

**T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ULTRASONİK YÖNTEMLERLE EKSTRAKTE EDİLEN YABAN  
MERSİNİNİN BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİ VE KEFİR ÜRETİMİNDE  
KULLANIMI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MEHTAP ER**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**TEMMUZ 2014  
SAMSUN**





T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ULTRASONİK YÖNTEMLERLE EKSTRAKTE EDİLEN YABAN  
MERSİNİNİN BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİ VE KEFİR ÜRETİMİNDE  
KULLANIMI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MEHTAP ER  
(11210195)**

**Tezin Savunma Tarihi : 11 Temmuz 2014**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Muhammet DERVİŞOĞLU**

Bu Yüksek Lisans Tez Çalışması Ondokuz Mayıs Üniversitesi  
PYO.MUH.1904.13.005 nolu Proje ile desteklenmiştir.



**Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında**

**Mehtap ER Tarafından Hazırlanan**


**ULTRASONİK YÖNTEMLERLE EKSTRAKTE EDİLEN YABAN  
MERSİNİNİN BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİ VE KEFİR  
ÜRETİMİNDE KULLANIMI**

**başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 11/07/2014 tarihinde yapılan sınav ile  
YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.**

**Başkan :** **Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ**  
Yıldız Teknik Üniversitesi



**Jüri Üyeleri :** **Doç. Dr. Talip KAHYAOĞLU**  
Yıldız Teknik Üniversitesi



**Doç. Dr. Muhammet DERViŞOĞLU**  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi



.../.../...2014

**Prof. Dr. Hüseyin DEMİR**

Enstitü Müdürü



*Aileme,*



## ÖNSÖZ

Çalışmam süresince bilgi ve tecrübesiyle beni yönlendiren ve her zaman her konuda desteğini esirgemeyen saygı değer hocam Doç. Dr. Muhammet DERVİŞOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Optimizasyon çalışmalarımızda ve istatistik analizlerimizde yardımcı olan Doç. Dr. Talip Kahyaoğlu'na teşekkür ederim.

Analizlerin yürütülmesinde ve yüksek lisansım boyunca moral ve motivasyon desteğiyle bana yardımcı olan değerli hocam Öğr. Gör. Osman GÜL'e, ayrıca İlyas Atalar ve Furkan Türker SARICAOĞLU'na teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan, yüksek lisans boyunca her durumda maddi ve manevi desteğini esirgemeyen arkadaşım Betül Sema SALTOĞLU'na teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her alanda tecrübeleri, karakteri, ileri görüşlülüğü, anlayışı, desteği ile yanımda hissettiğim, her konuda örnek aldığım, bugünlere gelmemde kendimi yetiştirmemde ciddi katkıları olmuş mükemmel insanlar dedem Mürsel ER'e ve babaannem Fehime ER'e teşekkür ederim.

Beni hayatımın her aşamasında ve lisansüstü öğrenim konusunda teşvik eden, her attığım adımda benimle gururlanan, her zaman her konuda düşünmeksizin yanımda olan babam Metin ER'e, annem Fatma ER'e ve başta ablam Meral YALÇIN olmak üzere kardeşlerime teşekkür ederim.

Temmuz 2014

Mehtap ER

(Gıda Mühendisi)



## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER .....	ix
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xiii
KISALTMALAR .....	xv
ULTRASONİK YÖNTEMLERLE EKSTRAKTE EDİLEN YABAN MERSİNİNİN BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİ VE KEFİR ÜRETİMİNDE KULLANIMI .....	xvii
ÖZET.....	xvii
BIOACTIVE PROPERTIES BLUEBERRY EXTRACTED WITH ULTRASONIC METHODS AND USAGE IN KEFİR MANUFACTURE .....	xix
ABSTRACT .....	xix
1. GİRİŞ .....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ .....	7
2.1 Antioksidanlar.....	7
2.2 Fenolik Bileşikler.....	8
2.2.1 Fenolik asitler .....	9
2.2.1.1 Hidroksibenzoik asit ve türevleri.....	9
2.2.1.2 Hidroksisinamik asit ve türevleri .....	10
2.2.2 Flavanoidler .....	10
2.2.2.1 Antosiyanidinler .....	11
2.2.2.2 Flavonlar ve flavonoller.....	13
2.2.2.3 Flavonoller (kateşinler ve löykoantosiyandinler) .....	14
2.2.2.4 Proantosiyandinler (kondanse tanenler).....	15
2.2.3 İnsan sağlığı açısından fenolik bileşiklerin önemi .....	16
2.3 Yaban Mersini ve Kimyasal Bileşimi.....	17
2.4 Ultrasonikasyon Teknolojisi.....	19
2.5 Kefir İçeceği ve Kimyasal Bileşimi.....	23
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	27
3.1 Materyaller.....	27
3.2 Yöntemler .....	27
3.2.1 Yaban mersini pulpları.....	28
3.2.1.1 Kuru madde.....	29
3.2.1.2 pH.....	29
3.2.1.3 Briks .....	29
3.2.1.4 Titrasyon asitliği .....	29
3.2.1.5 Renk değerleri .....	29
3.2.1.6 Toplam fenol madde miktarı.....	30
3.2.1.7 Antioksidatif aktivitesi.....	30
3.2.1.8 Optimizasyon .....	31
3.2.1.9 Antosiyanin analizi.....	32

3.2.1.10 Flavonoid analizi .....	33
3.2.2 Süt ve kefir analizleri .....	34
3.2.2.1 Kuru madde .....	34
3.2.2.2 Titrasyon asitliği .....	34
3.2.2.3 pH .....	35
3.2.2.4 Yağ .....	35
3.2.3 Meyveli kefir analizleri .....	35
3.2.3.1 Fizikokimyasal analizler .....	37
3.2.3.2 Duyusal analizler .....	37
3.2.3.3 Mikrobiyolojik analizler .....	38
3.2.3.4 İstatistik analizleri .....	39
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>41</b>
4.1 Yaban Mersini Pulpu Sonuçları .....	41
4.1.1 Briks, pH, titrasyon asitliği değerleri .....	41
4.1.2 Toplam fenol ve antioksidatif kapasite miktarları .....	42
4.1.3 Renk değerleri .....	43
4.1.4 Antosiyanin değerleri .....	43
4.1.5 Flavonoid değerleri .....	45
4.1.6 Optimizasyon değerleri .....	47
4.2 Meyveli Kefir(yaban mersini pulplu) Sonuçları .....	53
4.2.1 Kuru madde miktarı .....	53
4.2.2 pH değeri .....	53
4.2.3 Titrasyon asitliği .....	54
4.2.4 Duyusal özellikler .....	55
4.3 Optimize Meyveli (%30 pulp ilave edilmiş) Kefir Sonuçları .....	62
4.3.1 Kuru madde miktarı .....	63
4.3.2 pH değeri .....	63
4.3.3 Titrasyon asitliği .....	64
4.3.4 Mikroorganizma sayıları .....	65
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>73</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>77</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>85</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>87</b>

## ÇİZELGELER LİSTESİ

### Sayfa

Çizelge 2.1. Hidroksibenzoik asitin meyvedeki varlığı .....	9
Çizelge 2.2. Üzümsü meyvelerdeki hidroksisünamik asit varlığı .....	10
Çizelge 2.3. Meyve ve sebzelerde yaygın bulunan antosiyanidinlerin yapısal farkları .....	12
Çizelge 2.4. Bazı sebze meyve ve içeceklerin flavonol ve flavon içerikleri .....	14
Çizelge 2.5. Flavonoidlerin sağlık üzerine etkileri .....	17
Çizelge 2.6. Kefirin mikrobiyolojik özellikleri (TGK, Fermente Süt Tebliği).....	23
Çizelge 2.7. Kefirin kimyasal özellikleri (TGK, Fermente Süt Tebliği) .....	24
Çizelge 3.1. Antosiyaninler için uygulanan elüsyon profili .....	33
Çizelge 4.1. Yaban mersininden üretilen (ultrasonikasyon uygulanmış) meyve pulplarında ortalama pH, brix ve titrasyon asitliği değerleri .....	41
Çizelge 4.2. Yaban mersininden üretilen (ultrasonikasyon uygulanmış) meyve pulplarında toplam fenol ve antioksidatif kapasitesi ortalama değerleri* .....	42
Çizelge 4.3. Yaban mersininden üretilen (ultrasonikasyon uygulanmış) pulpların ortalama renk değerleri .....	43
Çizelge 4.4. Yaban mersininden üretilen (ultrasonikasyon uygulanmış) meyve pulplarında antosiyanin ortalama değerleri.....	44
Çizelge 4.5. Yaban mersininden üretilen (ultrasonikasyon uygulanmış) meyve pulplarında ortalama flavanoid değerleri (mg/L).....	46
Çizelge 4.6. Central Composite Rotable Dizaynı için seviyeler.....	48
Çizelge 4.7. İki faktörlü Central Composite Rotatable Dizayn için Deneme Planı... 48	
Çizelge 4.8. Yaban mersini pulpunun Central Composite Rotatable Dizayn için deneme planı ve elde edilen sonuçlar.....	49
Çizelge 4.9. Yaban mersini pulpunun Yanıtlar üzerine lineer, quadretik ve interaksiyonlarının etkisini gösteren ANOVA sonuçları (1).....	50
Çizelge 4.10. Yaban mersini pulpunun Yanıtlar üzerine lineer, quadretik ve interaksiyonlarının etkisini gösteren ANOVA sonuçları (2).....	50
Çizelge 4.11. Yaban mersini pulpunun Model Uygunluğu istatistikleri .....	51
Çizelge 4.12. Farklı oranlarda yaban mersini pulpu ilave edilerek üretilen meyveli kefirlerde depolamanın 1. gününde belirlenen ortalama kuru madde miktarları. ....	53
Çizelge 4.13. Farklı oranlarda yaban mersini pulpu ilave edilerek üretilen meyveli kefirlerde depolama süresince belirlenen pH değeri ortalamaları .....	54
Çizelge 4.14. Farklı oranlarda yaban mersini pulpu ilave edilerek üretilen meyveli kefirlerde depolama süresince belirlenen titrasyon asitliği ortalamaları .....	55
Çizelge 4.15. Farklı oranlarda yaban mersini pulpu ilave edilerek üretilen meyveli kefirlerde depolama süresince görünüm puanı ortalamaları .....	56
Çizelge 4.16. Farklı oranlarda yaban mersini pulpu ilave edilerek üretilen meyveli kefirlerde depolama süresince yapı puanı ortalamaları .....	57

<b>Çizelge 4.17.</b> Farklı oranlarda yaban mersini pulpu ilave edilerek üretilen meyveli kefirlerde depolama süresince tat-lezzet puanı ortalamaları .....	58
<b>Çizelge 4.18.</b> Farklı oranlarda yaban mersini pulpu ilave edilerek üretilen meyveli kefirlerde depolama süresince koku puanı ortalamaları .....	60
<b>Çizelge 4.19.</b> Farklı oranlarda yaban mersini pulpu ilave edilerek üretilen meyveli kefirlerde depolama süresince genel kabuledilebilirlik puanı ortalamaları .....	61
<b>Çizelge 4.20.</b> Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolamanın 1. gününde kuru madde miktarı (%) ortalamaları .....	63
<b>Çizelge 4.21.</b> Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolama süresince pH değerleri ortalamaları .....	64
<b>Çizelge 4.22.</b> Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolama süresince % titrasyon asitliği değerleri .....	64
<b>Çizelge 4.23.</b> Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolama süresince lactobacilli sayıları (log kob/mL).....	66
<b>Çizelge 4.24.</b> Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolama süresince leuconostoc sayıları (log kob/mL).....	68
<b>Çizelge 4.25.</b> Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolama süresince lactococci sayıları (log kob/mL) .....	70
<b>Çizelge 4.26.</b> Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolama süresince maya sayıları (log kob/mL).....	71

## ŞEKİLLER LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 1.1. Fonksiyonel gıda sektöründe gıda ürünlerinin dağılımları.....	1
Şekil 2.1. Flavonoidlerin kimyasal yapıları .....	11
Şekil 2.2. Başlıca flavonlar ve flavonolların kimyasal yapıları .....	13
Şekil 2.3. Yaban mersini ( <i>Vaccinium myrtillus</i> L.) .....	18
Şekil 2.4. Kavitasyon olayı .....	21
Şekil 3.1. Meyveli kefir üretim aşamaları.....	36
Şekil 3.2. Meyveli kefir duyusal değerlendirme formu .....	38
Şekil 4.1. Cyanidin standardı HPLC kromotogramı.....	45
Şekil 4.2. Malvidin standardı HPLC kromotogramı .....	45
Şekil 4.3. Bazı flavonoidlerin HPLC kromotogramları .....	47
Şekil 4.4. Quercetin hidrat standardının HPLC kromotogramı .....	47
Şekil 4.5. Yaban mersini pulpu toplam fenol değerleri için yanıt yüzey grafiği .....	52
Şekil 4.6. Yaban mersini pulpu antioksidatif kapasite değerleri için yanıt yüzey grafiği .....	52
Şekil 4.7 Yaban mersini pulpu ilave edilen kefirlerin depolama süresince görünüm puanları değişimi.....	56
Şekil 4.8. Yaban mersini pulpu ilave edilen kefirlerde depolama süresince yapı puanları değişimi.....	58
Şekil 4.9. Yaban mersini pulpu ilave edilen kefirlerde depolama süresince tat-lezzet puanları değişimi.....	59
Şekil 4.10. Yaban mersini pulpu ilave edilen kefirlerde depolama süresince koku puanları değişimi.....	60
Şekil 4.11. Yaban mersini pulpu ilave edilen kefirlerde depolama süresince genel kabuledilebilirlik puanları değişimi .....	62
Şekil 4.12. Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolama süresince lactobacilli sayılarının değişimi.....	67
Şekil 4.13. Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolama süresince leuconostoc sayılarının değişimi .....	68
Şekil 4.14. Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolama süresince lactococci sayılarının değişimi .....	70
Şekil 4.15. Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolama süresince maya sayılarının değişimi .....	71



## **KISALTMALAR**

<b>X<sub>1</sub></b>	: Süre
<b>X<sub>2</sub></b>	: Titreşim genliği
<b>v/v</b>	: Hacim/hacim
<b>adj-R<sup>2</sup></b>	: Düzeltilmiş Regresyon Katsayısı
<b>ANOVA</b>	: Varyans analizi
<b>DPPH</b>	: 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil
<b>FRAP</b>	: Demir iyonlarını indirgeme Antioksidan Kapasitesi
<b>GAE</b>	: Gallik asit eşdeğeri
<b>TE</b>	: Troloks eş değeri
<b>HPLC</b>	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
<b>PRESS</b>	: Tahminlenmiş Kalıntı Hata Kareler Toplamı
<b>Pred- R<sup>2</sup></b>	: Tahminlenmiş Regresyon Katsayısı
<b>R<sup>2</sup></b>	: Regresyon Katsayısı
<b>TPTZ</b>	: Tripyridyl Triazine
<b>YMP</b>	: Yaban mersini pulpu
<b>DUYMP</b>	: Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu
<b>YUYMP</b>	: Yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu
<b>TGK</b>	: Türk Gıda Kodeksi



# ULTRASONİK YÖNTEMLERLE EKSTRAKTE EDİLEN YABAN MERSİNİNİN BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİ VE KEFİR ÜRETİMİNDE KULLANIMI

## ÖZET

Bu tez çalışmasında, yaban mersini pulplarına düşük ve yüksek yoğunluklu (20 ve 35 kHz) ultrasonikasyon teknolojisi uygulanmış, meyve pulpları katılarak yapılan kefirlerin duyuusal, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikler incelenmiştir.

Toplam fenolik madde miktarı, FRAP ve EC<sub>50</sub> değerleri dikkate alınarak, ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulplarında ekstraksiyon koşulları yanıt yüzey yöntemiyle optimize edilmiştir. Ekstraksiyon koşulları için optimum nokta %80 titreşim genliği ve 20 dakika tespit edilmiştir. Düşük ve yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanan pulpların cyanidin miktarları 2.81-3.41 mg/L, malvidin miktarları 26.21-28.11 mg/L arasında değişim göstermiştir. Uygulanan tekniklerin, gallokateşin hariç bazı kateşin türlerine etkisi önemli bulunmuştur. Pulpların epigallokateşin , kateşin, epikateşin miktarları sırasıyla 111.08-132.56 mg/L, 83.63-151.98 mg/L, 10.82-26.03 mg/L olarak tespit edilmiştir. Optimum koşullarda düşük ve yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon teknikleri ile üretilen pulpların sırasıyla; toplam fenolik miktarı 6638.88 ve 8166.66 mg GAE/L, antioksidatif kapasite ölçüsü olarak FRAP değeri 17.04 ve 17.96 mg TE/g ve EC<sub>50</sub> değeri 1.57 ve 1.88 mg TE/mL olarak saptanmıştır.

Meyveli kefirlerde yapılan duyuusal analizler sonucunda, panelistler en çok %30 meyve pulpu ilave edilen örnekleri beğenmişlerdir. Optimize edilen %30 pulp ilaveli kefirlerin lactobacilli, leuconostoc, lactococci, maya sayıları sırasıyla ortalama 8.32, 6.80, 8.93 ve 3.80 log kob/mL olarak tespit edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Yaban mersini, kefir, ultrasonikasyon, antioksidatif kapasite



## **BIOACTIVE PROPERTIES BLUEBERRY EXTRACTED WITH ULTRASONIC METHODS AND USAGE IN KEFIR MANUFACTURE**

### **ABSTRACT**

In this thesis, low and high intensity (20 and 35 kHz) ultrasonication technologies were applied to blueberry pulps and sensorial, microbiological and chemical properties of kefir added blueberry pulps were examined.

Extraction conditions were optimized with response surface methodology. Total phenolic quantity, FRAP and EC<sub>50</sub> values were chosen as response parameters. Optimum point for extraction conditions was determined as 80% amplitude and 20 min. Cyanidin quantities of pulps treated low and high intensity ultrasonication ranged from 2.81 to 3.41 mg/L and malvidin quantities of them varied between 26.21-28.11 mg/L. Applied techniques were found to have significant effects on certain types of catechin excluding gallic acid. Epigallocatechin, catechin, epicatechin quantities of pulps were respectively detected 111.08-132.56 mg/L, 83.63-151.98 mg/L, 10.82-26.03 mg/L. At optimum conditions, total phenolic content of pulps produced by techniques of low and high intensity ultrasonication techniques were found 6638.88 and 8166.66 mg GAE/L, respectively. As a measure of antioxidative capacity FRAP and EC<sub>50</sub> values of them were determined as (17.04 and 17.96 mg TE/g), (1.57 ve 1.88 mg TE/mL) respectively.

