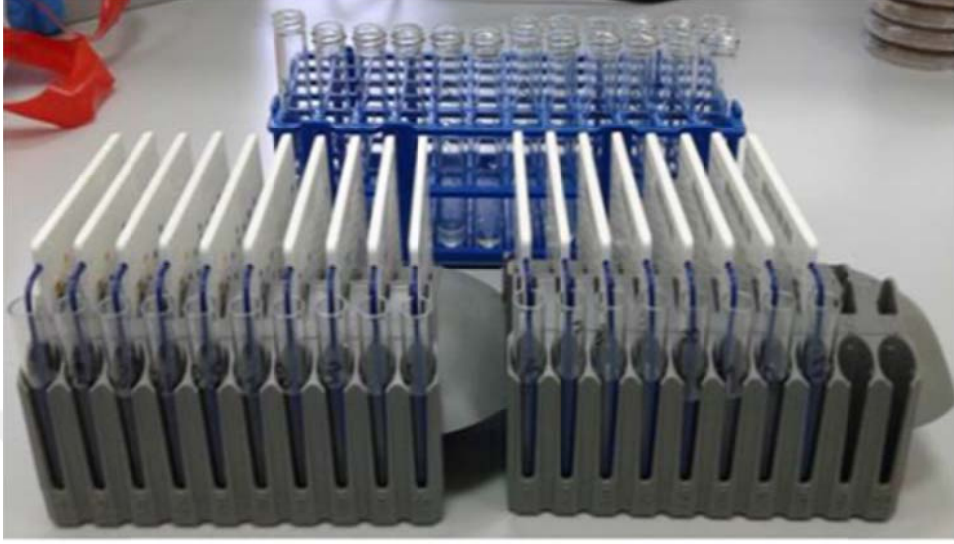
Laktik asit bakterileri ve mayaların tanımlanması, Bangui universitesi Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde VITEK2 (Biomerieux) compact otomatik tanımlama sisteminde yapılmıştır (Şekil 3.3). Laktik asit bakterileri ve mayaları

tanımlamak için GP ID (Gram pozitif bakteri tanımlama kartı) ve YST ID (Maya tanımlama kartı) kartları kullanılmıştır (Şekil 3.4).

Tanımlama kartlarında karbon kaynağı kullanımı ve enzimatik aktivite özelliklerini ölçen biyokimyasal testler mevcuttur. Her bir test için belirlenen reaksiyonlar eşik değerler ile otomatik olarak kıyaslanmakta ve VITEK 2 Compact cihazında test reaksiyon sonuçları (-) ve (+) olarak gözükmemektedir. Elde edilen veriler sistemin kütüphanesindeki verilerle karşılaştırılarak, tanımlama yapılmıştır. (Suganthi ve ark . 2017).



Şekil.3.3. Vitek 2 Compact cihazı



Şekil.3.4. GP ID Ve YST ID kartları yerleşmesi

3.2.11. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizler windows SPSS 15.0 software istatistik paket programı (SPSS Inc.,Chicago ,ıl,USA) kullanılarak yapılmıştır. Tek yönlüvaryansalizi(ANOVA) denemeler arasında önemli farklılıkların karşılaştırmasında ,, Duncan çoklu karşılaştırma testi gruplar arasındaki farklılıkların karşılaştırılmasında kullanılmıştır ($P < 0.05$) (Bek ve Efe,1988)

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

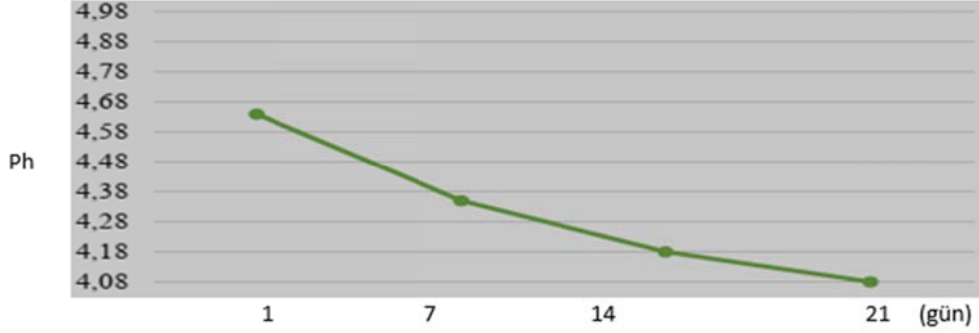
Araştırmada kullanılan manyok Orta Afrika'dan getirilerek, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda mühendisliği mikrobiyoloji laboratuvarında fermentasyonu gerçekleştirilmiştir.

Fermantasyonu süresince pH ölçümlerinin yanı sıra, toplam LAB, kok şeklindeki LAB, *Enterococcus* spp.'i, toplam mezofil aerob bakteri, toplam aerob sporlu bakteri, toplam maya, toplam koliform bakteri ve *E.coli* sayıları pH, mikrobiyotadaki değişimi incenerek, mayalar ve laktik asit bakterileri(LAB) tanımlanmış ve fermentasyonda rol alan LAB'ların antibiyotiklere karşı direnç özellikleri belirlenmiştir

4.1. pH Sonuçları

Fermantasyon süresince manyok örneklerinin pH'ları şekil 4.2'de verilmiştir. Şekil 4.2'de görüldüğü gibi manyok'nun fermentasyon süresince ortalama pH 4,08 - 4,64 arasında değişmiştir. Fermentasyonun 1. gününden 21. gününe kadar pH değerlerinde azalma görülmüştür. En yüksek pH 4,58 ile 1. günde belirlenmiştir. En düşük pH ise 4,08 olarak 21.günde ölçülmüştür. Fermentasyon süresince, pH değerleri istatistiksel açıdan önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

Hama ve ark. (2009) çalışmasında 72 saatlık fermentasyondan sonra manyok'nun pH değerini ortalama 4.49 olarak saptanmıştır. yaptığı çalışmada, manyok'un pH değeri 4.27 olarak belirlenmiştir. Aynı çalışmada foufou ve gari ile yapılan manyok'nun pH değerlerini sırasıyla 4.21 ve 4.22 olarak bulunmuştur.



Şekil.4.1. Manyok örneklerinde fermantasyon süresince pH değişimi.

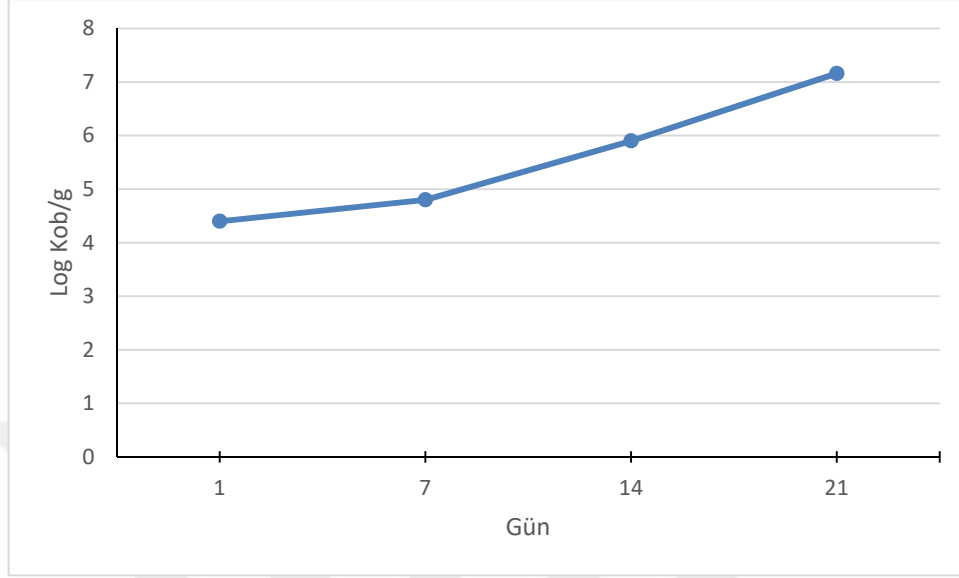
Çizelge 4.1. Fermantasyon Süresince Belirlenen pH Değerleri ve Mikroorganizma Sayım Sonuçları.

	Günler	pH	Toplam LAB	Enterokok	TMAB	Maya
manyok Örnekler	1.gün	4,90	4,77±0,400	3,61±0,234	4,04±0,614b	4,38±0,661
	7.gün	4,58	5,80±0,670	3,52±0,369	4,80±0,655	4,68±0,991
	14.gün	4,18	6,78±0,482	3,87±0,216	5,90±0,62	4,90±0,555
	21.gün	4,08	7,77±0,160	3,56±0,340	6,33±0,882	7,16±0,537

Çizelgede aynı satında harflendirme yapılmayan değerler istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$ seviyesindedir).

4.2. Toplam Mezofil Aerob Bakteri Sayım Sonuçları

Fermantasyonu süresince manyok örneklerindeki TMAB sayıları Şekil 4.3’de verilmiştir. Manyok fermentasyonu süresince toplam mezofil aerob bakterileri sayısı 4,30- 7,33 log kob/g arasında değişmiştir. En yüksek toplam mezofil aerob bakterileri sayısı 7,33 log kob/g, 21. günde belirlenmiştir. En düşük sayı ise 4,30 log kob/g. Fermantasyon süresince, toplam mezofil aerob bakterileri sayısı, istatistiksel açıdan önemli ($p<0.05$). Bu farklılık kullanılan hammaddeler, coğrafi faktörler, çalışma yöntemleri, stater kültür, üretim hijyen koşulları gibi nedenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.



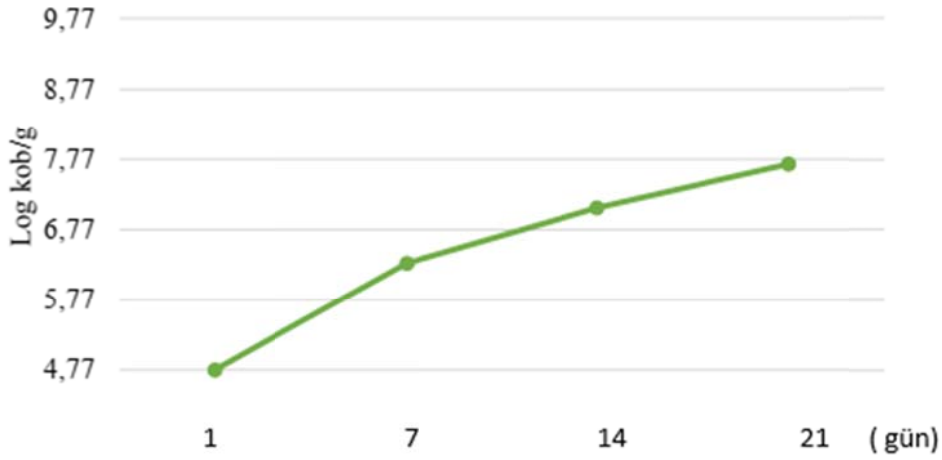
Şekil.4.2. Toplam Mezofil Aerob Bakteri Sayım Sonuçları

4.3. Laktik Asit Bakterileri Sayım Sonuçları

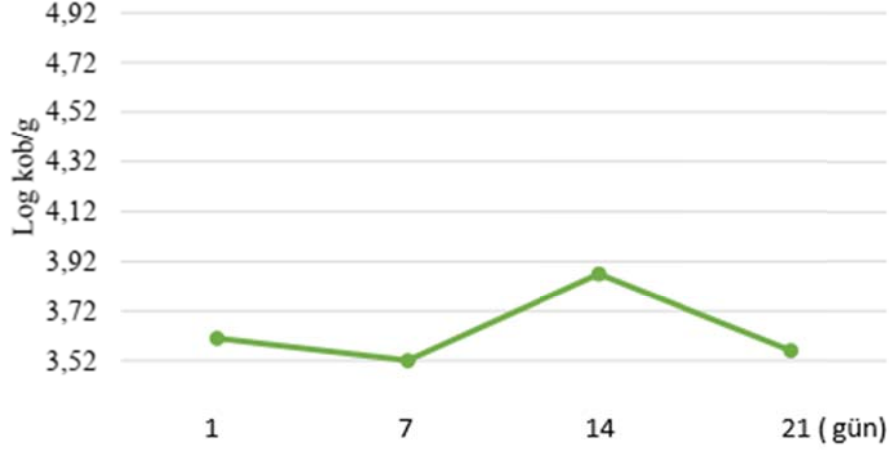
Fermantasyonu süresince manyok örneklerindeki toplam LAB sayısındaki , Şekil.4.4 ve görüldüğü gibi fermentasyon süresince, toplam LAB sayısı 4.79 – 7.79 log kob/g arasındadır. Genel olarak, fermentasyonun 1.gününden 21. gününe kadar toplam LAB sayısında artış görülmüştür. En yüksek toplam LAB sayısı 7.79 log kob/g, fermentasyonun 21. gününde belirlenmiştir. En düşük toplam LAB sayısı 4,78 log kob/g ise 1. günde belirlenmiştir. Fermantasyon süresince toplam LAB sayısı, istatistiksel açıdan önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Aynı şekilde kok LAB sayısı 4.04 – 7.52 log kob/g arasında belirlenmiştir. Genel olarak, fermentasyonun 1. gününden 21. gününe kadar kok şeklindeki LAB sayısı artmıştır. En yüksek kok şeklindeki LAB sayısı 7,52 log kok/g, fermentasyonun 21. gününde belirlenmiştir. En düşük sayısı 4.04 log kob/g ise 1. günde belirlenmiştir. İstatistiksel açıdan kok şeklindeki LAB sayısında önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Fermantasyonu süresince, enterokokların sayısı ise 3.52 – 3,86 log kob/g arasında bulunmuştur. Genel olarak enterokok sayısı düzensiz değişimler göstermiştir En yüksek enterokok sayısı 3,86

log kob/g,fermentasyonun 14. gününde belirlenmiştir. En düşük sayısı 3.52 log kob/g ise fermentasyonun 7 gününde belirlenmiştir . Bu değerler İstatiksel açıdan önemsiz ($p>0.05$) bulunmuştur.