As a result of sensory analysis in fruit kefir, panelists preferred samples of kefir added 30% fruit pulp. The average lactobacilli, leuconostoc, lactococci, yeast counts of kefir with 30% pulp addition were detected 8.32 log kob/mL, 6.8 log kob/mL, 8.93 log kob/mL, 3.8 log kob/mL, respectively.

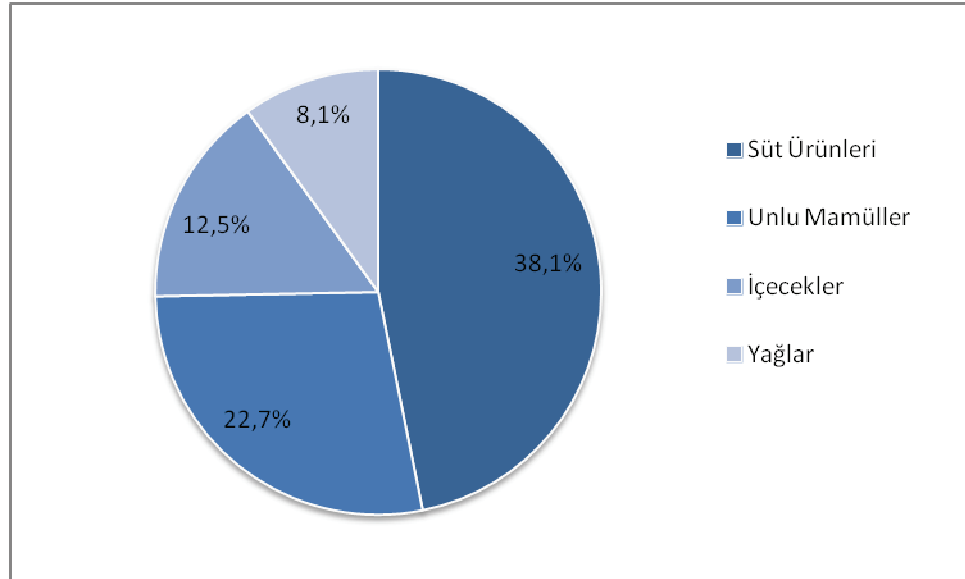
**Key words:** Blueberry, kefir, ultrasonication, antioxidative capacity



## 1. GİRİŞ

Bir gıda ürününün, beslenmeye yönelik uygun niteliklerinin yanı sıra, vücudun bir ya da daha fazla hedef işlevini daha sağlıklı ve iyi duruma getirmek ve/veya hastalık riskini azaltmak yoluyla yararlı yönde etkilediği ikna edici bir şekilde ortaya koyulabilirse, o gıda ürünü fonksiyonel olarak nitelendirilebilir (ILSI, Europe International Life Sciences Institute-Uluslar arası Yaşam Bilimleri Enstitüsü).

Leatherhead gıda araştırma firmasının 2011 yılı raporuna göre, fonksiyonel gıda olarak piyasaya sürülen yeni ürünlerde yıllık yaklaşık %28 oranında bir büyüme söz konusudur. Türkiye’de fonksiyonel gıda pazarı henüz gelişim aşamasında. Türkiye’nin pazardan aldığı payın yaklaşık 500 milyon \$ düzeyinde olduğu tahmin ediliyor. Kalorisi düşük ürünlerle başlayan sağlıklı beslenme eğilimi, piyasaya sürülen probiyotik yoğurt, prebiyotik süt, özellikle çocuklar için hazırlanmış kalsiyum açısından zengin bisküvi, meyveli yoğurt vs. ile hızla fonksiyonel gıdalara doğru eğilim gösteriyor. Leatherhead’in raporuna göre, %38.1 ile süt ürünleri, fonksiyonel gıdalar sektöründe en çok tercih edilen ürünlerdir. Süt ürünlerini % 22.7 ile unlu mamuller, %12.5 ile içecekler ve %8.1 ile yağlar takip etmektedir (Şekil 1.1).



**Şekil 1.1.** Fonksiyonel gıda sektöründe gıda ürünlerinin dağılımları

Meyve ve sebzelerde bulunan fonksiyonel bileşik olarak da ifade edilen maddeler fonksiyonel gıdalara artan eğilimle gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Bunlardan fenolik bileşikler, antosiyaninler ve antioksidan maddeler doğal ürünlerde fazla miktarda bulunması ile dikkat çekmektedir.

Bütün bitki metabolizmalarında, sekonder metabolit olarak bulunan ve bitkilerin kendilerini bazı zararlılara karşı korumada rolleri olduğu sanılan çok sayıda farklı nitelik ve miktarlarda çeşitli fenolik bileşikler bulunmaktadır (Saldamlı, 2007).

Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Flavonoidler, bitkisel çayların, meyve ve sebzelerin doğal yapılarında bulunan polifenolik antioksidanlardır. Fenolik bileşiklerin bir kısmı meyve ve sebzelerin lezzetinin oluşmasında, özellikle ağızda acılık ve burukluk gibi iki önemli tat unsurunun oluşmasında etkilidirler. Bir kısmı ise meyve ve sebzelerin sarı, sarı-esmer, kırmızı-mavi tonlardaki renklerinin oluşmasını sağlamaktadırlar. Meyve ve sebzelerin işlenmelerinde enzimatik esmerleşme gibi değişik sorunlara da neden olmaktadır. Bu özellikler meyve ve sebzeler ile bunlardan elde edilen ürünler için son derece önemlidir (Anonim, 2006; Cemeroğlu, 2004; Güngör, 2007; Zor, 2007).

Meyveler, özellikle içerdikleri fenolik bileşiklerin antioksidatif ve antimikrobiyal etkilerine bağlı olarak sağlık üzerine olumlu etkilerinden dolayı fonksiyonel gıda olarak değerlendirilmektedir (Pehlivan ve Güteryüz, 2004). Fenolik bileşiklere, beslenme fizyolojisi açısından olumlu etkileri nedeniyle "biyo flavonoid" adı da verilmektedir. Bazı kaynaklarda P faktörü (permeabilite faktörü) veya P vitamini olarak da adlandırılmaktadırlar (Cemeroğlu, 2004; Saldamlı, 2007).

Gün geçtikçe insan sağlığına olan fayda ve ürünlere verdikleri aromalardan dolayı doğal ürünlere olan talep artmaktadır. Son zamanlarda önem kazanan yaban mersini (likapa), (*Vaccinium myrtillus* L.) bu doğal ürünlerden bir tanesidir. Yaban mersininin insan sağlığı ve beslenmesi üzerine yararları ile ilgili araştırma makaleleri yayınlanmıştır. Melatonince zengin bir meyve olan likapanın antioksidan miktarı da oldukça yüksektir.

Yaban mersini (*Vaccinium myrtillus* L.), sağlık açısından oldukça yararlı bir meyve olduğu kadar birim alandan diğer tüm meyve türlerine göre çok daha yüksek gelir getiren bir üzümü meyvedir. Türkiye'nin nemli ve yağmurlu iklimi, asitli ve organik maddece zengin meyilli toprakları ile Karadeniz Bölgesi *Vaccinium myrtillus* L. yetiştiriciliği için idealdir.

Yapılan araştırmalarda bir bardak yaban mersini meyvesinin 145 gram geldiği ve 21 gram karbonhidrat, 1 gram protein, 0.5 gram yağ, 19 miligram C-vitamini, 145 IU Avitaminive 85 kalori içerdiği belirtilmektedir. Ayrıca, 100 gram yenilebilir yaban mersininin (*Vaccinium myrtillus* L.) %83'ünün su, %0.7'sinin protein, %0.5'inin yağ, %15'inin karbonhidrat, %1.5'unun lif olduğu ve 62 kalori sağladığı saptanmıştır (Aliyev, 2006).

Antioksidan madde içeriği en yüksek meyvelerden biri olan yaban mersini sağlık ve gıdasal olarak çok farklı amaçlar için kullanılabilir. İdrar yolu enfeksiyonlarında antibiyotik gibi işlev görmektedir. Kansere karşı vücudu koruyan enzimleri çalıştırdığı, damarlarda yağ birikimini engelleme özelliğinde olduğu, yağlı bileşiklerin vücuttan atılmasını sağladığı belirtilmektedir. Taze olarak yenildiğinde kanı temizlediği ve buna rağmen kalori ve sodyum içeriğinin oldukça düşük olduğu ifade edilmektedir. Kan şekerini ve kolesterolü düşürdüğü, bağırsak metabolizmasını düzenlediği, damar sertliği oluşumunu engellediği tespit edilmiştir. Kansere karşı savaş anelajik asit miktarı en fazla olan meyvelerden biridir (elik, 2005). Ayrıca özellikle beyin fonksiyonları üzerine önemli derecede olumsuz etkiye sahip olan Alzheimer hastalığının oluşumunun önlenmesi üzerine önemli derecede etkili olduğu belirtilmektedir (elik, 2006). Üstelik kılcal damarların tıkanmasına neden olan düşük yoğunluktaki yağlı bileşiklerin vücuttan atılması üzerine de etkisi olduğu araştırmalarla saptanmıştır. Taze olarak tüketildiğinde kanı temizler. İnsanda iç verimliliğini arttırır.

Ultrasonikasyon, hücre duvarlarını mekanik olarak parçalayan ve materyal aktarımı sağlayan bir uygulamadır. Hücre duvarının yıkılmasıyla hücre içindeki sıvı ekstrakt hücre dışına kolayca çıkabilmektedir. Ultrasonikasyon uygulamasıyla hücre duvarı ortadan kalktığından, bu yöntemle yapılan ekstraksiyon işlemi diğer ekstraksiyon yöntemlerine göre daha hızlı gerçekleşebilmektedir. Ultrasonik uygulama işlemi ile partikül çapının azalması sonucunda katı ve sıvı kısımlar arasındaki yüzey alanı artmaktadır. Ultrasonikasyonun mekanik aktivitesi, solventin dokulara doğru olan dağılımını hızlandırmaktadır. Mekanik olarak hücre duvarı yıkıldığından hücre içi bileşen, zcc solvente kolayca geçebilmektedir (Bayraktaroğlu ve Obuz, 2006).

Ultrasonikasyon etkisiyle hücre duvarları hasar görerek doku içindeki ekstrakte edilebilir bileşenlerin ortaya çıkması kolaylaşmaktadır. zcc fazına bu maddelerin kütle transferi ile aktarımı artmaktadır (Vinatoru, 2001). Bu nedenle ultrasonikasyon

destekli ekstraksiyon gelecekteki uygulamalar için önemli potansiyele sahiptir (Li ve diğ., 2004; Vinatoru, 2001; Wu ve diğ., 2001). Ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon sistemi ucuz, basit ve verimli olması nedeniyle geleneksel ekstraksiyon tekniklerine iyi bir alternatiftir.

Son yıllarda araştırmacılar, üreticiler ve tüketiciler probiyotik ve prebiyotik ürünlere yönelmiştir. Kefir içeceği de bu ürünlerden biri olup inek, koyun, keçi ve kısrak sütüne, karnabahar benzeri kefir granülleri ilave edilerek elde edilen etil alkol ve laktik asit fermantasyonlarının bir arada olduğu hafif asidik karakterde, ferahlık veren fermente bir süt ürünü olarak tanımlanmaktadır (Alptekin, 1997; Özsoy, 1998).

Kefirde oluşan laktik asit, asetik asit, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gibi antibakteriyel maddeler ve ayrıca antibiyotikler *E.coli*, *Salmonella* gibi patojen bakterilere antibakteriyel etki yapmaktadır. Laktik asidin ortam pH'sını düşürerek diğer bakterilerin gelişmesi için uygun olmayan ortam, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin bağırsak patojenlerine karşı antigonistik etki yarattığı ve asetik asidin de antibakteriyel etki gösterebildiği belirtilmiştir. Patojen mikroorganizmaların gelişmesini inhibe ederek bunların mide ve bağırsak rahatsızlıklarına karşı koruyucu ve tedavi edici oldukları görülmüştür. Diyare ve sindirim bozuklukları ile bağırsak florasının dengesinin bozulduğu durumlarda olumlu sonuçlar gösterdiği, mide bağırsak iltihabı, diyare, deri enfeksiyonları, ağızda uçuk ve aftın tedavisinde kullanılabilmesi bildirilmiştir (Özer ve diğ., 2000).

Dünyada özellikle Türk Cumhuriyetleri, Rusya, Avrupa Ülkeleri ve ABD'de sanayi ölçekli kefir üretimi yapılmaktadır. Bu ürünlere olan talep son 30 yıldır artarak devam etmektedir. Türkiyede 1980'li yılların ortasında ilk kez ambalajlı kefir üretimi yapılmıştır. Kısa süren bu üretimin ardından ülkemizde kefir üretimi inişli çıkışlı bir seyir izlemiştir. 2005 yılında %59 üretim artışı olmuştur. 2009 yılına kadar istikrarlı bir seyir izlemesine rağmen sonraki yıllarda pazar kaybına uğramıştır. Günümüzde değişik hacimlerde ve değişik tatlarda (sade, light, meyveli vs.) kefir üretimi yapılmaktadır (Karagözlü ve Dumanoglu, 2011).

Kimyasalların ve katkı maddelerinin gelişen teknolojiyle günlük yaşantımızda eskiye nazaran daha fazla yer alması bunun etkisiyle oluşan yan etkilerin artması, insanlarda meydana gelen hastalıklarının çeşitlenmesi ve yaygınlaşması tüketicileri doğal ve fonksiyonel ürünleri tüketmeye yönlendirmiştir.

Bu çalışmanın amacı; ultrasonikasyon teknolojisi uygulayarak yaban mersini meyvesinin fenolik bileşik salınımını artırmak, elde edilen yaban mersini pulpunu farklı oranlarda kefire katarak yapılan meyveli kefirlerin duyusal, kimyasal ve

mikrobiyolojik özelliklerini incelemektir. Değerli bileşenler içeren yaban mersini ile probiyotik kefirli birleştiren yeni ve fonksiyonel bir ürün geliştirmek, tüketicilerin tercih edebilecekleri ve raf ömrü çalışmalarına destek sağlamak için uygun işlem parametrelerini optimize etmek, ultrasound teknolojisinin meyvelerin ekstraksiyonunda etkinliğini ortaya çıkarılması çalışmalarına katkı sağlamak gibi hedeflere tez kapsamında yer verilmiştir.



## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

### 2.1. Antioksidan Maddeler

Antioksidan, bir başka molekülün oksidasyonunu yavaşlatabilen veya önleyebilen bir molekül olarak tanımlanabilir (Moon ve Shibamoto, 2009). Yani Antioksidantlar, insan vücudunda metabolizma ürünleri sonrası ortaya çıkan, kısa ömürlü fakat olumsuz etkisi fazla olan “serbest radikaller” diye adlandırılan molekülleri etkisiz hale getirirler (nötralize ederler). Serbest radikaller, vücut hücrelerine zarar verir, bağışıklık sistemini zayıflatırlar. Serbest radikaller fazla miktarda ise, hücre çekirdeği düzeyinde zarar oluşturup, bazı enzimlerin aktivasyonu sonucu kanserin nedeni olan tümör oluşumlarına sebep olabilirler. Kanser oluşumu sırasında bedendeki serbest radikallerin sebep olduğu oksidatif zararı önlemede antioksidantlar en önemli görevi üstlenir.

Antioksidanlar başlıca dört yolla oksidanları etkisiz hale getirirler;

1. Süpürme etkisi (Scavenging): Oksidanları daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirir. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller bu yolla etki eder.
2. Söndürme etkisi (Quenching): Oksidanlara bir hidrojen aktararak inaktive etmesine denir. Vitaminler, flavanoidler, timetazidin ve mannitol bu sekide etki eder.
3. Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi (Chain Breaking): Hemoglobin, serüloplazmin ve ağır mineraller oksidanları kendilerine bağlar ve inaktive eder.
4. Onarma etkisi (Repair): Oksidatif hasar görmüş biyomolekülü onarırlar (Gökpınar ve diğ. 2006).

Doğal olarak antioksidant eldesinin kanseri inhibe edici, yaşlanmayı geciktirici ya da önleyici yararlı etkileri vardır (Fusco ve diğ., 2008; Nishino ve diğ., 2005). En önemli bitkisel anrioksidantlar flavanoidler,polifenoller, karotenoidler ve vitamin A,B,C ve E (tokoferoller) (Karakaya ve Kavas, 1999).

Konuyla ilgili yapılan çalışmalarda, antioksidan yapıların etki mekanizmaları ile birçok hastalığı önleyebildiği belirlenmiştir. Son zamanlarda araştırmacılar doğal antioksidan olarak değerlendirebileceğimiz, bitkilerde bulunan polifenoller ve flavonoidlere daha çok ilgi göstermektedirler (Frankel ve Finley, 2008; Moon ve Shibamoto, 2009). Özellikle yüksek miktarda antosiyanin içeren meyvelerin antioksidant kapasitelerinin çok yüksek değerlerde olduğu bulunmuştur (Özgen ve diğ., 2005)

Bu bileşiklerin miktarları gıda kaynağına bağlı olarak değişmektedir. Ayrıca işleme, depolama ve pişirme işlemleri bu bileşiklerde değerime sebep olabilir (Kalt, 2005).

## **2.2. Fenolik Bileşikler**

Benzen halkası içeren organik maddeler genel olarak fenolik bileşikler olarak adlandırılmakta olup bunlar bitkiler aleminde bulunan ikincil metabolitlerdir. Kimyasal açıdan flavonoid olmayanlar (hidroksisinnamik, hidroksibenzoik asit ve türevleri, fenolik alkoller) ve flavonoidler (antosiyaninler, flavon-3-ol monomerleri ve polimerleri, flavonoller ve proantosiyanidinler) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Benzoik asitlerin esterleşmesi sonucu olusan hidrolize olabilen tanenler ve proantosiyanidinler (kondense tanenler), tanenler kategorisinde değerlendirilebilir (Ribéreau-Gayon ve diğ., 2000).

Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Flavonoidler, bitkisel çayların, meyve ve sebzelerin doğal yapılarında bulunan polifenolik antioksidanlardır. Fenolik bileşiklerin bir kısmı meyve ve sebzelerin lezzetinin oluşmasında, özellikle ağızda acılık ve burukluk gibi iki önemli tat unsurunun oluşmasında etkilidirler. Bir kısmı ise meyve ve sebzelerin sarı, sarı-esmer, kırmızı-mavi tonlardaki renklerinin oluşmasını sağlamaktadırlar. Meyve ve sebzelerin işlenmelerinde enzimatik esmerleşme gibi değerik sorunlara da neden olmaktadır. Bu özellikler meyve ve sebzeler ile bunlardan elde edilen ürünler için son derece önemlidir (Anonim, 2006; Cemeroğlu, 2004; Güngör, 2007; Zor, 2007).