Omar ve ark. (2014), yaptığı araştırmada, patates ve gari manyok'nun LAB sayısı sırasıyla 4.79-7.80 ve 7.82 log kob/g bulmuştur. Bulduğumuz LAB sayısı ile yakın olduğunu görülmektedir. Hama ve ark. (2009), çalışmalarında ise LAB sayısı üretim gününde 6.96 log kob/g ve 72 saatlik fermentasyondan sonra 9.91 log kob/g bulmuştur. Çalışmamız sonuçlarında ise LAB sayısı daha yüksek bulunmuştur. Tankoano ve ark. (2017), patates benzer olan ürün Gappal (burkina faso'da üretilir) üzerinde yaptığı çalışmada sıvı Gappal ürünün *Enterococcus* sayısı 4.30 log kob/g bulunmuştur. Bahsedikten çalışmada:Enterococcus sayısı ile ilgili sonuçlarımızla benzerik göstermiştir.



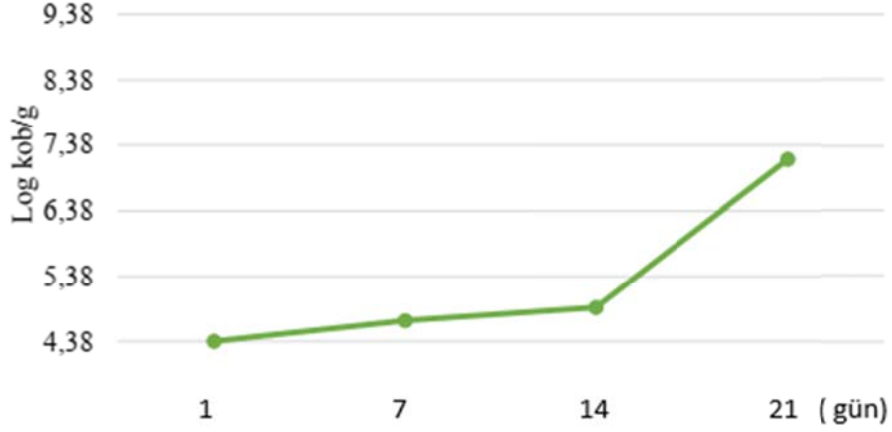
Şekil 4.3. Laktik Asit Bakterileri sayım sonuçları



Şekil 4.4. Enterokok sayısı

4.4. Maya Sayım Sonuçlar

Fernantasyon süresince manyok örneklerindeki maya sayısı şekil 4.6’da verilmiştir. manyok örneklerinde, fermantasyon süresince toplam maya sayısı 4.38 - 6.98 log kob/g arasında belirlenmiştir. Fermantasyonun 1. ve 14. günleri arasında maya sayısı hafif artış görülmüştür. fermantasyon 14. gününden itibaren artmıştır. En yüksek toplam maya sayısı 6.98 logkob/g, fermantasyonun 21. gününde belirlenmiştir. En düşük toplam maya sayısı 4.38 log kob/g fermantasyonun 1. gününde belirlenmiştir(Şekil 4.6). Toplam maya sayısı, istatistiksel açıdan önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.



Şekil.4.5. Maya sayısı

4.5. Toplam Koliform ve *Escherichia coli* Sayım Sonuçları

Fermentasyon süresince manyok örneklerindeki toplam koliform sayısındaki 2 - 3.77 log EMS/g arasında değişmiştir. fermentasyonun 1. Gününden 14 gününe kadar koliform sayısı azalarak sıfırlanmıştır. fermentasyonun 14gününden itibaren toplam koliform saptanamıştır. En yüksek toplam koliform sayısı 3.77 log EMS/g, fermentasyon 1 gününde bulunmuştur. Bulunan koliform bakterilerinin *Escherichia coli* olup olmadığının belirlenmesi amacıyla yapılan indol test sonuçları negatif olarak saptanmıştır. Toplam koliform sayısı, istatistiksel açıdan önemsiz ($p>0.05$) bulunmuştur.

4.6. Laktik Asit Bakterileri ve Mayaların İzolasyonu

4.6.1. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu

MRS, M17 ve KAA agarlarından manyok örneklerine ait olan ve izole edilen şüpheli kolonilere katalaz testi uygulanmıştır. Katalaz negatif olan kolonileri seçilip gram boyamaya tabi tutularak, Gram pozitif kolonileri izole edilmiştir. Çizelge 4.2'de elde edilen izolatların özellikleri verilmektedir. Katalaz negatif ve Gram pozitif olan 20 LAB izolatları mikroskopta (16X100) bakılarak 16'sı (% 80) kok, 4 tanesi ise (% 20) basil olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. İzolatların özellikleri

İZOLAT NO	KATALAZ	GRAM BOYAMA	ŞEKİL
1	-	+	Kok
2	-	+	Kok
3	-	+	Kok
4	-	+	Kok
5	-	+	Kok
6	-	+	Kok
7	-	+	Kok
8	-	+	Kok
9	-	+	Kok
10	-	+	Kok
11	-	+	Çubuk
12	-	+	Çubuk
13	-	+	Kok
14	-	+	Kok
15	-	+	Kok
16	-	+	Kok
17	-	+	Çubuk
18	-	+	Kok
19	-	+	Çubuk
20	-	+	Kok

4.6.2. Laktik Asit Bakteri ve Mayaların Tanımlanması

İzolatların identifiasyonu VITEK-2 (Biomerieux) compact otomatik sistemi ile yapılmıştır. Vitek-2 sisteminin kütüphanesindeki verilere göre manyok fermantasyonu sırasında *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* ve *Enterococcus* cinsleri tespit edilmiştir. Ayrıca elde edilen sonuçlara göre manyok ürününde 5 izolat (% 50) *Candida kefir*, 1 izolat (% 10) *Cryptococcus albidus* ve 4 izolat (% 40) *Rhodotorula glutinis* olmak üzere bulunan 3 farklı maya türü

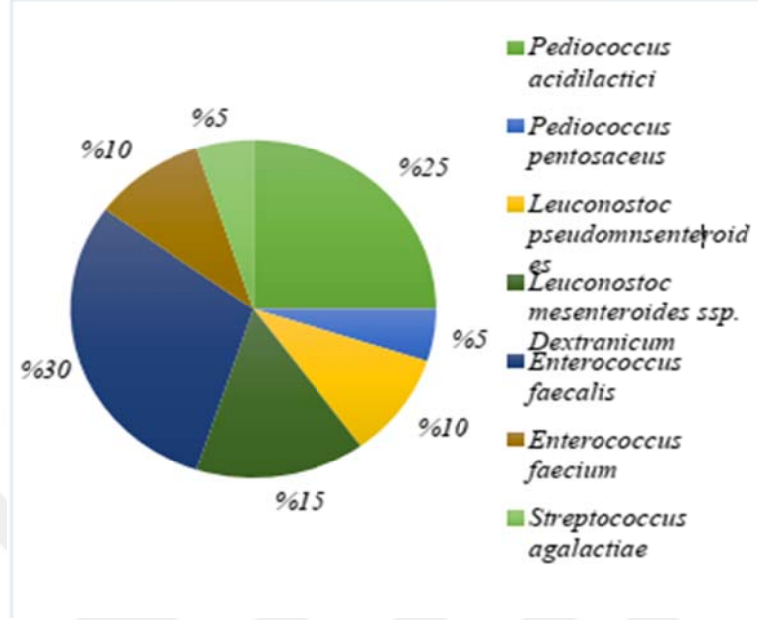
saptanmıştır. Çizelge 4.3'de elde edilen sonuçlar ayrıntıyla verilmiştir. Çizelge.4.3'de belirlenen suşların % dağılımları gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Tanımlama sonuçları

İZOLAT NO	VİTEK-2 SONUÇLARI	(%) BENZERLİK
1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	%89
2	<i>Pediococcus acidilactici</i>	%97
3	<i>Pediococcus acidilactici</i>	%97
4	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	%86
5	<i>Pediococcus acidilactici</i>	%97
6	<i>Enterococcus faecalis</i>	%99
7	<i>Enterococcus faecium</i>	%99
8	<i>Enterococcus faecalis</i>	%99
9	<i>Enterococcus faecalis</i>	%99
10	<i>Enterococcus faecalis</i>	%99
11	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	%86
12	<i>Leuconostoc mesenteroides ssp dextranicum</i>	%91
13	<i>Pediococcus acidilactici</i>	%97
14	<i>Enterococcus faecium</i>	%90
15	<i>Enterococcus faecalis</i>	%99
16	<i>Pediococcus acidilactici</i>	%93
17	<i>Leuconostoc mesenteroides ssp dextranicum</i>	%93
18	<i>Leuconostoc mesenteroides ssp dextranicum</i>	%99
19	<i>Enterococcus faecalis</i>	%97
20	<i>Streptococcus agalactiae</i>	%88

Vitek-2 compact sonuçlarına göre % 30'u *Pediococcus*, %25'i *Leuconostoc*, % 40'ı *Enterococcus* ve %5'i *Streptococcus* cinsleri bulunmuştur. Ayrıca 6 izolat (% 25) *Pediococcus acidilactici*, 1 izolat (% 5) *Pediococcus pentosaceus*, 3 izolat (% 15) *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *dextranicum*, 1 izolat (%10) *Leuconostoc pseudomesenteroides*, 6 izolat (% 30) *Enterococcus faecalis*, 2 izolat (% 10) *Enterococcus faecium* ve 1 izolat (% 5) *Streptococcus agalactiae* olarak tanımlanmıştır. Tanımlanan izolatların büyük çoğunluğunu *Enterococcus* cinsi oluştururken, *Streptococcus* cinsi en düşük oranda saptanmıştır (Şekil 4.4).

Oyewole ve ark., (2006) Burkina faso'nun tarafından farklı bölgelerinden manyok örnekleri toplayıp bu örneklerden morfolojik, kültürel, fizyolojik ve biyokimyasal yöntemler kullanarak 125 LAB izolasyonu yapılmışlardır. Bu izolatların *Pediococcus*, *Leuconostoc* cinslerine ait olduklarını belirlenmişlerdir. Abriouel ve ark. (2006) çalışmasında manyok'da PCR yöntemi kullanılarak *Enterococcus* sp. varlığı belirlenmiştir. Angelov ve ark. (2017) Benin'de üretilen manyok benzer bir ürün üzerinde yaptığı araştırmada, *Pediococcus acidilactici* ve *Enterococcus* sp. tanımlanmıştır. Dahi örneklerinde *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *dextranicum*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Enterococcus faecium* olduğunu belirlemişlerdir (Oyewole ve Phillip, 2006).



Şekil 4.6. Manyokdan tanımlanan LAB'lara ait türlerin % dağılımları

4.7. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi

Vankomisin, kloramfenikol, rifampisin, tetrasiklin, eritromisin, ampicilin, gentamisin ve siprofloksasin olmak üzere 8 tane antibiyotik kullanılarak manyokdan elde edilen LAB'ların antibiyotik dirençlilikleri belirlenmiştir. Antibiyotiklerden kaynaklanan inhibisyon zon çapları sonuçları NCCLS (*the National Committee for Clinical Laboratory Standards*) doküman M2-A9 kriterlerine göre antibiyotik dirençlerinin sonuçları verilmiştir. Antibiyotiklere dirençli bakteriler, gıda ve yemlerde aşağıdaki nedenlerden dolayı en önemli tehdit unsurlarından biridir. Birincisi, bu genleri birçok patojen bakteriye transfer etme riski ile diğer mikroorganizmalarla direnç faktörlerini değiştirebilir (Shalini Mathur ve ark., 2005).

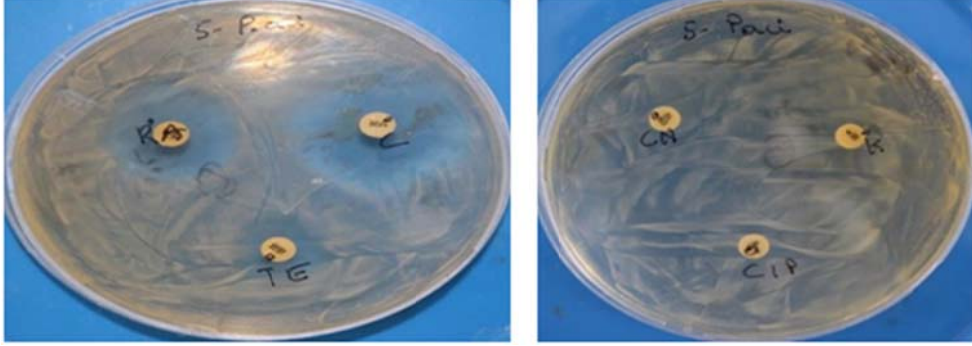
İkinci olarak, sadece antibiyotik tedavisi ile kontrol edilebilen endokardit (kalp ve damarların içinde mikrobiyal enfeksiyona verilen isimdir) oluşturan bazı LAB suşları etiyolojik ajanlar olduğu bildirilmiştir (Salvana ve ark., 2006). Son

olarak, Probiyotik LAB kullanımı optimizasyonu gastrointestinal vakalarında, antibiyotik tedavisi güçlendirmek için LAB'ların antibiyotik dirençlerini bilmeleri gerekmektedir (Salminen ve ark.,1998). Yukarıdaki nedenlerden dolayı, manyok örneklerden izole edilen LAB'ların antibiyotik direnci bu çalışmada araştırılmıştır. Elde edilen antibiyotik direnci sonuçlara göre izolatlar çoklu antibiyotik direnci göstermektedir.