### 2.2.1. Fenolik asitler

Fenolik asitler sinamik asitler (hidroksisinamik asitler) ve benzoik asitler (hidroksibenzoik asitler) olmak üzere iki gruptan oluşmaktadır.

Fenolik asitler, genel olarak serbest halde bulunmamaktadır. Karboksil grupları karbonhidratlar, glikozitler, aminoasitler veya proteinlerle reaksiyona girebilmekte ve alkollerle fenol esterler, amino bileşikleri ile de amidleri oluşturmaktadırlar. Fenolik asitlerin, fenolik hidroksil grupları da çok aktif olup, şekerlerle bileşerek glikozitleri oluşturmaktadırlar (Acar, 1998; Maier ve diğ., 1999).

#### 2.2.1.1. Hidroksibenzoik asitler

Hidroksibenzoik asitler C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> fenilpropan yapısına sahip ve renksiz bileşiklerdir (Cemeroğlu ve diğ., 2001; Maier ve diğ., 1990). Benzoik asit türevleri sinamik asit türevlerine göre çok daha az miktarda bulunmaktadırlar veya hiç bulunmazlar (Cemeroğlu ve diğ., 2001; Herrmann, 1992; Acar, 1998). Hidroksibenzoik asitler bağlı durumda bulunurlar. Bunlar, lignin ve hidrolize edilebilir tanen gibi karmaşık yapıların bileşenidirler. Hidroksibenzoik asitler ayrıca organik asit ya da şeker türevi halinde de bulunabilirler (Schuster ve Herrman, 1985). Çizelge 2.1'de bazı meyvelerdeki hidroksibenzoik asit varlığı verilmiştir.

**Çizelge 2.1.** Hidroksibenzoik asitin meyvedeki varlığı

Bileşik	Çilek	Üzüm	Portakal	Greyfurt	Limon
Salisilik asit	+	+	+	+	+
p-hidroksibenzoik asit	+	+	-	-	-
Gentisik asit	+	-	+	+	+
Gallik asit	+	-	-	-	-
Ellagik asit	+	-	-	-	-
Protokatesuik asit	+	-	-	-	-
Vanillik asit	+	-	-	-	-

Değinildiği gibi bitki kaynaklı gıdalar çoğunlukla az miktarda hidrobenzoik asit içerirler. Ancak hidrobenzoik asit özellikle; protokatesuik asit, p-hidroksibenzoik asit ve gallik asiti oldukça yüksek miktarlarda içeren soğan (Scmidtlein ve Herrmann, 1975a) ve yaban turpu sebzelerinde (Scmidtlein ve Herrmann, 1975b) ve böğürtlen, ahududu (Mosel ve Herrmann, 1974), siyah frenk üzümü, kırmızı frenk üzümü (Stohr ve Herrmann, 1975a), çilek (Stohr ve Herrmann, 1975b) meyvelerinde yüksek oranlarda bulunabilmektedir.

### 2.2.1.2. Hidroksisinamik asit ve türevleri

Hidroksisinamik asitler C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> fenilpropan yapısında bileşiklerdir ve fenilpropan halkasına bağlanan hidroksil grubunun konumu ve sayısına göre farklı özellik gösterirler. Meyve ve sebzelerde en yaygın bulunan hidroksisinamik asitler kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit ve sinapik asittir (Maier ve diğ., 1990; Rommel ve Wrolstad 1993a; Acar 1998; Belitz ve Grosch 1999; Cemeroğlu ve diğ., 2001). Birçok meyvede kafeik asit en baskın hidroksisinamik asittir ve erik, elma, kayısı, yaban mersini ve domateste bulunan toplam hidroksisinamik asitin %75'ini oluşturmaktadır. Sitrus meyveleri ve ananasta ise baskın hidroksisinamik asit, p-kumarik asittir (Macheix ve diğ., 1990; Shahidi ve Naczki, 1995). Bazı üzümü meyvelerin içerdiği hidroksisinamik asit türevleri Çizelge 2.2'de görülmektedir.

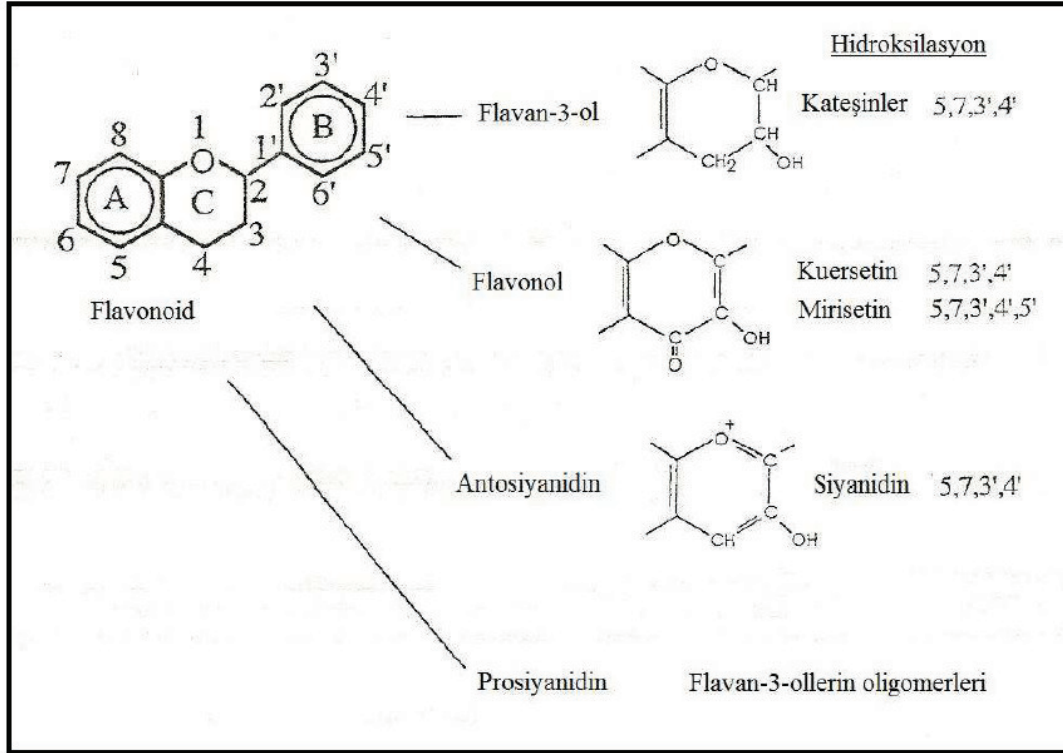
**Çizelge 2.2.** Üzümü meyvelerdeki hidroksisinamik asit türevleri

BİLEŞİK (mg/kg yaş ağırlık)	Çilek	Ahududu	Böğürtlen	Kırmızı kuş üzümü	Bektaş üzümü	Yaban mersini
Kafeoilkuinik asit	–	1	45-53	1	3	1860-2080
p-Kumaroilkuinik asit	–	1	2-5	+	1	2-5
Feruloilkuinik asit	–	+	2-4	2	1	8
Kafeoilglukoz	1	3-7	3-6	2-5	5-13	+
p-Kumaroilglukoz	14-17	6-14	4-11	1	7	+
Feruloilglukoz	1	7-7	2-6	+	1-6	+
Kafeikasit-4-O- glukozit	–	–	–	2	2	3
p-Kumarikasit- Oglukozit	+	5-10	2-5	5-16	6-8	3-15
Ferulikasit-O- glukozit	+	+	–	–	2-7	8-10

### 2.2.2. Flavonoidler

Flavonoidler, bitkilerin ikincil metabolitlerinin önemli bir sınıfıdır. Bitki fenollerinin en yaygın ve en fazla sayıda bulunan sınıfıdır (King ve Young, 1999). Flavonoidlerin karbon iskeletini iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesinden oluşan ve 15 karbon atomu içeren difenilpropan (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) yapısı oluşturur. Difenilpropan iskeleti içeren doğal bileşikler, fenil gruplarının propan zincirine bağlanma pozisyonlarına göre flavonoid (2-fenil-1,4-benzopiron yapısından türeyen), izoflavonoid (3-fenil-1,4-benzopiron yapısından türeyen), neoflavonoid (4-fenil-1,2-benzopiron yapısından türeyen) olmak üzere üç ana grupta toplanırlar. Bu grupların

her biri de çeşitli alt sınıflara ayrılırlar (Anonymous, 2007; Bilaloğlu ve Harmandar, 1996). Flavonoidlerin kimyasal yapıları Şekil 2.1’de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Flavonoidlerin kimyasal yapıları (Frankel, 1999)

Flavonoidlerin alt gruplarından monomerik flavanollere, (kateşinler, lökoantosiyandinler), proantosiyandinler, anyosiyandinler, flavonlar, flavonoller, flavanonlar ve kalkonlara bitki kaynaklı gıdalarda sıkça rastlanmaktadır.

### 2.2.2.1. Antosiyanidinler

Antosiyanidinler doğada serbest halde bulunmamakta, herhangi bir şekerle esterleşmiş halde bulunmaktadır. Antosiyanidinlerin bu glikozitleri antosiyaninler olarak adlandırılmaktadır. Antosiyaninler meyve, sebze ve çiçeklere kendilerine özgü pembe, kırmızı, viole, mavi ve mor tonlarındaki çeşitli renklerini veren, suda çözünebilir nitelikteki doğal renk maddeleridir. Eğer kısmi hidrolizle glikozidik bağı ile bağlanmış şeker kısmı ayrılırsa geriye antosiyanidin (ağlık kısmı) kalmaktadır. Antosiyanidinlere çoğunlukla bulunuş sıklığına göre glukoz, ramnoz, galaktoz ve arabinoz şekerlerinden birisi, ikisi veya üçü birlikte ancak genelde tek şeker molekülü bağlanmaktadır. İstisnalar dışında üçüncü pozisyonundaki karbon atomuna bağlanırlar.

Antosiyanidinleri birbirinden ayıran fark; 3, 5, 6, 7, 3<sub>1</sub> ve 5<sub>1</sub> pozisyona bağlı grupların farklı olmasıdır. Bilinen 20 civarındaki antosiyaninden meyve, sebzelerde ve bunların ürünlerinde yaygın olarak 6 tane antosiyanidin bulunur (Harborne, 1967; Timberlake ve Bridle, 1976). Çizelge 2.3'te 6 antosiyanidin yapısal farkları gösterilmektedir.

**Çizelge 2.3.** Meyve ve sebzelerde yaygın bulunan antosiyanidinlerin yapısal farkları

Antosiyanidin	Bağlı olan grup ve pozisyon	
	R <sub>3</sub> <sup>1</sup>	R <sub>5</sub> <sup>1</sup>
Pelargonidin (Pg)	H	H
Syanidin (Cy)	OH	H
Peonidin (Pn)	OCH <sub>3</sub>	H
Delfinidin (Dp)	OH	OH
Petunidin (Pt)	OCH <sub>3</sub>	OH
Malvinidin (Mv)	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

Antosiyanidinlerdeki hidroksilasyonun artması mavi renge doğru değişime (pelargonidin--syandidin--delfinidin); glikozit hali ve metilasyon kırmızı renge doğru değişime (pelargonidin--pelargonidin-3-glikozit--syandidin) neden olmaktadır. Ancak antosiyanidinlerin dolayısıyla antosiyaninlerin rengi sadece kimyasal yapısına değil, bulunduğu ortamın pH derecesi, ortamdaki konsantrasyonu, ortamda kopigment bulunup bulunmadığı gibi faktörlere bağlı olarak da değişmektedir. Böylece aynı antosiyanin çeşitli bitkisel dokularda farklı renkte olabilmektedir.

Antosiyaninler gıda olarak tüketilen tahıllar, kökler ve yeşil sebzelerde bulunmasına rağmen özellikle meyvelerle ilişkilidir. Elma, armut, kayısı, şeftali, erik meyvelerinde daha çok kabuğunda yoğunlaşmaktadır. Yumuşak meyvelerde üzümü meyveler gibi, hem meyve etinde hem de kabukta bulunabilirler. Sebzelerde en önemli antosiyanin kaynakları (genellikle kırmızı) fasulye, lahana, soğan, kırmızı turp ve raventtir. Antosiyaninler meşrubat ve diğer gıda ürünlerinde renklendirici olarak da kullanılır (Peterson ve Dwyer, 1998).

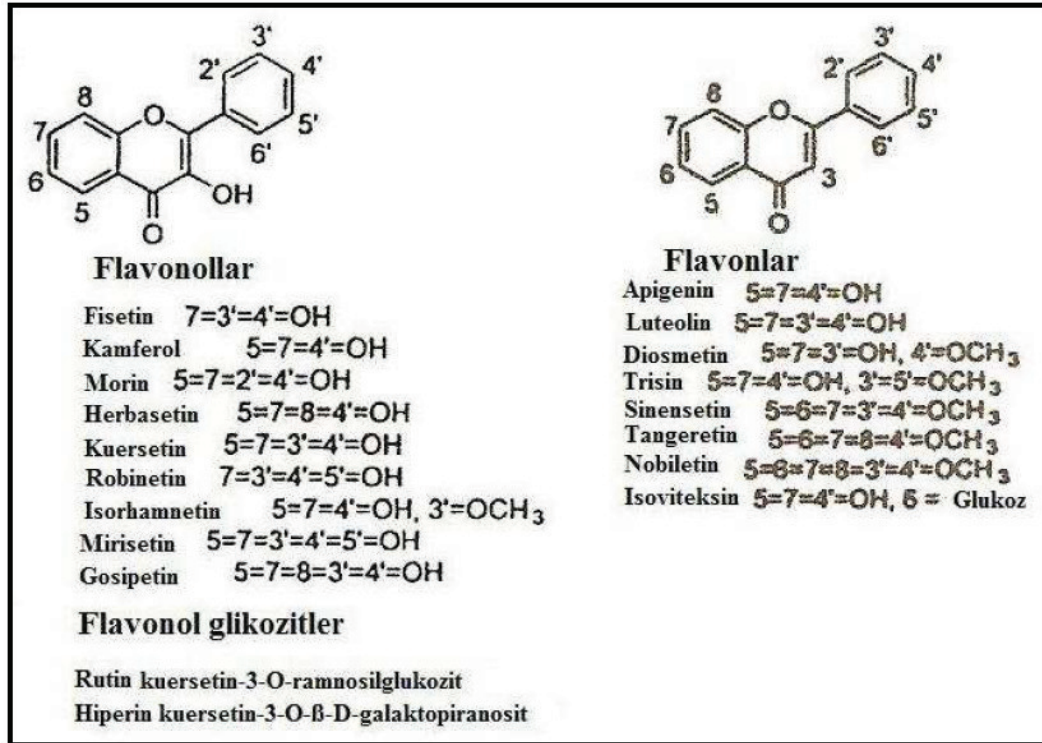
Böğürtlen, kırmızı ve siyah ahududu, frenk üzümü, kiraz ile diğer kırmızı üzümler, nar, olgun bektaşi üzümü, yaban mersininin tümü antosiyaninleri içerir (Shahidi ve Naczki, 1995). Antosiyaninler kırmızı üzümde en bol bulunan fenolik bileşiklerdir (Yi ve diğ., 1997). Elmada baskın antosiyaninin siyanidin-3-galaktosid olduğu belirlenmiştir (Spanos ve diğ., 1990). Antosiyaninler kirazda da baskın fenolik bileşiklerdir. Çekirdeği çıkarılmış kirazda toplam antosiyaninin içeriği koyu

renk ve açık renk kiraz için sırasıyla 87-297 ve 2-41 mg/100g arasında değişiklik göstermektedir.

### 2.2.2.2. Flavonlar ve flavonoller

Flavon ve flavonolların kimyasal yapı farkları, orta halkanın 3. pozisyonundaki karbon atomuna bağlı grubun değişik olmasından kaynaklanmaktadır. Buraya flavonlarda (H), flavonollarda (OH) grubu bağlanmıştır (Cemeroğlu ve diğ., 2001). Şekil 2.2’de başlıca flavonlar ve flavonolların kimyasal yapıları gösterilmiştir (Robards ve diğ., 1999).

Flavonollar 3-hidroksiflavon; flavonlar 3-deoksiflavonollar olarak da adlandırılmaktadır. Flavon ve flavonollar genellikle aglikonlar ve glikozitler olarak gıdalarda bulunurlar. Flavon ve flavonol glikozitleri hemen her bitkide bulunurlar ve açık sarı renklidirler (Acar, 1998). Flavon ve flavonol içeriği büyüme koşulları, olgunlaşma derecesi, meyvenin boyutu ve türü gibi etkenlere bağlıdır. Örneğin olgun siyah frenk üzümünde mirisetin bolca bulunurken, siyah frenk üzümünün olgunlaşmamış tanelerinde kuersetin baskındır. Diğer yandan kırmızı ve beyaz frenk üzümleri iz miktarda mirisetin içermektedir (Herrmann, 1976).



Şekil 2.2. Başlıca flavonlar ve flavonolların kimyasal yapıları

Flavonollar tüm bitkisel gıdalarda bulunmaktadır. Kuersetin (3, 4-di-OH), kamferol (4-OH) ve mirisetin (3, 4, 5-tri-OH) en yaygın üç flavonoldur. Karalahana, soğan,

elma ve çay özellikle yüksek flavonol seviyesine sahiptirler (Hertog ve diğ., 1993a, Peterson ve Dwyer, 1998). Yapraklı sebzeler ve meyveler arasında kamferol yaygın olarak bulunur. Kamferol bazı üzümelerde, baklagillerde, otlarda ve kök sebzelerde de bulunmaktadır. Fisorhamnetin (kuersetinin 3<sub>1</sub>-metileteri) soğan ve armutta bulunur. Mirisetin en yaygın üzüksü meyvelerde, mısır ve çayda bulunmaktadır (Peterson ve Dwyer, 1998). Yaygın olarak tüketilen bazı sebze, meyve ve içeceklerin flavonol ve flavon içerikleri Çizelge 2.4'te verilmiştir (Hertog ve diğ., 1993b; Hollman ve diğ., 1996).

Meyvelerde flavonol ve bunların glikozitleri ağırlıklı olarak kabukta bulunmaktadır (Peterson ve Dwyer, 1998). Flavonollar, antosiyanidinler gibi şekerlerle glikozitler halinde bağlanmış olarak bulunurlar. Bunlardan en yaygın aglikon kuersetindir.