4.7.1. *Pediococcus* Cinsi İzolatların Antibiyotik Dirençlilikleri

Tüm *Pediococcus acidilactici* (%100) izolatları (2; 3; 5; 13 ve 16 nolu) tetrasiklin, vankomisin ve siprofloksasin antibiyotiklerine dirençlilik gösterirken, rifampisin ve kloramfenikole karşı duyarlılık göstermiştir. 3 nolu izolat (%20) eritromisin karşısında orta duyarlılık gösterirken kalan (%80) izolatlar (2; 5; 13; 16 nolu) duyarlılık göstermiştir. Aynı şekilde 16 nolu izolat (%20), gentamisin karşısında orta duyarlılık gösterirken kalan (%80) izolatlar (2; 3; 5; 13 nolu) dirençlilik göstermiştir. Ampisilin karşısında ise *Pediococcus acidilactici* izolatlarının %60'ı (izolat 2; 3 ve 16 nolu) duyarlı ve %40'ı (izolat 5 ve 13 nolu) dirençli bulunmuştur. *Pediococcus pentosaceus* izolatı (1 nolu), kloramfenikol, eritromisin ve gentamisin antibiyotiklerinin karşısında orta duyarlıyken ampisilin ve rifampisin karşısında duyarlı ve tetrasiklin, vankomisin, siprofloksasin karşısında dirençli bulunmuştur. *Pediococcus acidilactici* antibiyotik dirençliliklerini verilmiştir. şekil.4.7

Saeed ve ark. (2014), yaptığı araştırmada tüm *Pediococcus* izolatlarının vankomisin karşısında dirençli olduklarını belirlemişlerdir. Aynı şekilde tüm izolatlar kloramfenikol, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin ve amoksisiline karşısında duyarlı ve tetrasiklin karşısında orta duyarlı olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda da yakın sonuçlar bulunmuşlardır.

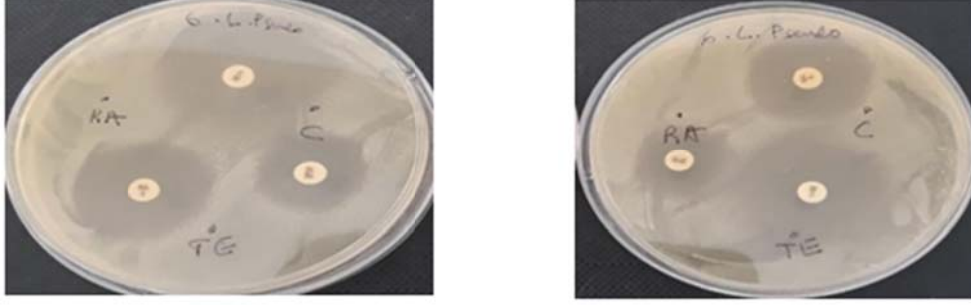
Şekil.4.7. *Pediococcus acidilactici* antibiyotik dirençlilikleri

4.7.2. *Leuconostoc* Cinsi İzolatların Antibiyotik Dirençlilikleri

Leuconostoc pseudomnesenteroides izolatları (4 ve 11 nolu), vankomisin, siprofloksasin, gentamisin antibiyotiklerinin karşısında dirençlilik gösterirken rifampisin, kloramfenikol karşısında duyarlı oldukları saptanmıştır. Ampisilin ve tetrasiklin karşısında *Leuconostoc pseudomnesenteroides* izolatlarının birisi (izolat 4 nolu) dirençliken ikincisi diğeri (11 nolu) aynı antibiyotiklerin karşısında sırayla duyarlı ve orta duyarlı bulunmuştur. Ayrıca 4 nolu izolat eritromisin karşısında duyarlılık gösterirken 11 nolu izolat orta duyarlılık göstermiştir. Tüm *Leuconostoc mesenteroides* ssp *dextranicum* (% 100) izolatları (12; 17 ve 18 nolu) vankomisin, siprofloksasin karşısında dirençliken ampisilin, kloramfenikol antibiyotiklerinin karşısında duyarlılık göstermiştir.

12 ve 17 nolu izolatlar (% 66,67) rifampisin karşısında dirençli, eritromisin karşısında orta duyarlı ve gentamisin karşısında duyarlı bulunurken, 18 nolu (% 33,33) izolat aynı antibiyotiklerin karşısında sırayla duyarlı ve dirençli bulunmuştur. Tetrasiklin karşısında ise 17 ve 18 nolu izolatlar (% 66,67) duyarlıyken 12 nolu izolat (% 33,33) orta duyarlı bulunmuştur. Şekil.4.9'de *Leuconostoc pseudomesenteroides* antibiyotik dirençliliklerini verilmiştir. Saeed ve ark. (2014), yaptığı araştırmada *Leuconostoc mesenteroides* cinsleri, rifampisin, eritromisin, klindamisin ve tetrasikline duyarlılık gösterirken kloramfenikola dirençlilik göstermiştir. Swenson ve ark. (1990), çalışmasında *Leuconostoc*

cinsleri, kullanılan antibiyotiklere (imipenem, minosiklin, kloramfenikol, gentamisin, daptomisin) dirençlilik göstermemiştir. Çalışmamızda da yakın sonuçlar bulunmuştur.



Şekil.4.8. Leuconostoc antibiyotik dirençlilikleri.

4.7.3. Enterococcus Cinsi İzolatların Antibiyotik Dirençlilikleri

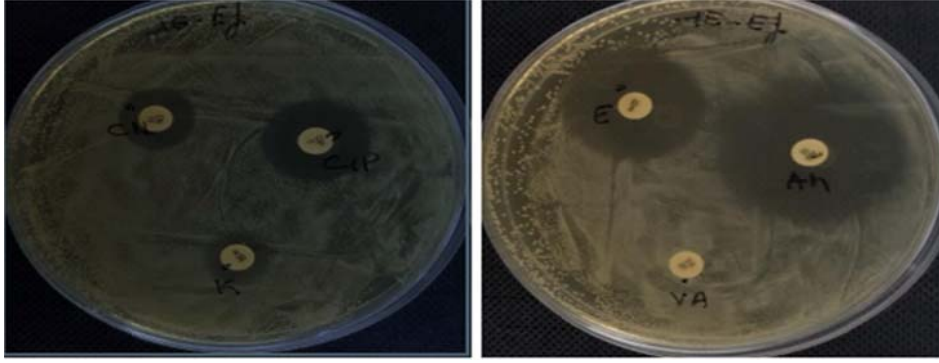
Tüm *Enterococcus faecalis* (%100) izolatları (6; 8; 9; 10; 15; 19 nolu) antibiyotik dirençlilik göstermiştir. 8; 9; 10; 15 ve 19 nolu izolatlar (%83,33) ampicilin, vankomisin karşısında duyarlıyken 6 nolu izolat (%16,67) dirençlilik göstermiştir. 9; 10 ve 15 nolu izolatlar (%50) kloramfenikol, tetrasikline duyarlılık gösterirken, 19 nolu izolat (%16,67) dirençlilik göstermiş ve 6; 8 nolu izolatlar (%33,33) orta duyarlılık göstermiştir.

Siprofloksasin karşısında, 6; 8; 9 ve 10 nolu izolatlar (%66,67) dirençlilik gösterirken, 15 ve 19 nolu izolatlar (%33,33) sırayla duyarlılık ve orta duyarlılık göstermiştir. Rifampisin karşısında, 8; 10; 15 ve 19 nolu izolatlar (%66,67) dirençlilik gösterirken, 6; 9 nolu izolatlar (%33,33) duyarlı göstermiştir. Eritromisin karşısında ise 6 ve 8 nolu izolatlar (%33,33) duyarlı, 9 ve 10 nolu izolatlar (%33,33) orta duyarlı, 15 ve 19 nolu izolatlar (%33,33) dirençli bulunmuştur.

Tüm *Enterococcus faecium* izolatları (7 ve 14 nolu), kloramfenikol, tetrasiklin ve ampiciline duyarlıyken, rifampisin karşısında dirençli bulunmuştur. 7 nolu izolat vankomisin ve siprofloksasin karşısında duyarlılık gösterirken 14 nolu

izolat sırayla dirençlilik ve orta duyarlılık göstermiştir. Aynı şekilde 14 nolu izolat eritromisin ve gentamisine duyarlıyken, 7 nolu izolat sırayla orta duyarlı ve dirençli bulunmuştur. *Enterococcus faecium* antibiyotik dirençlilikleri verilmiştir şekil.4.10

Saeed ve ark. (2014), yaptığı araştırmada *Enterococcus* izolatlarının çoğunluğu vankomisin karşısında dirençli olduklarını belirlemiştir. Aynı şekilde tüm izolatlar kloramfenikol karşısında duyarlı ve tetrasiklin karşısında orta duyarlı olarak belirlenmiştir. Tüm *Enterococcus* izolatlar seftriason, tobramisin ve siprofloksasin karşısında dirençli olarak belirlenmiştir. Başbülbul ve ark. (2015) yaptığı araştırmada *Enterococcus faecium* antibiyotiklere çoklu dirençlilik göstermiştir. Çalışmamızda da yakın sonuçlar bulunmuştur.



Şekil.4.9. Enterococcus faecium antibiyotik dirençlilikleri

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu amaçla 3 üretim yapılmış ve her birisinden 5 örnek alınarak fermentasyon boyunca mikrobiyolojik özelliklerinin yanı sıra, pH değerleri belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre üretien manyok örneklerinde fermentasyon süresince ortalama pH değerleri 4,08 – 4,64 arasında değişmiştir.

Manyok örneklerinde toplam mezofil aerob bakteri sayısı 4,04 – 7.33 log kob/g arasında değişmiştir. Fermentasyon süresince, toplam mezofil aerob bakterilerinin sayısı, istatiksel açıdan önemli bulunmuştur.

Manyok örneklerinde toplam LAB sayısı 4.79 – 7.79 log kob/g arasında bulunmuştur. Fermentasyon süresince, toplam LAB sayısı, istatiksel açıdan önemli bulunmuştur.

Enterokokların sayısı 2.61 – 3,5 log kob/g arasında bulunmuştur. Fermentasyon süresince, enterokok sayısı, istatiksel açıdan önemsiz ($p>0.05$) bulunmaktadır. Toplam maya sayısı 3.38 - 7.16 log kob/g arasında belirlenmiştir. Fermentasyon süresince, toplam maya sayısı, istatiksel açıdan önemli bulunmaktadır ($p<0.05$). Toplam Koliform sayısı 0 - 1.77 log EMS/g arasında değişmiştir. Fermentasyon süresince, enterokok sayısı, istatiksel açıdan önemsiz bulunmuştur.

Elde edilen verilere göre üretien manyok örneklerinde fermentasyon süresince ortalama pH değerleri 4,08 – 4,64 arasında değişmiştir. İstatiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Manyok örneklerinde toplam mezofil aerob bakteri sayısı 4,04 - 6.33 log kob/g arasında değişmiştir. Fermentasyon süresince, toplam mezofil aerob bakterilerinin sayısı, istatiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Manyok örneklerinde toplam LAB sayısı 4.77 – 7.70 log kob/g arasında bulunmuştur. Fermentasyon süresince, toplam LAB sayısı, istatiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Manyok örneklerinden izole edilen katalaz negatif, Gram pozitif LAB izolatlarında enterokok bakterileri dahil, %80'i kok (16) ve % 20' si basil (4) olarak belirlenmiştir.

Elde edilen izolatların vitek-2 compact kullanılarak yapılan tanımında, % 30'u *Pediococcus*, %25'i *Leuconostoc*, %40'ı *Enterococcus* ve %5'i *Streptococcus* cinsine dahil bulunmuştur. Ayrıca, 5 izolat (% 25) *Pediococcus acidilactici*, 1 izolat (%5) *Pediococcus pentosaceus*, 3 izolat (%15) *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *dextranicum*, 1 izolat (% 10) *Leuconostoc pseudomesenteroides*, 6 izolat (% 30) *Enterococcus faecalis*, 2 izolat (% 10) *Enterococcus faecium* ve 1 izolat (% 5) *Streptococcus agalactiae* olarak tanımlanmıştır. Maya suşları ise 5 izolat (% 50) *Candida kefyr*; 1 izolat (% 10) *Cryptococcus albidus* ve 4 izolat (% 40) *Rhodotorula glutinis* türleri olarak tanımlanmıştır.