**Çizelge 2.4.** Bazı sebze meyve ve içeceklerin flavonol ve flavon içerikleri

<b>Flavonol ve flavon içeriği</b>	<b>Gıda</b>
Düşük (<10 mg/kg veya <10 mg/L)	Lahana, ıspanak, havuç, bezelye, mantar, şeftali, çilek
Orta (<50 mg/kg veya <50 mg/L)	Portakal suyu, beyaz sarap, demli kahve marul, bakla, kırmızıbiber, domates, elma, üzüm, kiraz
Yüksek (>50 mg/kg veya 50 mg/L)	Domates suyu, kırmızı sarap, çay içecekleri, brokoli, hindiba, karalahana, Fransız fasulyesi, kereviz, soğan, yaban mersini

### 2.2.2.3. Flavanoller (kateşin ve löykoantosiyandinler)

Hidroksil gruplarıyla doymuş 3-C zincirine sahip olan flavonoidlere flavanol denmektedir ve flavan-3,4-diol'ler ile flavan-3-ol'ler bu gruba dahildir (Lea ve diğ., 1979). Kateşinler bitkiler aleminde en yaygın halde bulunan flavonoidlerdir. Renksizdirler ve çoğunlukla serbest halde bulunurlar. Kateşinler kimyasal yapıları açısından flavan 3-ol'lerdir (Cemeroğlu ve diğ., 2001). En sık bulunanları, (+)kateşin, (-)epikateşin, (+)gallokateşin, (-)epigallokateşindir (Cemeroğlu ve diğ., 2001; Maier ve diğ., 1990; Spanos ve Wrolstad, 1992; Shahidi ve Nacz, 1995).

Kateşinlerin iki asimetric karbonu ve bu nedenle de 4 muhtemel izomeri vardır; C<sub>2</sub> ve C<sub>3</sub> atomundaki hidrojen trans yapılandırmasında ise (+)kateşin ve (+)gallokateşinden, cis yapılandırmasında ise (-)epikateşin ve (-)epigallokateşinden söz edilmektedir (Spanos ve Wrolstad, 1992).

Meyvelerdeki flavan-3-ol miktarı, kırmızı frenk üzümleri için 0.50 mg/100g'dan, taze kayısılar için 24.60 mg/100g'a kadar değişmektedir. Kateşin ve epikateşin meyvelerdeki hakim flavan-3 ollerdir (Shahidi ve Naczki, 1995).

Elma çeşitleri arasında sinamik asit türevleri ve flavanoller elma korteks içeriğinin %90'ını temsil etmektedir (Amiot ve diğ., 1992). Vişne (*Prunus cerasus*) ve tatlı kiraz (*Prunus avium*)'da ortak olan bileşiklerden biri de baskın flavanol olan (-)epikateşindir (Shahzad ve Bitsch, 1996). Armutta Amiot ve diğ. (1993) tarafından en fazla bulunan fenoliklerin içinde (-)epikateşin miktarı taze ağırlıkta 5-90 mg/kg olarak tespit edilmiştir ve ayrıca (+)kateşin varlığı da bildirilmiştir. (+)kateşinin üzüm ve kabuğunda bulunan en temel flavan 3-ol olduğu belirtilmiştir (Freitas ve Glories, 1999).

Böğürtlen, ahududu ve çilek temel olarak (+)kateşin ve (-)epikateşin içerir; bazen de bu meyvelerde (+)gallokateşin de bulunur. Bu kateşinlerin konsantrasyonları, olgunlaşma ile yükselir (Rommel ve Wrolstad, 1993b).

#### **2.2.2.4. Protoantosiyaniidnler (kondense tanenler)**

Kateşinler ve löykoantosiyaniidnler atmosferik oksijen ile kolaylıkla reaksiyona girebildikleri için enzimatik ve kimyasal yolla dimerlere, oligomerlere ve polimerlere kondense olabilmektedirler ve bu yolla kateşinlerden (flavan-3-oller) ve löykoantosiyaniidnlerden (flavan-3,4-di-oller) oluşan polimerik yapılara protoantosiyaniidnler (kondense tanenler) denmektedir (Cemeroğlu ve diğ., 2001).

Kondense tanenler başlıca meyvelerde, hububatlarda ve baklagillerde bulunurlar. Kondense tanenler genellikle bitkilerin dış katmanlarında toplanmıştır. Börülcede tanen seviyesi koyu tohumlu çeşitlerde (1.774 mg/kg) açık tohumlu çeşitlere göre (141 mg/kg) daha yüksektir ve börülcenin kabuğu ayıklanıp suda 30 dk ısıtılınca tanenler kısmen uzaklaştırılmaktadır (Chang ve diğ., 1994).

Monomerik birimlerin doğrusal polimerler halinde birleştiği prosiyaniidnler ve prodelfinidnler meyvelerde en sık rastlanan kondense tanen sınıflarıdır. Baskın protoantosiyaniidn, prosiyaniidn olmasına rağmen; muz, kivi, üzüm ve yaban mersini meyvelerinde önemli miktarda prodelfinidnler bulunmaktadır (Matsuo ve Ito, 1981). Üzümlerin kabuklarında bulunan prosiyaniidnler, yaklaşık %53 dimer; %24 trimer ve %23 tetramer prosiyaniidnlerden oluşmaktadır ve bunlardan B1 hakim dimer prosiyaniidndir (Bourzeix ve diğ., 1986).

### **2.2.3. İnsan sağlığı açısından fenolik bileşiklerin önemi**

Rusznyak ve Szent-Gyorgyi, 1936 yılında iki flavanon karışımının insanlarda kılcal damar geçirgenliğini ve hassasiyetini azalttığını gözlemleyip vitamin P adını önermişlerdir. Fakat daha sonra bu bileşiklerin insan organizması için her koşulda gerekli olmadığı ve vitamin tanımını tam karşılamadıkları için bu tanımlamadan vazgeçilmiştir. Fenolik bileşikler, günümüzde zorunlu olmayan aynı zamanda besin değeri de olmayan bileşikler olarak düşünülmektedir. Ancak insan sağlığı üzerine de etkileri olduğu bilinmektedir (Yıldız ve Baysal, 2003).

Fenolik maddelerin bağırsak mukozasını etkileyerek gastrointestinal mukozada hasara neden olan bazı katyonların salgılanmasını bozduğu, sindirim sistemlerinin hemen hepsini inhibe ettiği, demir ve B<sub>12</sub> vitamin absorpsiyonunu azalttığı, fungus, bakteri ve virüsleri inhibe ettiği bilinmektedir.

Fenolik maddelerin sağlıkla ilişkisi incelendiğinde toplam fenolik madde miktarı veya flavonol, flavon gibi alt grupların miktarından çok bu maddelerin türevleri ve her birinin önemli olduğu belirtilmiştir. Flavonoidlerin sağlık üzerine etkileri Çizelge 2.5'te görülmektedir (Cemeroğlu ve Cemeroğlu, 1998).

**Çizelge 2.5.** Flavonoidlerin sağlık üzerine etkileri (Cemeroğlu ve Cemeroğlu, 1998)

İnflamatuar cevaba ve immün sisteme etkileri:	Lenfositlerin, özellikle de sitotoksik lenfositlerin, stimülasyonunu önler. Makrofajların fonksiyonlarını önler. Nötrofillerin fonksiyonunu inhibe eder. Trombosit agregasyonunu (kümeleşmesini) önler.
Kanser hücrelerine etkileri:	Antikarsinojenik aktive; enzim induksiyonu ve karsinojenle DNA arasındaki ilişkiyi önlemek yolu ile antikarsinojenik etki gösterir. Antitumor promotör aktivitesi sonucu tümör oluşumunu önler. Hormona bağlı hücre proliferasyonunu (hızlı çoğalmasını) önler. Antiproliferatif aktivitesi ile tümör hücresi proliferasyonunu önler. Hücre diferansiasyonunu (farklılaşmasını) düzenleyerek, tümör hücresinin diferensiyasyonu olmasını sağlar. “Multidrug resistansı” genini inhibe ederek tümör hücrelerinin kemoterapiye direncini önler.
Antimikrobiyal:	Fungus bakteri ve virüsleri inhibe eder.
Antioksidan etki:	Serbest radikalleri detoksifiye eder.
Bağırsak mukozasına etki:	Gastrointestinal mukozada hasara neden olarak bazı katyonların sekresyonunu (salgılanmasını) bozar.

### 2.3 Yaban Mersini ve Kimyasal Bileşimi

Yaban mersini, Karadeniz Bölgesi'nin doğu kesimi başta olmak üzere yöresel olarak çok farklı isimlerle anılan üzüksü bir meyvedir (Şekil 2.3). Son yıllarda Karadeniz Bölgesi'ndeki doğal asitli topraklar da mükemmel performans gösteren ve kaliteli ürün veren *V.myrtillus* çeşitleri kullanılarak üretim alanları hızla artmaktadır. *V. myrtillus* asitli ve organik maddece zengin topraklara sahip ılıman iklim kuşağında yetişebilen üzüksü meyvedir. Türkiye'de 40-42 °C kuzey enlemleri arasında kalan büyük kısmını Karadeniz Bölgesi'nin kapladığı alandaki nispeten yüksek rakımlı, asitli ve organik maddece zengin topraklarda kolayca yetişebilmektedir. Mavi renkli olması ve İngilizce'de “blueberry” olarak isimlendirilmesinden dolayı maviyemiş adıyla dilimize geçmiş olan bu meyve, literatürde yaban mersini olarak bilinmektedir. Ancak yaban mersini, yabani meyve, mersin meyvesi gibi çağrışımlar yapmakta, Karadeniz Bölgesinde yabani populasyonları olan bu üzüksü meyvenin tanınmasına yeterli gelmemektedir. Bu yüzden *V. myrtillus* Rize'de likapa, yer

likapası, dal likapası, çela, ançela, kaskanaka, Artvin’de mahabak, merhauk, motsvi, morsvi; Trabzon’da lifos, ligarba, lifor; Giresun ve Ordu çevresinde çalı çileği veya dağ çileği; Ardahan’da göğen, hatta ayı üzümü ve çoban üzümü olarak tanınan bu meyveye “maviyemiş” adı verilmiştir (Eck ve diğ. 1990; Çelik, 2003; 2004; 2005; 2006 ve 2007).

Dünya üzerinde sınırlı miktarda üretimi yapılmaktadır. İstatistik verilere göre 2005 yılında 241000 ton olan dünya *V. myrtillus* üretiminde 123000 ton ile Amerika ilk sırada yer almaktadır. Kanada 81900 ton üretim ile ikinci, Polonya ise 15000 tonluk üretim ile üçüncü sırada gelmektedir. Henüz dünya istatistiklerine giremeyen Türkiye’nin *V. myrtillus* ekili alanları ancak 50 hektarı aşarken üretim henüz 25-30 ton arasındadır (Çelik, 2005).



**Şekil 2.3.** Yaban mersini (*Vaccinium myrtillus* L.)

Sağlık bakımından son derece yararlı olan yaban mersini gıda sanayi açısından da değerlendirilmesi gereken bir meyvedir. Taze meyve olarak, meyve suyu, ilaç, süt ve süt ürünleri sanayilerinde, kuru meyve teknolojisinde, meyveli ekmek, puding ve pastalarda, baharat sanayisinde, reçel, marmelat, jel ve konserve sanayisinde, çay, diyet mönülerinde kullanılmaktadır (Çelik, 2005).

Yaban mersini daha çok gıda sektöründe taze, püre edilmiş, şurup veya meyve suyu olarak düzenli bir şekilde talep edilmektedir. Aynı zamanda dondurma, süt ürünleri ve tatlılarda da tatlandırma, süsleme gibi özellikler kazandırmak amacıyla kullanılmaktadır (Çelik, 2006).

Yaban mersininin insan sağlığı ve beslenmesi üzerine yararları ile ilgili dünya çapında bilimsel dergilerde yüzlerce araştırma makalesi yayınlanmıştır (Cabrita ve diğ., 2000; Pottera ve diğ., 2006).

Yapılan araştırmalarda bir bardak yaban mersini meyvesinin 145 g geldiği ve 21 g Karbonhidrat, 1 g protein, 0.5 g yağ, 19 mg C-vitamini, 145 IU A-vitamini ve

85 kalori içerdiği belirtilmektedir. Ayrıca, 100 gram yenilebilir Yaban mersininin %83'ünün su, %0.7'sinin protein, %0.5'inin yağ, %15'inin karbonhidrat, %1.5'unun lif olduğu ve 62 kalori sağladığı saptanmıştır (Aliyev, 2006).

Yaban mersini, antioksidan madde içeriği en yüksek bahçe bitkisidir. Yaban mersini sağlık ve gıdasal olarak çok farklı amaçlar için kullanılabilir. İdrar yolu enfeksiyonlarında antibiyotik gibi işlem görmektedir. Kansere karşı vücudu koruyan enzimleri çalıştırdığı, damarlarda yağ birikimini engelleme özelliğinde olduğu, yağlı bileşiklerin vücuttan atılmasını sağladığı belirtilmektedir.

Taze olarak yenildiğinde kanı temizlediği ve buna rağmen kalori ve sodyum içeriğinin oldukça düşük olduğu belirtilmektedir. Kan şekerini ve kolesterolü düşürdüğü, bağırsak metabolizmasını düzenlediği, damar sertliği oluşumunu engellediği, gece görüş kabiliyetini artırır (Çelik, 2005).

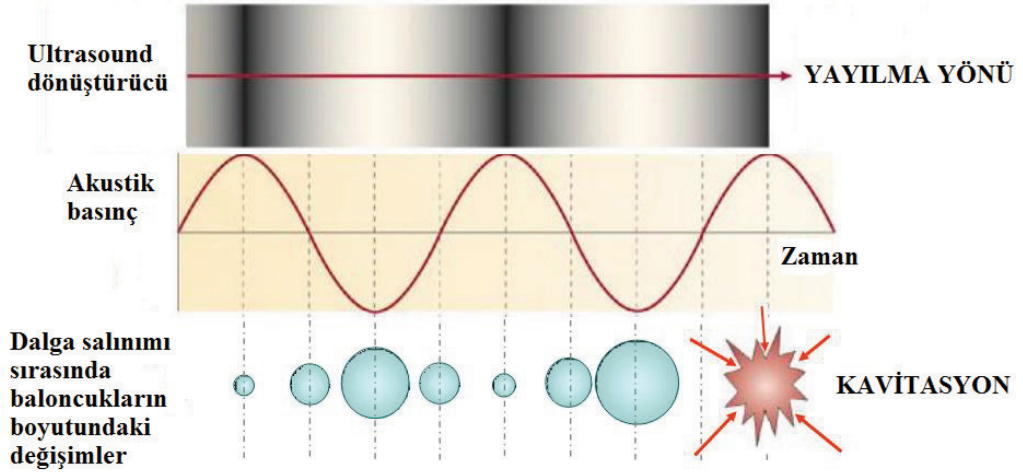
Yaban mersini özellikle doğal olarak yetişenler kanser riskini azaltan antioksidanlar içermektedir. Özellikle 2000'li yıllarda yapılan araştırmalar antioksidan içeriği yüksek olan meyvelerin insan beslenmesi üzerine kullanımları konusunda yoğunlaşmıştır. Bu bağlamda antioksidan içeriği en yüksek olan meyve yaban mersini (likapa)'dir. Özellikle beyin fonksiyonlarını üzerine önemli derecede olumsuz etkiye sahip olan Alzheimer hastalığının oluşumunun önlenmesi üzerine önemli derecede etkili olduğu belirtilmektedir (Çelik, 2006).

#### **2.4. Ultrasonikasyon Teknolojisi**

Ultrasonikasyon işlemi umut verici ısı olmayan işlemler teknolojilerinden biridir ve geleneksel yöntemlere (pastörizasyon, ekstraksiyon, deggassing, enzim eldesi gibi işlemler için) alternatif bir teknolojidir (Mason ve diğ., 2005). Ultrasonik uygulama, hücre duvarlarını mekanik olarak parçalar ve materyal aktarımı sağlar. Hücre duvarının yıkılmasıyla hücre içindeki sıvı ekstrakt hücre dışına kolayca çıkabilmektedir. Ultrasonik uygulamayla hücre duvarı ortadan kalktığından, bu yöntemle yapılan ekstraksiyon işlemi diğer ekstraksiyon yöntemlerine göre daha hızlıdır. Ultrasonikasyon uygulama işlemi ile partikül çapının azalması sonucunda katı ve sıvı kısımlar arasındaki yüzey alanı artar. Ultrasonikasyonun mekanik aktivitesi, solventin dokulara doğru olan dağılımını hızlandırır. Mekanik olarak hücre duvarı yıkıldığından hücre içi bileşen, çözücü solvante kolayca geçmektedir (Bayraktaroğlu ve Obuz, 2006).

Ultrasonik dalgalar bir ortamdan geçerken kütle transferine olan hem iç ve hem de dış dirence tesir eden bir seri etkide bulunurlar (Liang, 1993). Yüksek şiddetli ultrason sıvı içinde karıştırma uygulamasıyla sıvıdaki taşınımı artırarak kütle transferine dış direnci düşürür (Mulet ve diğ., 1999). Bu karıştırma işlemi ultrasonik dalgaların sebep olduğu ses rüzgarı etkisiyle ortaya çıkmakta, bu şekilde katı- sıvı ara yüzeyinde ultrason etkisiyle mikro düzeyde karışma sağlanmaktadır (Pugin ve diğ., 1990). Bu mikro karışma olayı çok önemli olup katı yüzeyin çok yakınında gerçekleşmektedir ve difüzyon sınır tabakasında azalma sağlamaktadır (Borisov ve diğ., 1973). Sıvı sistemlerde ultrason kavitasyon olarak adlandırılan bir etki yaratmaktadır. Şekil 2.4'ten de görüldüğü gibi bu olay sıvı içinde kabarcıkların oluşma, büyüme ve sönmesiyle ilgilidir. Kabarcıkların sönmesi (çökmesi) asimetrik olarak ara yüzey yakınında gerçekleşmekte ve katı yüzeyine çarpan mikrojetler oluşturmaktadır (Mason, 1998). Katı yüzeyine çarpan mikrojetler sıvının katı içine enjekte olmasına da yol açar (Mason, 1996). Sistem yapısına bağlı olarak kabarcıklar bazen çökmez ve uygulanan ultrasonla aynı frekansta titreşmeyi sürdürür (Leighton, 1998). Bu titreşim hareketi aynı zamanda sıvının karışmasını sağlar. Tüm bu olaylar, dış direncin etkilenecek mekanik karıştırma uygulamalarında olduğu gibi kütle transferini de kolaylaştırır. Materyalde bir seri hızlı olarak gerçekleşen sıkışma ve genişleme meydana gelir. Katılarda bu basınç değişimleri süngerin sürekli sıkılıp bırakılması gibi bir etki yaparak üründen sıvının çıkmasına ve dış ortamdaki sıvının katının içine girmesine neden olmaktadır (Floros ve diğ., 1994).