Çalışmamızda izole edilen tüm LAB izolatları, test edilen antibiyotiklere karşı değişen oranlarda direnç ve duyarlılık göstermişlerdir. *Pediococcus* suşları, vankomisin (%100), tetrasiklin (%100), siprofloksasin (%100) ve kloramfenikol'e (%66.67) karşı dirençli bulunurken, rifampisin (%100), gentamisin (%100), ampisilin (%66.67) ve eritromisine (%66.67) duyarlı veya orta duyarlı oldukları bulunmuştur. *Leuconostoc* suşlarının vankomisin (%100), siprofloksasin (%100), gentamisin (%60) ve tetrasiklin'e (%20) karşı direnç oldukları saptanırken, kloramfenikol (%100), rifampisin (% 60), ampisilin (% 80) ve eritromisine (%60) duyarlı oldukları bulunmuştur. *Enterococcus* suşları ise gentamisin (%87.5), rifampisin (%75), eritromisin (%25) ve siprofloksasine (%50) karşı dirençli saptanırken, ampisilin (%87.5), vankomisin (%75), C (%62.5) ve tetrasikline (% 62.5) duyarlılık göstermişlerdir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçların, gıda güvenliği ve kalitesi dikkate alınarak kontrollü olarak endüstriyel manyok üretiminde kullanılması önemlidir. Kontrollü manyok üretimi sırasında izole edilen ve tanımlanan suşların ileriki çalışmalarda starter kültür olarak kullanım olanaklarının araştırılmasıyla ticari

starter kültürler elde edilerek, geleneksel bir ürününün endüstriyel boyutta üretimi denenmiş olacaktır.

Diğer yandan, laktik asit bakterinin antibiyotik dirençli genlerini, gıdakaynaklı insan ve hayvan patojenlerine transfer edilebilme özelliklerinden dolayı, antibiyotik dirençli genlerin potansiyel rezervuarları gibidir. Bu da bazı hastalıkların tedavisinde potansiyel bir sorun olabilmektedir. manyok'nun özellikle Afrika 'nın belli bölgelerinde yaygın tüketimi nedeniyle, dirençli genlerin transferindeki önemli kaynaklardan biri olarak görülmektedir. Bu yüzden manyok üzerinde LAB'ların antibiyotik dirençliliklerinin konusu genişletilerek, ayrıntılı bir şekilde direnç genlerinin araştırılması önemlidir.



KAYNAKLAR

- Adetunji, C. O., Akande, S. A., Oladipo, A. K., Salawu, R. A., Onyegbula, A. F. (2017). Determination Of The Microbiological Quality And Proximate Composition Of Fermented Cassava Food Products Sold İn Ilorin-West Local Government Area, Nigeria. *Ruhuna Journal Of Science*, 8(2).
- Ajibola, O. (2000). Adding Value To The Farmer's Harvest.
- Akarca, G.,Tomar, O. (2018). Siyah Yeşil Çay İle Üretilen Kombucha Çaylarının Antimikrobiyal Ve Antioksidatif Özellikleri. *Avrupa Bilim Ve Teknoloji Dergisi*(14), 96-101.
- Aloys, N.,Zhou, H. M. (2006). Functional And Chemical Properties Of Ikivunde And Inyange, Two Traditionally Processed Burundian Cassava Flours. *Journal Of Food Biochemistry*, 30(4), 429-443.
- Anike, N., Okafor, N. (2008). Secretion Of Methionine By Microorganisms Associated With Cassava Fermentation. *African Journal Of Food, Agriculture, Nutrition And Development*, 8(1), 77-90.
- Awobusuyi, T. D. (2015). *Quality And Storage Stability Of Provitamin A Biofortified Amahewu, A Non-Alcoholic Cereal Beverage*.
- Bali, E. B., Akca, G., Erdönmez, D., Erken Türkmen, K., Sağlam, N. (2018). Gıda Fitokimyasallarının Periodontal Patojenlere Karşı İn Vitro Antimikrobiyal Potansiyellerinin Değerlendirilmesi.
- Ceylan, A. A., Başbülbul, G., Biyoloji Bölümü, A., Rekombinant, D., Merkezi, R. P., Redprom, A. (2019). *Geobacillus Toebii HBB-218 Tarafından Üretilen Bakteriyosinin Konserve Gıdalarda Bacillus Coagulans Ve Geobacillus Stearothermophilus'u Engellemek Amacıyla Uygulanması. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 140.
- Civelek, T. (2017). Paratuberculosis İn Dairy Cattle. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 10(1), 29-32.

- Çamoğlu, G., Demirel, K. (2015). Marulda Farklı Tuz Ve Potasyum Uygulamalarının Verim Ve Bazı Fizyo-Morfolojik Özelliklere Etkileri. *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 3(1), 89-97.
- De Souza, A. C., Dias, A. M., Sousa, H. C., Tadini, C. C. (2014). Impregnation Of Cinnamaldehyde Into Cassava Starch Biocomposite Films Using Supercritical Fluid Technology For The Development Of Food Active Packaging. *Carbohydrate Polymers*, 102, 830-837.
- Dini, C., Doporto, M. C., Viña, S. Z., García, M. A. (2014). Cassava Flour And Starch As Differentiated Ingredients For Gluten Free Products. *Food And Beverage Consumption And Health. Cassava Production, Nutritional Properties And Health Effects*, 87-114.
- Egli, I. (2001). Traditional Food Processing Methods To Increase Mineral Bioavailability From Cereal And Legume Based Weaning Foods. *ETH Zurich*.
- Glover, R. L. K. (2007). Diversity Within Yeast Involved In Spontaneous Fermentation Of Pito.
- González, A., Hierro, N., Poblet, M., Rozes, N., Mas, A., Guillamón, J. (2004). Application Of Molecular Methods For The Differentiation Of Acetic Acid Bacteria In A Red Wine Fermentation. *Journal Of Applied Microbiology*, 96(4), 853-860.
- Göral, B. S., Gündüz, G. T. (2018). Use Of Probiotic Microorganisms For Plant Based Food Products. *Turkish Journal Of Agriculture-Food Science And Technology*, 6(12), 1741-1750.
- Gunun, P., Wanapat, M., Anantasook, N. (2013). Rumen Fermentation And Performance Of Lactating Dairy Cows Affected By Physical Forms And Urea Treatment Of Rice Straw. *Asian-Australasian Journal Of Animal Sciences*, 26(9), 1295.
- Güneş, E. (2016). Besinler Ve Beslenme Çalışmalarında Drosophila. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 19(3), 236-243.

- Halkman, A. K. (2005). Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. MERCK, Başak Matbaacılık Ve Tanıtım Hizmetleri Ltd. Şti., Ankara. 358 S.
- Holzapfel, W. H., Schillinger, U. (2002). Introduction To Pre-And Probiotics. *Food Research International*, 35(2-3), 109-116.
- Jiwuba, P. D. C., Onunka, B., Nweke, J. J. C. (2018). Influence Of Supplemental Cassava Root Sieviate-Cassava Leaf Meal Based Diets On Carcass And Economics Of Production Of West African Dwarf Goats. *Sustainability, Agri, Food And Environmental Research*, 6(4).
- Jiwuba, P. D. C., Udemba, F. O. (2019). Productive And Physiological Characteristics Of West African Dwarf Goats Fed Cassava Root Sieviate-Cassava Leaf Meal Based Diet. *Acta Fytotechnica Et Zootechnica*, 22(3).
- Kailasapathy, K., Sultana, K. (2003). Survival And [Beta]-D-Galactosidase Activity Of Encapsulated And Free Lactobacillus Acidophilus And Bifidobacterium Lactis In Ice-Cream. *Australian Journal Of Dairy Technology*, 58(3), 223.
- Kılıç, S., Ve Elmacı, Y. (2018). Buckwheat: Composition And Potential Usages In Foods. *Turkish Journal Of Agriculture-Food Science And Technology*, 6(10), 1388-1401.
- Kıvanç, M., Temel, O. (2016). Fermente Gıdalardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tannaz Aktivitesinin Belirlenmesi. *Gıda*, 41(6), 395-402.
- Lozano, R., Hamblin, M. T., Prochnik, S., Ve Jannink, J.-L. (2015). Identification And Distribution Of The NBS-LRR Gene Family In The Cassava Genome. *BMC Genomics*, 16(1), 360.
- Mahanama, R., Berenjian, A., Valtchev, P., Talbot, A., Biffin, R., Regtop, H., Dehghani, F., Ve Kavanagh, J. M. (2011). Enhanced Production Of Menaquinone 7 Via Solid Substrate Fermentation From Bacillus Subtilis. *International Journal Of Food Engineering*, 7(5).

- Majid, U., Siddiqi, T. O., Iqbal, M. (2014). Antioxidant Response Of Cassia Angustifolia Vahl. To Oxidative Stress Caused By Mancozeb, A Pyrethroid Fungicide. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36(2), 307-314.
- Min, S., Ve Krochta, J. M. (2007). Edible Coatings Containing Bioactive Antimicrobial Agents. *Packaging For Nonthermal Processing Of Food*, 29.
- Morgan, N. K., Choct, M. (2016). Cassava: Nutrient Composition And Nutritive Value In Poultry Diets. *Animal Nutrition*, 2(4), 253-261.
- Mulenga, R. M., Boykin, L. M., Chikoti, P. C., Sichilima, S., Ng'Uni, D., Alabi, O. J. (2018). Cassava Brown Streak Disease And Ugandan Cassava Brown Streak Virus Reported For The First Time In Zambia. *Plant Disease*, 102(7), 1410-1418.
- Myeni, T. B. (2015). Effect Of Genetic Manipulation And Traditional Processing Methods On The Nutritional Quality And Consumer Acceptability Of White Low Phytic Acid Maize.
- Nakason, C., Kaesman, A., Homsin, S., Kiatkamjornwong, S. (2001). Rheological And Curing Behavior Of Reactive Blending. I. Maleated Natural Rubber–Cassava Starch. *Journal Of Applied Polymer Science*, 81(11), 2803-2813.
- Odunfa, S., Adesomoju, A. (1985). Effects Of Fermentation On The Free Fatty Acids Of African Locust Bean During Iru Production. *Journal Of Plant Foods*, 6(2), 111-115.
- Onyango, M. Food Processing And Preparation Technologies For Sustainable Utilization Of African Indigenous Vegetables For Nutrition Security And Wealth Creation In Kenya.
- Oyewole, O. B., Phillip, B. (2006). Agro-Food Chains And Sustainable Livelihood. *The Agro-Food Chains And Networks For Development*, 107, 107.

- Smajgl, A., Carlin, G., House, A., Butler, J., Bohensky, E., Kurnia, A. S., Sugiyanto, C., Hodgen, M. (2009). Design Document For Agent-Based Model Simpası Jawa Tengah. Townsville: CSIRO Sustainable Ecosystems.
- Sousa, D. F. M. A. C. (2016). Bioprocessing Of Main Agro-Industrial Wastes Of Portugal For Protein Enrichment And Lignocellulolytic Enzymes Production. Universidade Do Minho.
- Suganthi, A., Ve Selvaraju, P. (2017). Fixing Accelerated Ageing Test Period And Evaluation Of Physical, Physiological And Biochemical Changes During Accelerated Ageing İn Groundnut CO 7 Pods. *IJCS*, 5(6), 174-179.
- Tanetrungroj, Y., Ve Prachayawarakorn, J. (2018). Effect Of Dual Modification On Properties Of Biodegradable Crosslinked-Oxidized Starch And Oxidized-Crosslinked Starch Films. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 120, 1240-1246.
- Taş, E., Enginkaya, Z., Kalkan, S., Turhan Ünal, E. (2017). Determination Of Antimicrobial Effects Of Probiotic Lactic Acid Bacteria And Garlic Extract Against Some Foodborn Pathogenic Bacteria.
- Tokatlı, M., Domurcuk, G., İşleroğlu, H. (2018). The Effect Of Fermentation Conditions And Stress Factors On Production Of Transglutaminase By *Streptomyces* Spp. *Turkish Journal Of Agriculture-Food Science And Technology*, 6(11), 1607-1616.
- Tomar, O., Yıldıırım, G. (2019). Antimicrobial Effect Of Red Beet (*Beta Vulgaris* Var. *Cruenta Alef.*) On Some Foodborne Pathogens. *Turkish Journal Of Agriculture-Food Science And Technology*, 7(Sp1), 54-60.
- Wanapat, M., Gunun, P., Anantasook, N., Kang, S. (2014). Changes Of Rumen Ph, Fermentation And Microbial Population As Influenced By Different Ratios Of Roughage (Rice Straw) To Concentrate İn Dairy Steers. *The Journal Of Agricultural Science*, 152(4), 675-685.

- Yalçın, H.,Üstündağ, H. (2019). Bacteriocins And Their Use İn Food Products. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 5(1), 53-65.
- Yalınkılıç, B.,Kaya, M. (2012). Fermente Et Ürünlerinde Fonksiyonel Starter Kültürler. Academic Food Journal/Akademik Gıda.
- Yaşar, A., Yaşar, B., Özkan, E. A., Savcı, Ü. (2018). Yozgat Yöresi Çocukluk Çağı İdrar Yolu Enfeksiyonuna En Sık Sebep Olan Etkenler Ve Antibiyotik Dirençleri The Most Common Factors That Cause Childhood Urinary Tract Infection İn Yozgat Region And Antibiotic Resistance. Bozok Tıp Dergisi, 8(2), 53-58.
- Yılmaz, R.,Temiz, A. (2003). *Streptococcus salivarius* subs. *thermophilus* Ve *Lactobacillus Delbrueckii Subsp. Bulgaricus*' Un Klasik Ve Moleküler Yöntemler Kullanılarak Tanımlanması Ve Karakterizasyonu. Orlab Mikrobiyol. Derg, 1(3), 19-42.

ÖZGEÇMİŞ

15 Mart 1990 yılında Orta Afrika Cumhuriyeti (Yelewa) doğdu. 2012-2013 yılında Alhidhab Üniversitesi (Jazair da) Ziraat facultesi Gıda Mühendisliği Bölümünde lisans eğitime Başladı ve 2016 yılında mezun oldu. 2016 ‘da çukurova üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Yüksek lisans eğitime başladı