Gıda işlemede kullanılan ultrasonikasyon 20 kHz'den daha yüksek frekanslardaki enerjinin iletimini kapsar. Çok küçük güç seviyeleri (5-10 MHz ve  $1\text{W}/\text{cm}^2$ 'den az) kullanılarak uygulanan düşük yoğunluklu ultrasonikasyon materyalin özelliklerinde fiziksel ve kimyasal değişimlere sebep olmaz (Mason ve diğ., 1996). Böylece gıdanın tekstür, bileşim, viskozite ve konsantrasyonu için kullanılabilir. Buna karşın, çok daha yüksek güç seviyelerinin kullanıldığı (20-100 MHz ve  $10\text{-}1000\text{W}/\text{cm}^2$ 'den az) yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulamaları materyalde fiziksel zararlanmalara neden olur ve bazı kimyasal reaksiyonları tetikler (Dubrovic ve diğ., 2011).



**Şekil 2.4.** Kaviteasyon olayı

Ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon uygulamalarındaki yüksek yoğunlukta ve yüksek frekanstaki ultrason dalgalarının gıda materyali üzerindeki etkilerine yönelik çalışmalar literatürde bulunmaktadır (Vinatoru ve diğ., 1999). Ultrasonikasyona maruz kalan bitkisel dokularda fiziksel değişimler meydana gelmektedir (Mason, 1998). Ultrasonikasyon etkisiyle hücre duvarları hasar görerek doku içindeki ekstrakte edilebilir bileşenlerin ortaya çıkması kolaylaşmaktadır. Çözücü fazına bu maddelerin kütle transferi ile aktarımı artmaktadır (Vinatoru, 2001). Bu nedenle ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon gelecekteki uygulamalar için önemli potansiyele sahiptir (Li ve diğ., 2004; Vinatoru, 2001; Wu ve diğ., 2001).

Ultrasonik ekstraktörün dizaynında ekstraktör içerisindeki ultrasonik dalgaların dağılımı önemli bir parametredir. Ultrasonik probun dalga yayan yüzeyinin yakınılarında maksimum ultrasonik güç bulunmaktadır. Proba olan uzaklık arttıkça ultrasonik yoğunluk (etki) azalmaktadır. Ayrıca katı partiküllerin artması da ultrason yoğunluğunu azaltmaktadır. Dalgaların sabit kalmasını önlemek için genellikle karıştırma veya çalkalama yapılır (Vinatoru ve diğ., 1999). Ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon sistemi ucuz, basit ve verimli olması nedeniyle geleneksel ekstraksiyon tekniklerine iyi bir alternatiftir. Ultrasonikasyonun katı-sıvı ekstraksiyonunda kullanılmasının başlıca yararları hızlı kinetik ve verim artışıdır. Ayrıca ultrasonikasyon, düşük sıcaklıklarda da etkin olarak uygulanabildiğinden sıcaklığa duyarlı maddelerin ekstrakte edilmesini mümkün kılar. Mikrodalga destekli

ekstraktörler vb. yeni tip ekstraksiyon sistemleriyle karşılaştırıldığında ultrasonikasyon sistemi daha ucuz ve kullanımının kolay olması nedeniyle daha avantajlıdır. Gıda endüstrisinde hücrelerin parçalanması, ekstraksiyon(hücre içi materyalin ekstraksiyonu, enzim eldesi), sıvı gıdalardaki enzim reaksiyonlarının aktivasyonu, fermentasyonun hızlandırılması, karıştırma, homojenizasyon, katı materyalin sıvı içine disperse olması, sıvı akımdaki yağın emülsifiye edilmesi, spreyleme, gazların ayrılması (degassing), enzimlerin inaktivasyonu, mikrobiyal inaktivasyon kristalizasyon, et proseslerinde, canlı hücrelerin stimülasyonu işlemlerinde genel olarak kullanılmaktadır.

Ultrasonikasyon uygulaması ekstraksiyon kinetiğini ve ekstraktın kalitesini de artırır. Wang ve diğ. (2008) tarafından yapılan çalışmada buğday kepeğinden fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu işleminin optimizasyonu sonucunda en uygun işlemin %64'lük etanolle 60 °C'de 25 dakika süreyle uygulanan ultrasonik ekstraksiyonla elde edildiği vurgulanmıştır.

Dereotunun ekstraksiyonunda kullanılan ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon sisteminde alınan sonuçların geleneksel ekstraksiyona göre 1.3-2 kat daha hızlı olduğu bulunmuştur (Wang ve diğ., 2006).

Ultrasonikasyon kolza, soya ve ayçiçeği gibi yağlı tohumlardan yağ ekstraksiyonunda da kullanılmıştır. Ultrasonikasyon uygulamasının ekstrakte edilen yağ kompozisyonunda değişiklik olmadan işlem süresini yarıya indirdiği belirtilmiştir (Luque-García ve diğ., 2004).

Wu ve diğ. (2001) tarafından yapılan çalışmada ginseng saponinlerinin ekstraksiyonunun ultrasonikasyon destekli sistemde geleneksel Soxhlet ekstraksiyonundan üç kat daha hızlı olduğu bulunmuştur.

Ultrasonikasyon işleminin kırmızı üzüm suyunun antosiyaninleri ve rengi üzerindeki etkisi çalışılmış ve sonikasyonun antosiyaninin üzüm suyuna geçişini artırdığı ve üzüm suyu rengini iyileştirdiği tespit edilmiştir (Tiwari ve diğ., 2010).

Ultrasonikasyon uygulanarak biyoaktif bileşenlerin ve antosiyaninlerin ekstraksiyonu son yıllarda çalışılmış ve bu uygulamanın biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunun verimini %6-35 arasında artırdığı rapor edilmiştir (Vilkhu ve diğ., 2008).

## 2.5. Kefir İçeceği ve Kimyasal Bileşimi

Kefir, Kafkas dağları orjinli olup laktik asit bakterilerinin ürettiği kefiran polisakkarit matriksi ve beyaz-sarı düzensiz protein granüllerini içeren bir içecektir. Kefirdeki simbiyotik mikrobiyata kefirin kaynağı ve coğrafik bölgesine bağlıdır (Grønnevik ve diğ., 2011; Miguel ve diğ., 2011; Silva ve diğ., 2009; Zhou ve diğ., 2009).

Kefir taneleri *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* içeren laktik asit bakterileri ve *Kluyveromyces*, *Candida* ve *Saccharomyces* mayalarını içerir. Bakteri ve maya suda çözünebilen glukogalakton içeren kefir matriksini çevreler (Gulitz ve diğ., 2011; Magalhães ve diğ., 2010). Substrat fermentasyonu ile düşük alkol ve asetik içeren, az CO<sub>2</sub>'li taze ve asidik tatlı bir içecek oluşmaktadır (Grønnevik ve diğ., 2011; Miguel ve diğ., 2011). Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Tebliği'ne göre kefirin sahip olması gereken mikrobiyolojik özellikleri Çizelge 2.6'da verilmiştir.

**Çizelge 2.6.** Kefirin mikrobiyolojik özellikleri (kob/g) (TGK, Fermente Süt Tebliği)

<b>Mikrobiyolojik özellikler</b>	<b>Kefir</b>
Toplam spesifik mikroorganizma	En az 10 <sup>7</sup>
Etikette belirtilen toplam ilave mikroorganizma	En az 10 <sup>6</sup>
Mayalar	En az 10 <sup>4</sup>

Kefir danesi sarımtırak renkte, çapı 1-2 mm'den 3-6 mm'ye kadar değişen büyüklükte olup, karnıbahar veya patlamış mısır görünümündedir (Çağındı ve Ötleş, 2003). Tipik bir kefir danesi yaklaşık olarak %89-90 su, %0.2 lipid, %3 protein, %6 karbonhidrat ve %0.7 oranında kül içermektedir (Özer ve diğ., 2000).

Kefirin sağlığı iyileştirici gıda olma özelliği olduğu düşünülmektedir. Kefirde bulunan farklı bakteri ve mayaların birkaçı probiyotik olarak tanımlanmıştır (Latorre-García ve diğ., 2006; Le Blanc ve diğ., 2006; Zhou ve diğ., 2009).

Kefirin beslenmedeki yararları sayılamayacak kadar çoktur. Kolay sindirilebilir olması, mide ve bağırsak florasını temizlemesi, yararlı mikroorganizmalar, vitaminler, mineraller ve protein içermesi bu faydalarından bazılarıdır. Eski Sovyetler Birliği'nde hastane ve sanatoryumlarda çeşitli metabolik düzensizliklerde, atherosklerosis ve alerjik rahatsızlıklarda; modern tedavinin mümkün olmadığı zamanlarda tüberküloz, kanser ve mide-bağırsak rahatsızlıklarının tedavisinde kefir kullanıldığı bildirilmiştir. Kefirin mide ve pankreas gibi bazı organların salgılarını

artırdığı, sinirsel rahatsızlıklara, iştahsızlığa ve uykusuzluğa karşı iyi geldiği tespit edilmiştir. Yüksek tansiyon, bronşit ve safra rahatsızlıklarını iyileştirdiği görüşü halk arasında yaygınlaşmıştır. Düzenli olarak günde yarım litre tüketiminin metabolizma üzerinde stabilize edici etkisinin yanında karaciğer, safra, böbrek fonksiyonları ve kan dolaşımı üzerine olumlu etkiler gösterdiği tespit edilmiştir. Kolesterol düşürücü etkiye sahip olduğu da belirlenmiştir. Kefir yağında bulunan sfingomiyelinler enfeksiyonlara karşı bağışıklık sistemini stimüle etmektedir. Kafkasya’da yaşayan kişilerin uzun ömürlü olmalarının kefir tüketimine bağlı olduğu görüşleri birçok araştırmacı tarafından savunulmuştur (Çağındı ve Ötleş, 2003). Çizelge 2.7’de Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Tebliği’ne göre kefir içeceğinin kimyasal özellikleri gösterilmektedir.

**Çizelge 2.7.** Kefirin kimyasal özellikleri (TGK,Fermente Süt Tebliği)

<b>Kimyasal özellikler</b>	<b>Kefir</b>
Süt proteini (ağırlıkça %)	En az 2.7
Süt yağı (ağırlıkça %)	En fazla 10
Titrasyon asitliği (ağırlıkça %)	En az 0.6
Etanol (% hacim/ağırlık)	–

Kefirde oluşan laktik asit, asetik asit, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gibi antibakteriyel maddeler ve ayrıca antibiyotikler *E.coli*, *Salmonella* gibi patojen bakterilere antibakteriyel etki yapmaktadır. Laktik asidin ortam pH’sını düşürerek diğer bakterilerin gelişmesi için uygun olmayan ortam, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’nin bağırsak patojenlerine karşı antigonistik etki yarattığı ve asetik asitin de antibakteriyel etki gösterebildiği belirtilmiştir. Patojen mikroorganizmaların gelişmesini inhibe ederek bunların mide ve bağırsak rahatsızlıklarına karşı koruyucu ve tedavi edici oldukları görülmüştür. Diyare ve sindirim bozuklukları ile bağırsak florasının dengesinin bozulduğu durumlarda olumlu sonuçlar gösterdiği, mide bağırsak iltihabı, diyare, deri enfeksiyonları, ağızda uçuk ve aftın tedavisinde kullanılabileceği bildirilmiştir (Özer ve diğ., 2000). Kefir, 21.’ci yüzyılın yoğurdu olarak tanımlanmaktadır (Beshkova ve diğ., 2002). Kefir üretiminde genellikle keçi, koyun ve inek sütleri kullanılmaktadır (Konar ve Sahan, 1989; Çağındı ve Ötleş, 2003; Özer ve diğ., 2000).

Ülkemizde sanayi ölçekli kefir üretimi son on yıldır yapılmakta ve süt ürünleri pazarında kendine yer bulmaya çalışmaktadır. Geleneksel yolla kefir üretiminde kaynamış süt kullanılır. Kefir, paslanmaz çelik veya cam bir kavanozda yapılmalıdır.

Bakır, alüminyum tencere kesinlikle kullanılmamalıdır. Süt 5 dakika kaynatılır ve 20-25 °C'ye soğutulur. İçerisine %3-5 oranında kefir tanesi ilave edilir. Ağız hava alacak fakat toz, sinek v.s. girmeyecek şekilde kapatılır. 20-25 °C'de yaklaşık 18-24 saat süren fermentasyon sonucu kefir oluşur. Bu sırada kefirin pH'sı 4.7 civarındadır (Karagözlü, 2005).

Şekerli kefir, sulu kefir istendiğinde kefir taneleri süt, peyniraltı suyu, peynir, meyve suyu, melas ve şekerli çözeltileri de fermente etmek için kullanılabilir (Koutinas ve diğ., 2009; Magalhães ve diğ., 2010)



### **3. MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **3.1. Materyaller**

Analizlerde kullanılan yaban mersinleri -20 °C'de 1-1.5 kg'lık paketler halinde soğutucular vasıtasıyla Rize'den laboratuarlara soğuk zincir bozulmadan iletilmiştir. Denemelerde kullanılan kefir kültürü (Kefir DC 1000 1.Danisco Biolacta sp.z.o.o, Polanya) ticari bir firmadan temin edilmiştir. Kefir üretiminde kullanılan UHT süt aynı parti üretim olmasına dikkat edilerek yerel bir marketten satın alınmıştır. Catechin, epicatechin, chlorogenic acid, quercetin, kaempferol, t-resveratrol, rutin, cyanidin-3rutinoside, Folin-Ciocalteau, sodyum karbonat, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 6-hydroxy- 2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox) Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)'dan, TPTZ (2,4,6-tripyridyl-Striazine) Fluka Chemie AG (Buchs, Switzerland)'dan, ekstraksiyon ve HPLC'de kullanılacak solventler (HPLC saflığında) Merck (Darmstadt, Almanya)'den satın alınmıştır.

Malvidin-3-glukozit, cyanidin-3- glukozit, delphinidin-3-glukozit ticari bir firmadan temin edilmiştir.

#### **3.2. Yöntemler**

##### **Denemenin kurulması ve yaban mersinli kefir üretimi**

- (1) Yaban mersini pulpunun elde edilmesi
- (2) Elde edilen pulpa düşük yoğunluklu ultrasonikasyon ve yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulaması ve çalışılacak optimizasyon şartlarının belirlenmesi
- (3) Ham madde analizleri

- (4) Yaban mersini ilave edilen kefir üretimi: Üretimde 5 farklı (%0, 10, 20, 30 ve 40) (v/v) meyve pulpu oranı kullanılması
- (5) Yaban marsini ilave edilen kefire yapılan analizler

### **3.2.1. Yaban mersini pulpları**

#### **Üretim**

Donmuş halde (-20 °C'de) muhafaza edilen yaban mersinleri 4 °C'de 12 h çözüldürülmüş ve lab tipi presten geçirilmiştir. Meyve kabuklarını uzaklaştırmak için çift tabakalı bir tülbent üzerinden karışım filtre edilerek pulp elde edilmiştir.. Yaban mersinini ezme, meyveyi sıkma ve filtrasyon işlemleri  $4\pm 1$  °C'de yapılmıştır.

#### **Pulpa düşük ve yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulaması ve çalışılacak optimizasyon şartlarının belirlenmesi**

##### **Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon**

19 mm problu bir 1500 W ultrasonic işleyici sonikasyon için kullanılmıştır. Örnekler sabit frekansta (20 kHz) işleme tabi tutulmuştur. Enerji girişi sonikatör probunun titreşim genliği ayarlamasıyla kontrol edilmiştir. Amplitude seviyeleri (%20-80) ve uygulama zamanı (2-20 dak) 5 saniye açık, 5 saniye kapalı titreşim süreleri ile değişerek gerçekleştirilmiştir. 80 mL meyve suyu örnekleri  $25\pm 0.5$  °C'de sıcaklık artışını engellemek amacıyla soğuk su banyosuna konulmuştur. Karıştırma işlemi ultrasonik dalgaların sebep olduğu ses rüzgarı etkisiyle olup, bu şekilde katı-sıvı ara yüzeyinde ultrason etkisiyle mikro düzeyde karışım sağlanmıştır.

##### **Yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon**

Örnekler klasik ekstraksiyon koşulu olan 70 °C'de 1 saat bekletilmiştir. Ultrasonik banyonun titreşim frekansı 35 kHz'dir.

##### **Yaban mersini pulplarına yapılan analizler**

Analizler işlem uygulanmamış, düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış, yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış ve pastörizasyon işlemi yapılmış pulplarda gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.1.1. Kuru madde**

Sabit tartıma kadar 105 °C’de bekletilip desikatörde 15-30 dak tutularak daraları alınan nikel kuru madde kaplarına 5-10 mL iyice karıştırılmış meyve pulpları alınarak hassas terazide tartım yapılmıştır. 105 °C’de etüvde 3 saat tutulup desikatörde soğutulularak tartım yapılmış ve sabit tartıma kadar 1 saatlik periyotlarla işlem sürdürülmüştür. Kuru madde yüzdesi hesaplanmıştır (Artık ve Ekşi, 1988)

Yaban mersini pulpu ilaveli kefir üretiminde kuru maddesi %10.22 olan yaban mersini pulpu kullanılmıştır.

### **3.2.1.2. pH**

Yaban mersini pulplarının pH değeri inoLab (Weilheim, Germany) marka pH metre ile ölçülmüştür (Artık ve Ekşi, 1988).

Çalışma kapsamında üretilen kefirlerle ilave edilen yaban mersini pulplarının pH’sı 3.31 ölçülmüştür.

### **3.2.1.3. Briks**

Yaban mersini pulplarının briksi Abbe refraktometresi ile belirlenmiştir (Tiwari ve diğ., 2010)

### **3.2.1.4. Titrasyon asitliği**

Meyve pulplarından 250’lik behere 20 mL alınmış ve üzerine 80 mL distile su ilave edilmiştir. Sonra 0.25 mL fenol fitalein (%1) eklenerek 0.1 N NaOH ile titre edilmiştir. Titrasyon pH 8.2’de sonlandırılmıştır. Harcanan değerlerden sitrik asit cinsinden titrasyon asitliği hesaplanmıştır (Tiwari ve diğ.,2010)

Meyveli kefirleri üretmek için kullanılan pulpların titrasyon asitliği %3.53’tür.

### **3.2.1.5. Renk değerleri**

Yaban mersini pulp örneklerinin renk ölçümü Minolta kolorimetresi (Model CR-400, Konica Minolta Sensing, Inc.,Osaka, Japan) ile yapılmıştır. Renk değerlerinden  $L^*$  (beyazlık /parlaklık/siyahlık),  $a^*$  (kırmızılık/yeşillik) ve  $b^*$  (sarılık/ mavilik) olarak tanımlanmıştır (Tiwari ve diğ., 2010).

### **3.2.1.6. Toplam fenolik madde miktarı**

Üç farklı işlem sonucunda yaban mersini suyu örneklerindeki fenolik bileşiklerin alkali ortamda Folin-Ciocalteu çözeltisi ile verdiği rengin spektrofotometrede ölçümü ile saptanmıştır (Singleton ve Rossi, 1965). Bunun için 100 kat seyreltilmiş ekstraktan 125 µL alınarak üzerine 625 µL 10 kat seyreltilmiş Folin-Ciocalteu çözeltisi eklenip 3 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 500 µL doygun Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisi eklenmiş ve 15 dakika bekletildikten sonra 750 nm'de absorbansı ölçülmüştür. Gallik asitle çizilen standart eğriden yararlanılarak hesaplama yapılmış ve sonuçlar gallik asit cinsinden mg GAE/L olarak verilmiştir (Corrales ve diğ., 2007).

### **3.2.1.7. Antioksidan aktivitesi**

Antioksidan aktivitenin belirlenmesinde iki farklı yöntem kullanılmıştır. Demir indirgeme antioksidan gücü (FRAP) ve serbest radikalini indirgeme kapasitesi (DPPH) analizlerinin her ikisi de yaban mersini suyu örneklerinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için kullanılmıştır.

#### **Demir indirgeme antioksidan gücü (FRAP)**

Benzie ve Szeto (1999) tarafından önerilen yönteme göre yapılmıştır. FRAP çözeltisi, 40 mmol L<sup>-1</sup> HCl içinde 10 mmol L<sup>-1</sup> 2,4,6-tripyridyl-S-triazine (TPTZ), 20 mmol L<sup>-1</sup> FeCl<sub>3</sub> çözeltisi ve 300 mmol L<sup>-1</sup> sodyum asetat tamponundan (pH 3.6) oluşur. Uygun oranda seyreltilen 50 µL ekstrakt, 950 µL FRAP çözeltisi ile karıştırıldıktan sonra 5 dak beklenmiş ve 593 nm'de absorbans belirlenmiştir. FeSO<sub>4</sub> ile hazırlanan çözelti yardımıyla kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve FRAP (mg/g) cinsinden antioksidan güç belirlenmiştir (Ek A).

#### **Serbest radikal giderme etkisi (DPPH)**

Serbest radikal giderme etkisi (DPPH) metodunda (Brand-Williams ve diğ., 1995), uygun oranda seyreltilen ekstraktan 50 µL alınıp 1 mL 10<sup>-3</sup> M DPPH çözeltisi ile karıştırıldıktan sonra 30 dakika beklenmiş 515 nm'de okuma yapılmıştır. Ayrıca kontrol örneği de hazırlanmış, bunun da absorbansı tespit edilerek aşağıdaki formül yardımıyla önce DPPH'nin % inhibisyonu, sonra konsantrasyona karşı inhibisyon değerleri kullanılarak çizilen grafikten %50 inhibisyonu sağlayan konsantrasyon (EC<sub>50</sub>) hesaplanmıştır. Sonuçlar µg/mL cinsinden ifade edilmiştir.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{\text{Kontrol örneğinin absorbanısı}-\text{örneğin absorbanısı}}{\text{Kontrol örneğinin absorbanısı}} \times 100$$

### 3.2.1.8. Optimizasyon

Optimizasyon teknolojisi, karar verme süreçlerini hızlandırmakta ve karar kalitesini arttırmakta kullanılarak gerçek hayatta karşılaşılan problemlerin etkin, doğru ve gerçek zamanlı çözümünde yararlanılmaktadır (Winston, 2003).

Optimizasyon modelleri ise sistemin işleyişini ve özelliklerini yansıtan, sistemin içindeki ve çevresindeki diğer sistemlerle olan etkileşimleri kapsayan matematik ifadelerden oluşmaktadır (Williams, 1999).

Yanıt yüzey yöntemi, süreçlere kolaylıkla uygulanabilen istatistik ve matematikl bir optimizasyon yöntemidir. Proje kapsamında antioksidan kapasitesi ve toplam fenol analizleri belirlenmiş ve deneysel çalınmalardan alınan sonuç değerlerine göre sürecin optimizasyonu yapılmıştır. Çalışmada, düşük yoğunluklu ultrasonikasyon işleminde yaban mersini meyvesine uygulanacak amplitude (titreşim genliği) ve süre faktörleri yönteme işlenmiştir. Bu aşamada kuadratik model uygulanmıştır.

Denemelerin dizayn edilmesi, model geliştirilmesi (regresyon analizi), varyans analizi (ANOVA) ve optimizasyon RSM'nin başlıca kısımlarını oluşturmaktadır (Eren, 2004).

Birçok yanıt yüzey uygulamasında yanıt ve bağımsız değişken arasındaki ilişki bilinmemektedir. Bu nedenle yanıt yüzey yöntemi için ilk aşama bağımsız değişkenler ile yanıtlar arasındaki ilişkiyi ifade edecek en uygun yaklaşımın tespit edilmesidir. Yanıtlar bağımsız değişkenlerin lineer fonksiyonları ise uygulanacak fonksiyon birinci dereceden modellerdir.

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \dots + \beta_k x_k + \epsilon$$

$$Y = y - \epsilon$$

$\beta_0$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_k$  değerleri regresyon denklik katsayılarını gösterirken,  $y$ , yanıtı,  $\epsilon$  rasgele hatayı,  $Y$  ise yanıtın tahmin edilen değerini göstermektedir.

### 3.2.1.9. Antosiyanin miktarı

Düşük ve yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış ve işlem uygulanmamış yaban mersini suyunun antosiyanin kompozisyonu HPLC yöntemiyle iki aşamadan (ekstraksiyon ve saflaştırma, tanımlama ve hesaplama) oluşan bir uygulama sonunda belirlenmiş olup, bu aşamalar aşağıda kısaca açıklanmıştır.

**Ekstraksiyon ve saflaştırma:** Analiz edilecek meyve suyu örnekleri (işlem uygulanmamış, düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış ve yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış örnekler) basit filtre kağıdından geçirilip bulanıklık oluşturacak unsurlar uzaklaştırıldıktan sonra 5 mL örnek alınıp 5 mL metanol:asetik asit:su (25:1:24) karışımı ile soğutmalı santrifüjde 2000 g' de 10 dak 4 °C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj bittikten sonra süpernatant kısım 0.45 cm gözenek çaplı PVDF filtreden (Millipore, Bedford, MA,A.B.D.) geçirilerek HPLC'nin oto-örnekleme (auto-sampler) ünitesinde kullanılan amber renkli 1.5 mL'lik cam şişelere (vial) alınmış ve bekletilmeden HPLC'ye enjekte edilmiştir (Tiwari ve diğ.,2010).

**Tanımlama ve hesaplama:** Antosiyaninlerin tanımlanması ve miktarlarının hesaplanmasında "yüksek performanslı sıvı kromatografi" cihazından (HPLC, Shimadzu, Tokyo, Japan) yararlanılmıştır. Kullanılan HPLC sistemi; pompa (Shimadzu LC-20AT, Japan), foto diyoderey dedektörü (PDA, photo dioderey dedector) (Shimadzu, Japan), 4 °C'ye inebilen soğutma sistemine sahip oto-örnekleyici (auto-sampler) ( Shimadzu SIL-10A, Japan) ve kolon fırınından (thermostatted column compartment) (Shimadzu CTO-10AS VP, Japan) oluşmaktadır. Elde edilen kromatogramlar data istasyonu (Shimadzu LC-20AT, Japan) ile değerlendirilmiştir.

#### **Kromatografi koşulları :**

- **Kolon :** Ters faz (reverse phase) C18 kolonu (250 x 4.6 mm, 5cm) (Phenomenex, Los Angeles, CA, A.B.D.)
- **Akış hızı :** 0.7 mL dak<sup>-1</sup>
- **Elüsyon süresi :** 20 dak.
- **Enjeksiyon hacmi :** 20 µL
- **Dalga boyu :** 520 nm
- **Hareketli faz (mobile phase) :** Asetonitril (%100) (A) ile O-fosforik asit:asetik asit:asetonitril: su (1:10:5:84; v/v/v/v) (B) karışımı.

Gradyent akış söz konusu olup, Skrede ve diğ. (2000) tarafından önerilen elüsyon profili tarafımızdan modifiye edilerek uygulanmıştır (Çizelge 3.1).

**Çizelge 3.1.** Antosiyaninler için uygulanan elüsyon profili

Süre(dk)	%A	%B
0-10	1	99
10-20	12	88

Kromatogramlarda elde edilen antosiyanin pikleri, standart maddelerin geliş süresi (retention time) ve PDA dedektöründe elde edilen UV spektrumlarının karşılaştırılmasıyla tanımlanmıştır. Örnekteki antosiyaninlerin miktarı; "siyanidin 3-O-glukozit, delfinidin 3-O-glukozit ve malvinidin 3-O-glukozit" standart maddelerinin her biri için oluşturulan en az 6 veriye dayalı olarak hazırlanmış standart eğrilerden hesaplanmıştır.

İşlem uygulanmamış meyve pulpu, düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış meyve pulpu ve yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış meyve pulpu örnekleri için aşamalar aynı gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.1.10. Flavanoid miktarları

Düşük ve yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış ve işlem uygulanmamış yaban mersini pulpunun flavanoid kompozisyonu HPLC yöntemiyle iki aşamadan (ekstraksiyon ve saflaştırma, tanımlama ve hesaplama) oluşan bir uygulama sonunda belirlenmiş olup, bu aşamalar aşağıda kısaca açıklanmıştır.

**Ekstraksiyon ve saflaştırma:** Analiz edilecek meyve pulpu örnekleri (işlem uygulanmamış, düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış ve yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış örnekler) basit filtre kağıdından geçirilip bulanıklık oluşturacak unsurlar uzaklaştırıldıktan sonra 5 mL örnek alınıp 5 mL metanol ile soğutmalı santrifüjde 12000 g'de 10 dak 4 °C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj bittikten sonra süpernatant kısım 0.22 cm gözenek çaplı PVDF filtreden (Millipore, Bedford, MA,A.B.D.) filtre edilerek HPLC'nin oto-örnekleme (auto-sampler) ünitesinde kullanılan amber renkli 1.5 mL'lik cam şişelere (vial) alınmış ve bekletilmeden HPLC' ye enjekte edilmiştir.

**Tanımlama ve hesaplama:** Flavanoidlerin tanımlanması ve miktarlarının hesaplanmasında "yüksek performanslı sıvı kromatografi" cihazından (HPLC,

Shimadzu, Tokyo, Japan) yararlanılmıştır. Kullanılan HPLC sistemi; pompa (Shimadzu LC-20AT, Japan), foto diyoderey dedektörü (PDA, photo dioderay dedector) (Shimadzu, Japan), 4 °C'ye inebilen soğutma sistemine sahip oto-örnekleyici (auto-sampler) (Shimadzu SIL-10A, Japan) ve kolon fırınından (thermostatted column compartment) (Shimadzu CTO-10AS VP, Japan) oluşmaktadır. Elde edilen kromatogramlar data istasyonu (Shimadzu LC-20AT, Japan) ile değerlendirilmiştir.

#### **Kromatografi koşulları :**

- **Kolon :** Ters faz (reverse phase) C18 kolonu (250 x 4.6 mm, 5 cm) (Phenomenex, Los Angeles, CA, A.B.D.)
- **Akış hızı :** 1 mL dak.<sup>-1</sup>
- **Elüsyon süresi :** 45 dak.
- **Enjeksiyon hacmi :** 20 µL
- **Dalga boyu :** 280 nm
- **Hareketli faz (mobile phase) :** %2'lik asetik asit (A) ile [%0.5'lik asetik asitli su]: [asetonitril: su (1:1,v/v)] (1:1v/v) (B) .

#### **3.2.2. Süt ve kefir analizleri**

Süt ve kefirlerde aynı yöntemler kullanılarak analizler gerçekleştirilmiştir.

##### **3.2.2.1. Kuru madde**

Sabit tartıma kadar 105 °C'de bekletilip desikatörde 15-30 dak tutularak daraları alınan nikel kuru madde kaplarına 3-4 mL iyice karıştırılmış süt ve kefir alınarak hassas terazide tartım yapılmıştır. 105 °C'de etüvde 3 saat tutulup desikatörde soğutularak tartım yapılmış, sabit ağırlıktan kuru madde yüzdesi hesaplanmıştır (Bradley ve diğ., 1992).

Meyveli kefir üretiminde kuru madde değeri %10.91 süt ve %10.58 kefir kullanılmıştır.

##### **3.2.2.2. Titrasyon asitliği**

Örnek homojen bir şekilde karıştırıldıktan sonra erlene 9 g tartılmış, 0.25 mL fenolfitaleyn indikatörü eklendikten sonra 0.1 N NaOH ile hafif pembe renge kadar titrasyon yapılmış ve % laktik asit miktarı hesaplanmıştır (Bradley ve diğ., 1992).

Tez kapsamında titrasyon asitliği meyveli kefirler kullanılacak olan sütte %0.21 ve kefirde %0.62 olarak belirlenmiştir.

### **3.2.2.3. pH değeri**

Süt ve kefirlerin pH değeri inoLab (Weilheim, Germany) marka pH metre ile ölçülmüştür (Oysun, 1996).

pH meyveli kefirlerin yapımında kullanılan sütte 6.6 kefirde ise 4.5 olarak saptanmıştır.

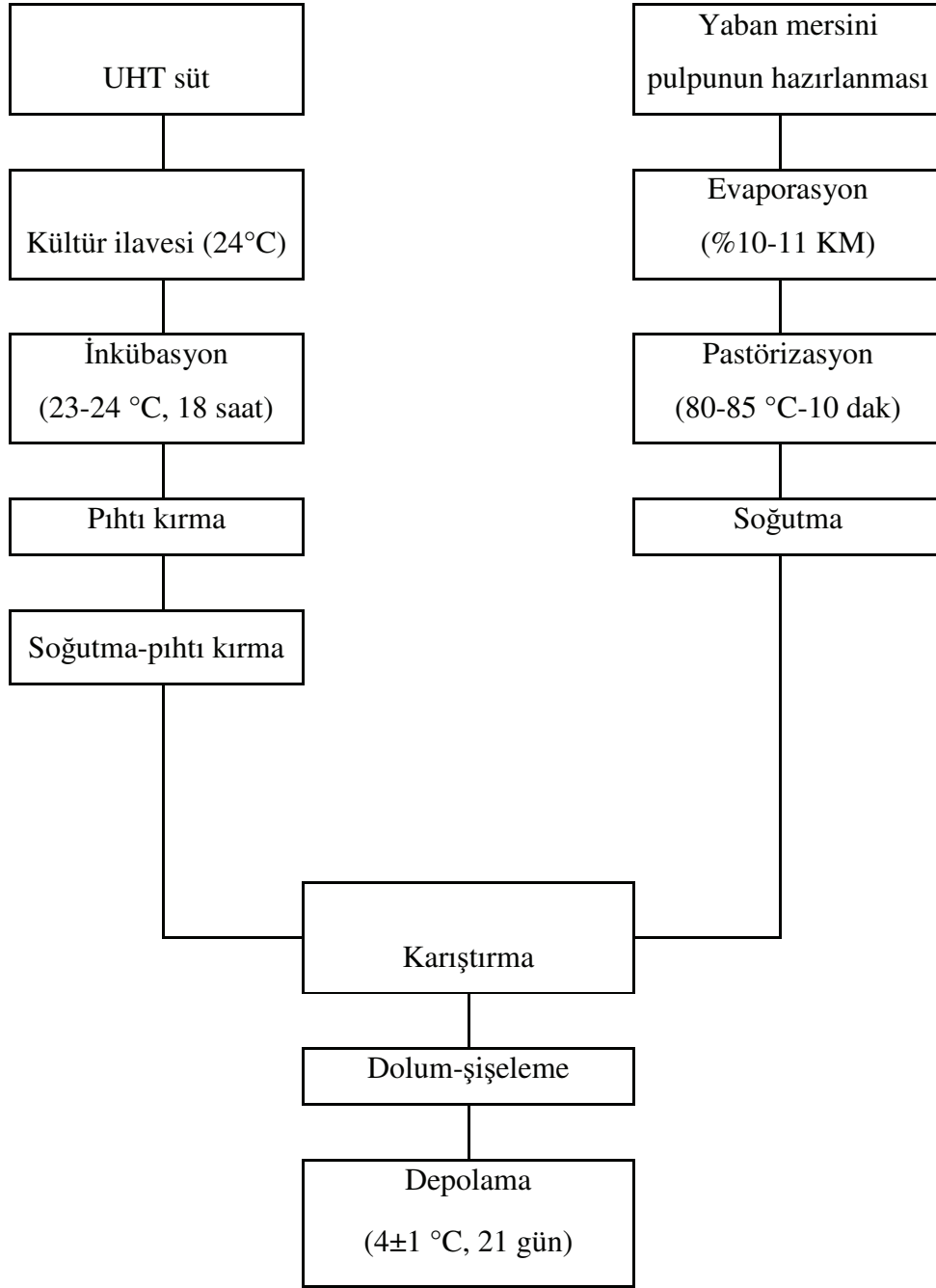
### **3.2.2.4. Yağ**

Yağ miktarı tayininde Gerber metodu kullanılmıştır (Anon, 1994).

Yaban mersini pulpu ilave edilerek yapılan kefirler için kullanılan süt ve kefirin yağ değerleri %2.8 olarak ölçülmüştür.

### **3.2.3. Meyveli kefir analizleri**

Kefir üretimi kefir kültürü ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1). Bunun için 200 mL'lik UHT süt içerisinde bulk kültür hazırlanmış ve bulk kültürden %5 inokülasyon oranı (v/v) olacak şekilde hesaplanarak kefir üretiminde kullanılacak süt içerisine inoküle edilmiştir. 24 °C'de 18 saat bekletilen süt pH kontrolü yapıldıktan sonra oluşan pıhtının kırımı işleminin ardından 5 farklı (%0, 10, 20, 30 ve 40) (v/v) meyve pulpu oranı kullanılarak kefirlerin üretimi gerçekleştirilmiştir. Meyveli kefir üretiminde kullanılmak üzere hazırlanan pulplar 80-85 °C'de 10 dakika pastörize edilmiştir. Aseptik olarak paketlenen kefirler analiz gününe kadar buzdolabında muhafaza edilmiştir.



**Şekil 3.1.** Meyveli kefir üretim aşamaları

### **Yaban mersini pulpu ilave edilen kefirin analizleri**

Yaban mersini pulpu elde edildikten sonra rotary evaporatörde suyu uçurulmuş ve meyve pulpu pastörize (80-85 °C’ de 10 dak) edilmiştir. Kuru maddesi süte denk olan pulplar daha sonra üretilen kefire %10, 20, 30 ve 40 oranında (v/v) ilave edilmiştir. Üretilen meyveli kefirlerde aşağıdaki analizler yapılmıştır.

### **3.2.3.1. Fizikokimyasal analizler**

#### **Kuru madde**

Sabit tartıma kadar 105 °C’ de bekletilip desikatörde 15-30 dak tutularak daraları alınan nikel kuru madde kaplarına 3-4 mL iyice karıştırılmış meyve sulu kefir alınarak hassas terazide tartım yapılmıştır. 105 °C’de etüvde 3 saat tutulup desikatörde soğutularak tartım yapılmış ve sabit ağırlıktan kuru madde yüzdesi hesaplanmıştır (Bradley ve diğ., 1992).

#### **Titrasyon asitliği**

Örnek homojen bir şekilde karıştırıldıktan sonra erlene 9 g tartılmış, 1 mL fenolfitaleyn indikatörü eklendikten sonra 0.1 N NaOH ile hafif pembe renk elde edilinceye kadar titrasyon yapılmış ve sonuç % laktik asit olarak hesaplanmıştır (Bradley ve diğ., 1992).

#### **pH değeri**

Kefirlerin pH degeri inoLab (Weilheim, Germany) marka pH metre ile ölçülmüştür (Oysun, 1996).

### **3.2.3.2. Duyusal analizler**

Meyveli kefirin duyusal değerlendirmeleri OMÜ Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim elemanlarından oluşan 8 kişilik panelist grup tarafından gerçekleştirilmiştir. Duyusal analizlerde yapı, tat-lezzet, koku, görünüş ve genel kabuledilebilirlik puanlama ile değerlendirilmiştir ve elde edilen duyusal puanlar ve depolama boyunca oluşan değişimler için verilen puanlar Şekil 3.2’de belirtilen forma değerlendirmeciler tarafından puanlandırılmıştır.

## DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU

Değerlendirenin Adı:

Tarih:

	Örnekler														
Kalite faktörleri	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Görünüm															
Yapı															
Tat-lezzet															
Koku															
Genel Kabuledilebilirlik															

Not: Değerlendirme 1-10 puan arası yapılmaktadır.

Şekil 3.2. Meyveli kefir duyusal değerlendirme formu

### 3.2.3.3. Mikrobiyolojik analizler

En çok beğenilen meyve oranı (%30) belirlendikten sonra yeni meyveli kefir üretimi ve üretilen kefirin mikrobiyolojik analizleri gerçekleştirilmiştir.

En çok beğenilen meyve oranı ile sade kefir, düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış meyveli kefir ve yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış meyveli kefir örnekleri üretilmiş ve 1, 10 ve 21. gün analizleri gerçekleştirilmiştir.

10 mL kefir örneklerine 90 mL sodium chloride (8.5 g/1000 mL) çözeltisine eklenerek  $10^{-2}$ 'lik dilüsyon elde edilmiştir.  $10^{-2}$ 'lik dilüsyondan steril otomatik pipetle 1 mL alınarak 9 mL'lik sodium chloride (8.5 g/1000 mL) çözeltisine aktararak  $10^{-3}$ 'lük dilüsyon hazırlanmıştır. Bu şekilde  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ 'lük dilüsyonlar hazırlanmıştır.

### **Lactobacilli sayısı**

Kefir örneklerindeki lactobacilli sayımları asetik asit ile pH 5.5 noktasına ayarlanmış Rogosa Agarda (Merck, Darmstadt, Almanya) anaerobik olarak 30 °C' de 5 gün inkübasyon sonucunda kolonilerin sayımı ile saptanmıştır (Ferrazza ve diğ., 2004).

### **Leuconostoc sayısı**

Kefir örneklerindeki leuconostoc sayımları Vankomisin (Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya) ilaveli MRS agar üzerinde 30 °C'de 72 saat inkübasyon sonrasında sayılmıştır (Manolopoulou ve diğ.,2003).

### **Lactococci sayısı**

Kefir örneklerindeki lactococci sayımları M17 (Merck, Darmstadt, Almanya) Agar üzerinde 30 °C'de 3 gün inkübasyon sonunda saptanmıştır (Zarate ve diğ., 1997).

### **Maya sayısı**

Kefir örneklerindeki mayalar Yeast Ekstrakt Glukoz Kloramfenikol (YGC) Agar (Merck, Darmstadt, Almanya) besiyerinde 30 °C'de 72 saat inkübe edilmesi sonucu kolonilerin sayımı ile belirlenmiştir (Manolopoulou ve diğ., 2003).

### **3.2.4. İstatistik analizleri**

Ultrasonikasyon ile ekstraksiyon, ultrasonik banyo ile ekstraksiyon, mikrobiyolojik duyuşal ve fizikokimyasal analizlerden elde edilen verilerin analizi SPSS 16.0 paket programı kullanılarak, varyans analizi, tek yönlü ANOVA ve Duncan Çoklu karşılaştırma testleri ile yapılmıştır.



## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1 . Yaban mersini pulpu sonuçları

#### 4.1.1. Brix, pH ve titrasyon asitliği

Rize ve çevresinden temin edilen yaban mersini meyveleri preslenip filtre edildikten sonra elde edilen meyve pulplarında yapılan pH, titrasyon asitliği ve brix analizlerinin sonuçlarına ait ortalama değerler Çizelge 4.1’de verilmiştir. Çizelgeden de anlaşılacağı üzere pH 3.16 ile 3.25, titrasyon asitliği 0.69 ile 0.89, brix 9.03 ile 9.53 arasında tespit edilmiştir.

Ristuc ve diğ. (2011)’nin, yaptıkları bir çalışmada yaban mersini suyunda ölçtükleri pH (3.04) değeri tarafımızdan yaban mersini pulpunda belirlediğimiz pH değerlerinden düşüktür. Aradaki farklılıklar meyve türlerinden ileri gelmiş olabilir.

**Çizelge 4.1.** Yaban mersininden üretilen (ultrasonikasyon uygulanmış) meyve pulplarında ortalama pH, brix ve titrasyon asitliği değerleri\*

Örnek	Brix (g/100g)	pH	Titrasyon asitliği (%)
YMP (Kontrol)	9.03±0.461 A	3.25±0.025 A	0.69±0.043 B
DUYMP	9.53±0.416 A	3.18±0.026 B	0.89±0.033 A
YUBYMP	9.33±0.288 A	3.16±0.015 B	0.85±0.018 A

\*YMP: Yaban mersini pulpu, DUYMP: Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu, YUYMP: Yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu  
<sup>A-B</sup>Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

Yaban mersini meyvelerine düşük ve yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanarak üretilen yaban mersini pulplarında oluşan deneme faktörlerinin etkisini belirlemek için yapılan varyans analizi yapılmıştır. Bu istatistik analiz sonuçlarına göre uygulamaların meyve pulplarının brix değerlerine önemli bir etkiye bulunmadığı (p>0.05), pH ve titrasyon asitliği değerlerini ise 0.05 düzeyinde

etkilediği tespit edilmiştir. Önemli olan farklılıkların hangi ortalamalardan kaynaklandığını belirlemek için Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.1’de verilmiştir. Düşük ve yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulamalarının her ikisi de yaban meyvesi pulpunun pH değerlerini azaltmış, titrasyon asitliği değerlerini arttırmıştır ( $p<0.05$ ).

Kırmızı üzümde yapılan bir çalışmada düşük yoğunluklu ultrasonikasyon işleminin pH, briks ve titrasyon asitliği üzerinde önemli bir farklılık bulunmamıştır (Tiwari ve diğ., 2010). Tezimizde ultrasonikasyon işleminin pH ve titrasyon asitliği değerlerine olan önemli etkisini açıklayacak literatür bilgisine rastlanmamıştır.

#### 4.1.2. Toplam fenolik madde miktarı ve antioksidatif kapasite

Meyveli kefir üretimi için hazırladığımız yaban mersini pulplarında toplam fenol içeriklerine ait belirlenen ortalama değerler Çizelge 4.2’de verilmiştir. Yaban mersini pulplarının antioksidatif kapasiteleri ise FRAP ve DPPH olmak üzere farklı iki yöntemle belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Ristuc ve diğ. (2011) yaptıkları bir çalışmada, yaban mersininde toplam fenol ve antioksidan kapasitelerini sırasıyla  $236.3\pm 7$  mg GAE/100 g,  $EC_{50}$   $1.68\pm 0.13$  (mg/mL) olarak tespit etmişlerdir.

**Çizelge 4.2.** Yaban mersininden üretilen (ultrasonikasyon uygulanmış) meyve pulplarında toplam fenol ve antioksidatif kapasitesi ortalama değerleri\*

Örnek	Toplam fenol miktarı (mg GAE/L)	Antioksidatif kapasite (FRAP) (mg/g)	$EC_{50}$ %inhibisyon(mg/mL)
YMP (Kontrol)	$7569.44\pm 876.32$ AB	$16.31\pm 3.409$ A	$1.56\pm 0.412$ A
DUYMP	$6638.88\pm 387.148$ B	$17.04\pm 0.860$ A	$1.57\pm 0.391$ A
YUBYMP	$8166.66\pm 467.294$ A	$17.96\pm 0.368$ A	$1.88\pm 0.583$ A

\*YMP: Yaban mersini pulpu, DUYMP: Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu, YUYMP: Yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu

<sup>A-B</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden  $p<0.05$  düzeyinde farklıdır.

Tezde üretilen yaban mersini pulplarında meydana gelen değişiklikleri belirlemek için istatistik analiz yapılmıştır. Kontrol örneklerine göre; değişiklikler istatistik önemde değildir ( $p>0.05$ ), ancak yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon işlemi yaban mersini pulplarının toplam fenol salınımını artırmıştır. Yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon tekniği 1 L meyve pulpunda kontrole göre  $597.22$  mg düzeyinde bir artış sağlamıştır. Literatürde, günlük flavonoid alımının ülkelerin tüketim durumuna

göre değiştiği ve ortalama 20-40 mg/gün olduğu bildirilmiştir (Güven ve diğ., 2010). Dolayısıyla yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon tekniği ile, çalışmamızda elde ettiğimiz toplam fenol artışı insan beslenmesi için önemli miktarda sayılabilir. Bu sonuçlara göre, toplam fenol salınımı açısından, meyve pulpu üretiminde yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon tekniğinin kullanılması tavsiye edilebilir.

Düşük ve yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanan yaban mersini pulplarında gerek FRAP ve gerekse DPPH yöntemleri ile belirlenen antioksidan kapasiteleri arasında önemli bir farklılık tespit edilememiştir ( $p>0.05$ ). Ancak istatistik önemde olmasa bile, her iki uygulama da meyve pulplarında antioksidan kapasitelerini arttırmıştır.

#### 4.1.3. Renk değerleri

Tez kapsamında farklı işlemler uygulanarak oluşturulan yaban mersini pulplarının ortalama Hunter renk değerleri izelge 4.3'de verilmiştir. Meyve pulpları örneklerinde *L* değerleri 19.75 ile 20.35, *a* değerleri 4.42 ile 5.3, *b* değerleri ise 1.78 ile 2.2 arasında ölçülmüştür.

**Çizelge 4.3.** Yaban mersininden üretilen (ultrasonikasyon uygulanmış) pulpların ortalama renk değerleri \*

Örnek	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>
YMP	20.35±1.171 A	4.42±1.279 A	1.78±0.154 A
DUYMP	19.75±0.639 A	5.00±0.806 A	2.18±0.644 A
YUBYMP	19.93±0.860 A	5.30±0.664 A	2.20±0.256 A

\*YMP: Yaban mersini pulpu, DUYMP: Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu, YUBYMP: Yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu

<sup>A</sup>Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen değerler arasında  $p>0.05$  düzeyinde fark yoktur.

Yapılan istatistik analizleri sonucunda, düşük ve yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon tekniklerinin yaban mersini pulpunun renk değerleri üzerinde önemli bir etkide bulunmadığı anlaşılmıştır.

#### 4.1.4. Antosiyanin içeriği

Tez kapsamında yaban mersini meyvesinin preslenip filtre edilmesiyle hazırlanan pulpların ortalama antosiyanin değerleri izelge 4.4'te verilmiştir. Pulplarda antosiyaninlerden cyanidin ve malvidin varlığı araştırılmıştır. Çizelgeden de görüldüğu gibi, cyanidin miktarı en düşük (2.81 mg/L) kontrol, en yüksek (3.41 mg/L) DUYMP (düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış meyve pulpları)

örneklerinde belirlenmiştir. Malvidin ise 26.21 ile 28.42 mg/L arasında tespit edilmiştir.

Ribera ve diğerleri (2010)'da *Vaccinium corymbosum* L. meyvesinin pulp ve kabuk kısmında antioksidant bileşikleri araştırmışlar ve tam meyvede 284.70 mg/100 g cyanidin, 45.38 mg/100 g malvidin tespit etmişlerdir.

Ristuc ve diğerleri (2011) farklı üzüksü meyvelerin suyunun kimyasal kompozisyonu ve biyolojik aktivitelerini çalışmışlar ve yaban mersini suyunda 0.27 mg/mL cyanidin, 0.16 mg/mL malvidin bulmuşlardır.

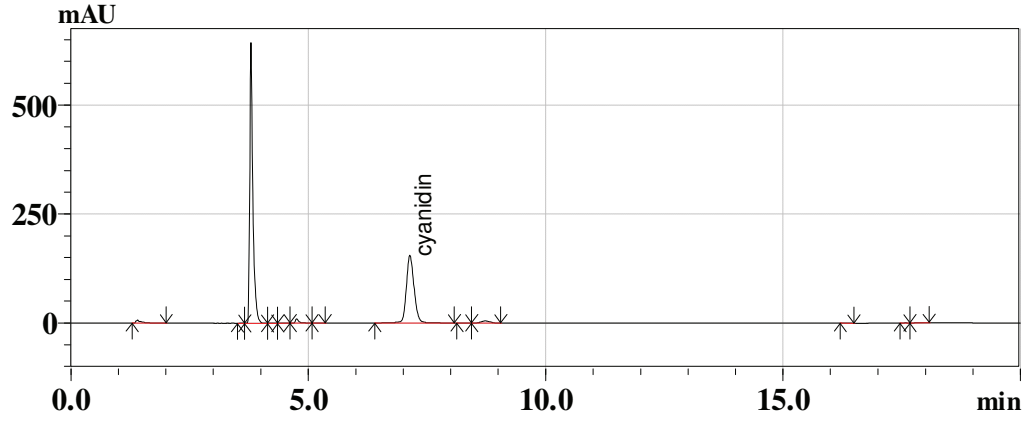
**Çizelge 4.4.** Yaban mersininden üretilen (ultrasonikasyon uygulanmış) meyve pulplarında antosiyanin ortalama değerleri \*

Örnek	Cyanidin (mg/L)	Malvidin (mg/L)
YMP(Kontrol)	2.81±0.07 B	28.11±7.45 A
DUYMP	3.41±0.32 A	28.42±8.96 A
YUYMP	3.23±0.14 A	26.21±8.63 A

\*YMP: Yaban mersini pulpu, DUYMP: Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu, YUYMP: Yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu  
<sup>A-B</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

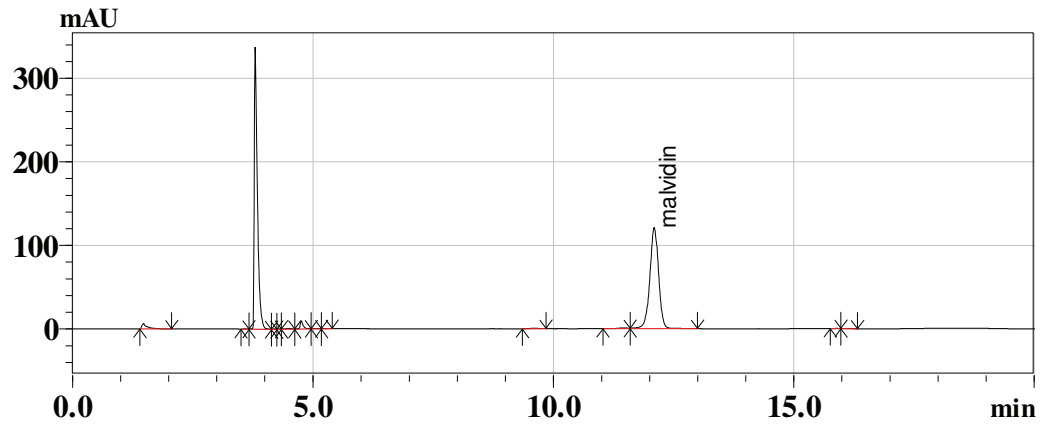
Farklılıkları belirlemek için yapılan istatistik analizlere göre; düşük ve yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon tekniklerinin yaban mersini pulpunda malvidine etkileri önemsiz, cyanidin salınması üzerindeki etkileri ise önemli bulunmuştur. Her iki ultrasonikasyon tekniği de yaban mersini pulpunda cyanidin salınmasını arttırmıştır (p<0.05). Bu sonuçlara göre, düşük ve yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon tekniklerinin meyve pulpu üretiminde cyanidin salınımının artırılması amacı ile kullanılabileceğini önermek doğru olabilir.

HPLC'de yapılan antosiyanin analizi için cyanidin standardına ait pik ortalama 7. dak.'da gelmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Cyanidin standardı HPLC kromotogramı

Antosiyaninlerden malvidin standardı HPLC'de ortalama 12.dak.'da gelen pik antosiyanin analizinde malvidin standardına aittir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Malvidin standardı HPLC kromotogramı

#### 4.1.5. Flavanoid değerleri

Kontrol ile düşük ve yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulplarında 8 farklı flavanoid analiz edilmiştir. Belirlenen sonuçların ortalama değerleri Çizelge 4.5'te verilmiştir. Çizelden görüldüğü gibi, gallikasit 0.36-0.42, gallokateşin 53.64-61.11, epigallokateşin 111.08-132.56, kateşin 83.63-151.98, epikateşin 10.82-26.03, resveratrol 6.18-10.14, kateşingallat 0.21-0.67 ve quarcetinhidrat 3.35- 4.1 mg/L arasında tespit edilmiştir.

**Çizelge 4.5.** Yaban mersininden üretilen (ultrasonikasyon uygulanmış) meyve pulplarında ortalama flavanoid değerleri (mg/L) \*

	YMP	DUYMP	YUYMP
Gallikasit	0.42±0.04 AB	0.49±0.03 A	0.36±0.04 B
Gallokateşin	54.70±9.70 A	61.11±10.93 A	53.64±5.89 A
Epigallokateşin	112.20±11.55 B	132.56±2.91 A	111.08±9.29 B
Kateşin	151.98±12.09 A	113.31±11.60 B	83.63±4.89 C
Epikateşin	10.82±4.22 B	26.03±4.66 A	13.92±5.74 B
Resveratrol	6.18±1.08 B	10.14±1.61 A	6.66±1.16 B
Kateşingallat	0.21±0.15 B	0.67±0.05 A	0.56±0.15 A
Quarçetinhidrat	4.10±0.19 A	3.46±0.47 AB	3.35±0.35 B

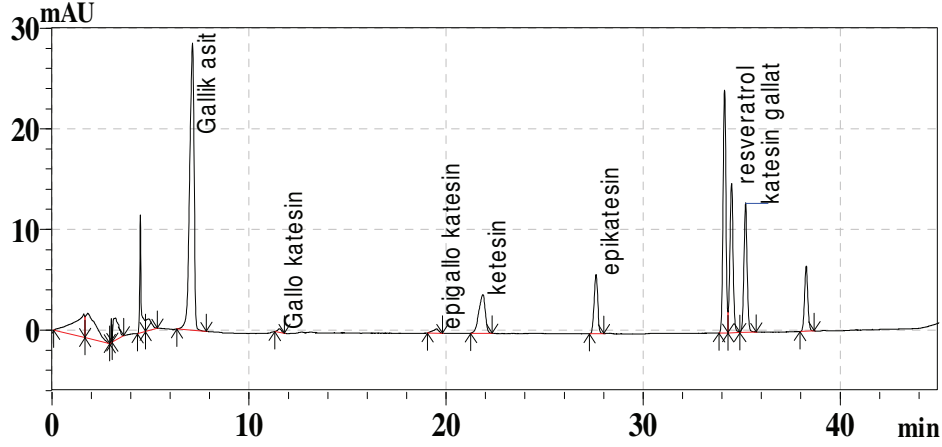
\*YMP: Yaban mersini pulpu, DUYMP: Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu, YUYMP: Yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu  
<sup>A-C</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

İstatistik farklılıkları belirlemek için Duncan çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. Flavanoidler değerlendirildiğinde, gallokateşin hariç diğer 7 flavanoidler (gallik asit, epigallokateşin, epikateşin, resveratrol, kateşin gallat, kateşin, quercetin hidrat) açısından örnekler arasında önemli istatistik farklılıklar vardır (p<0.05). Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon tekniği, yaban mersini pulplarında epigallokateşin, epikateşin, resveratrol ve kateşingallat salınım miktarlarında önemli düzeyde (p<0.05) artışa sebep olmuştur. Kaliteli meyve pulpu üretimi ve insan beslenmesine katkı açısından bu araştırma sonucumuzun önemli olduğu iddia edilebilir.

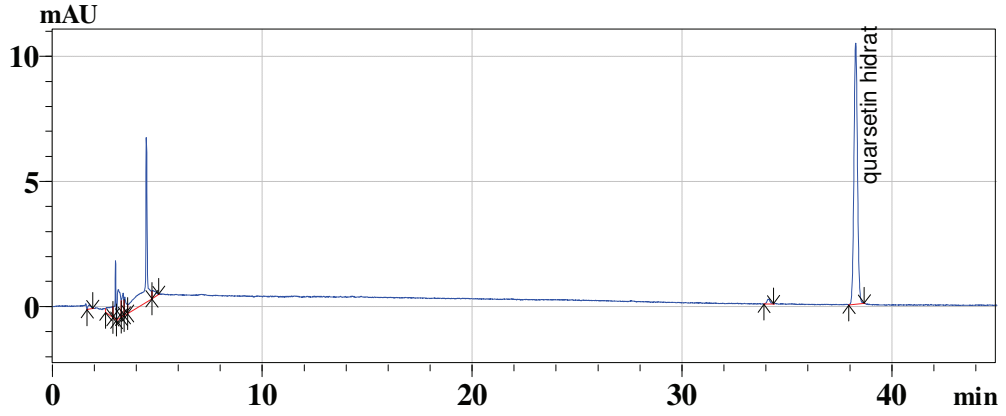
Bu farklılıklar bitki hücrelerine gönderilen ses dalgalarının oluşturduğu kavitasyonun hücre duvarlarını zedeleyip fenolik bileşiklerin salınımını artırmasından (Vilkhu ve diğ. , 2008) kaynaklanmış olabilir.

Bu sonuçlara göre; genelde istatistik önemde olmasa da, yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon tekniği yaban mersini pulpunda bazı flavonoidlerin salınımını azaltmıştır.

Bazı flavonoidlerin HPLC kromatogramları Şekil 4.3, quercetinhidrat standardının HPLC kromatogramı ise Şekil 4.4'te gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Bazı flavonoidlerin HPLC kromotogramları



Şekil 4.4. Quercetin hidrat standardının HPLC kromotogramı

#### 4.1.6. Optimizasyon değerleri

Üretim koşullarının optimizasyonu, etkili ve ekonomik biyoproseslerin gelişiminde en kritik aşamalardan birisidir. İstatistik yöntem bilimi üretim sonuçlarını analiz eden ve proses aşamalarını dizayn eden matematik modellerin kullanımını içerir (Bas ve diğ., 2007). Yanıt yüzey metodu, çoklu proses değişkenlerini denemelerle tanımlayabilen ve değişkenlerin aralarındaki interaksiyonları ortaya koyabilen istatistik tekniklerin bir araya geldiği güçlü bir matematiksel modeldir. Bu model deney dizaynında model geliştirme ve faktör, koşulların optimizasyonunda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Cheynier ve diğ.,1983).

Tez kapsamında antioksidan kapasitesi ve toplam fenol analizleri belirlendikten sonra deneysel çalışmalardan alınan sonuç verilerine göre prosesin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, ultrasonikasyon işlemiyle yaban mersini pulpuna uygulanacak amplitude (titreşim genliği) ve süre faktörleri yönetime işlenmiştir. Bu basamakta kuadratik model uygulanmıştır.

Yanıt yüzey metodu; denemelerin dizayn edilmesi, model geliştirilmesi (regresyon analizi), varyans analizi (ANOVA), optimizasyon olmak üzere 4 kısımda uygulanmaktadır (Eren, 2004).

Birçok yanıt yüzey uygulamasında yanıt ve bağımsız değişken arasındaki ilişki bilinmemektedir. Bu nedenle yanıt yüzey yöntemi için ilk aşama bağımsız değişkenler ile yanıtlar arasındaki ilişkiyi ifade edecek en uygun yaklaşımın tespit edilmesidir. Yanıtlar bağımsız değişkenlerin lineer fonksiyonları ise uygulanacak fonksiyon birinci dereceden modellerdir.

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \dots + \beta_k x_k + \epsilon$$

$$Y = y - \epsilon$$

$\beta_0$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_k$  değerleri regresyon denklik katsayılarını gösterirken,  $y$ , yanıtı,  $\epsilon$  rasgele hatayı,  $Y$  ise yanıtın tahmin edilen değerini göstermektedir.

**Çizelge 4.6.** Central Composite Rotable Dizaynı için seviyeler

Bağımsız Değişkenler	-a	-1	0	1	+a
X <sub>1</sub> Süre	2	5	11	17	20
X <sub>2</sub> Titreşim genliği	20	30	50	70	80

Yaban mersiniden elde edilen meyve pulpu için 2 faktörlü dizayn olduğundan toplamda 13 adet deneme yapılmaktadır.

**Çizelge 4.7.** İki faktörlü Central Composite Rotatable Dizayn için Deneme Planı

Deney No	Süre(dk)	Titreşimgenliği(%)
1	5	70
2	11	20
3	11	50
4	11	80
5	11	50
6	20	50
7	17	70
8	11	50
9	2	50
10	11	50
11	17	30
12	11	50
13	5	30

Polinomial denklemler regresyon denklemleri ile elde edilen verilere uygulanmıştır. Tahmin edilen modelin uygunluğu model uygunsuzluğu (lack of fit) testi ile analiz edilmiştir.

### Modelin Oluşturulması

Optimizasyon için deneme planı Central Composite Rotatable Dizayn kullanılarak elde edilmiştir. Deneme planı uygulanarak yapılmış analizler sonucu bağımsız değişkenlerin yanıtlar üzerine etkisi ANOVA Çizelgesi'nden yararlanılarak belirlenmiştir. Elde edilen yanıtlar Çizelge 4.8'de verilmiştir.

**Çizelge 4.8.** Yaban mersini pulpunun Central Composite Rotatable Dizayn için deneme planı ve elde edilen sonuçlar

Deney No	Süre(dk)	Titreşim genliği (%)	Toplam Fenol (mg/L)	Antioksidan Kapasitesi (mg/g)
1	5	70	7621	110
2	11	20	6541	109
3	11	50	6041	127
4	11	80	9666	159
5	11	50	5625	111
6	20	50	8250	138
7	17	70	8541	140
8	11	50	7791	119
9	2	50	6583	102
10	11	50	6458	140
11	17	30	9208	119
12	11	50	6875	137
13	5	30	6250	109

İşlem değişkenleri ve yanıtlar arasındaki ilişkiyi gösteren modeller çoklu lineer analizi yapılarak oluşturulmuştur. Modelin her biri değişkenine lineer etki terimleri, sonrasında quadratik ve interaksiyon etki terimleri etkilenmiştir. Etkilenen terimler ve kareler toplamında artış ve model uygunsuzluğu testleri yapılmıştır.

Değişkenlerin yanıtlar üzerine etkisi varyans analizi (ANOVA) ile belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.9 ve 4.10'da verilmiştir. *P* değeri 0.05'ten büyük olan etkiler önemsiz olarak kabul edilmiştir.

**Çizelge 4.9.** Yaban mersini pulpunun Yanıtlar üzerine lineer, quadretik ve interaksiyonlarının etkisini gösteren ANOVA sonuçları (1)

Varyans Kaynağı	SD	Toplam Fenol		
		Kareler Toplamı	p-değeri	
Model	5	1.503E + 007	0.1411	Önemsiz
X1	1	5.577E + 005	0.5249	Önemsiz
X2	1	1.817E + 006	0.2664	Önemsiz
X1X2	1	4.603E + 006	0.0961	Önemsiz
X1 <sup>2</sup>	1	7.310E + 006	0.0460	Önemli
X2 <sup>2</sup>	1	2.515E + 005	0.6668	Önemsiz
Kalıntı	7	8.723E + 006		
Model Uygunsuzluğu	3	6.719E + 006	0.0911	Önemsiz
Saf Hata	4	2.004E + 006		
Toplam	12	2.375E +007		

**Çizelge 4.10.** Yaban mersini pulpunun Yanıtlar üzerine lineer, quadretik ve interaksiyonlarının etkisini gösteren ANOVA sonuçları(2)

Varyans Kaynağı	SD	Antioksidatif Kapasite		
		Kareler Toplamı	p-değeri	
Model	4	2323.26	0.0260	Önemli
X1	1	964.50	0.0207	Önemli
X2	1	638.99	0.0474	Önemli
X1X2	1	9.00	0.7883	Önemsiz
X1 <sup>2</sup>	1	710.77	0.0389	Önemli
X2 <sup>2</sup>				
Kalıntı	8	933.82		
Model Uygunsuzluğu	4	147.82	0.9328	Önemsiz
Saf Hata	4	786.00		
Toplam	12	3257.08		

SD: Serbestlik Derecesi, X<sub>1</sub>: Süre, X<sub>2</sub>: Titreşim genliği

Modelde görüldüğü gibi toplam fenol miktarı için model önemsizken antioksidatif kapasite için önemlidir. Ayrıca model, toplam fenol miktarının süre ve titreşim genliği değeri için önemsiz bulunmuştur. Modele göre; antioksidan kapasite için süre ve titreşim genliği (amplitude) değerleri önemli bulunmuştur.

Modelin deneysel verileri ne ölçüde karşıladığını belirlemede regresyon katsayısı, düzeltilmiş regresyon katsayısı değeri ve varyasyon katsayısı değerleri kullanılmıştır. Modelde istatistik olarak önemsiz terimlerin R<sup>2</sup>'yi artırdığından dolayı modelin uygunsuzluğunun değerlendirilmesinde düzeltilmiş R<sup>2</sup> değerinin

kullanılması daha uygundur.  $R^2$  ve düzeltilmiş  $R^2$  değerlerinin birbirine yakın olması modelin istatistik olarak önemsiz terimler içermediği anlamına gelmektedir.

$R^2$  değeri toplam fenol için 0.7522, antioksidan kapasitesi için 0.7009 olarak belirlenmiştir.

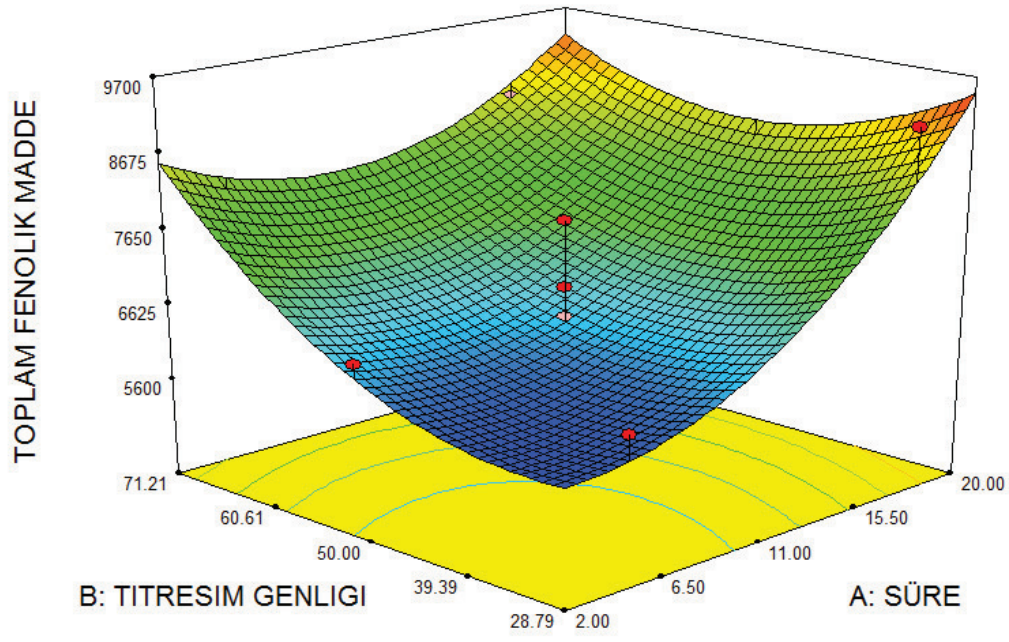
Varyasyon katsayısı değerinin büyük olması verilerin ortalamadan çok saptıklarını, küçük varyasyon katsayısı verilerinin ortalamalara çok yakın olduğunu göstermektedir. Yaban mersini pulpu varyasyon katsayısı toplam fenol için 11.31, antioksidan kapasitesi için 9.12 olarak belirlenmiştir.

Regrasyon modelinin daha sonra tahminleme modeli olarak kullanılabilmesi için Adequate Precision, PRESS VE Pred-  $R^2$  istatistikleri kullanılır. Adequate Precision değerinin 4'den büyük olması gerekmektedir. Çizelge 4.11'de görüldüğü gibi 4'den büyük bulunmuştur.

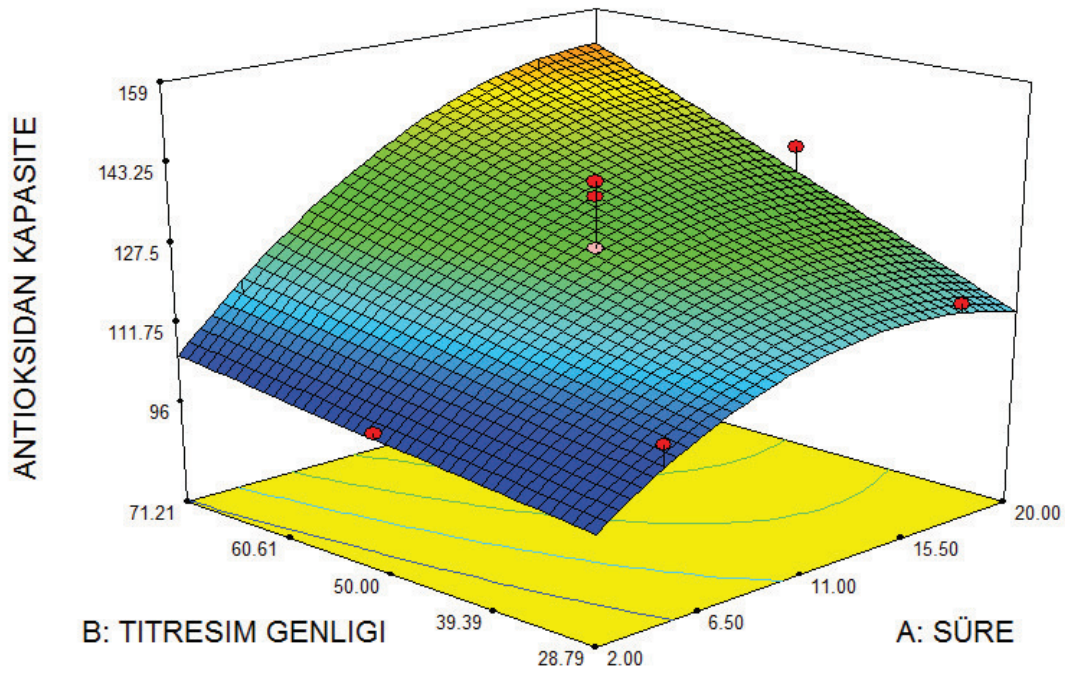
**Çizelge 4.11.** Yaban mersini pulpunun Model Uygunsuzluğu istatistikleri

	Toplam Fenol	Antioksidan Kapasitesi
$R^2$	0.7522	0.7009
$R^2$ adj	0.5753	0.5513
C.V	11.31	9.12
PRESS	1.895E+0.07	2704.87
Pred- $R^2$	0.0269	0.2171
Adeq.Precision	5.635	7.026

Bağımsız değişkenlerin yanıtlar üzerine etkilerini yanıt yüzey grafikleri ve izohipsleri ile görsel olarak görmek mümkündür (Şekil 4.5 ve 4.6).



Şekil 4.5 Yaban mersini pulpu toplam fenol değerleri için yanıt yüzey grafiği



Şekil 4.6. Yaban mersini pulpu antioksidan kapasitesi değerleri için yanıt yüzey grafiği

Grafikte görüldüğü gibi süre ve titreşim genliği değerinde artış ile antioksidatif kapasite artmıştır. Çalışma için optimum nokta; titreşim genliği %80 , süre 20 dak olarak belirlenmiştir.

## 4.2. Meyveli (yaban mersini pulplu) Kefir Sonuçları

Meyveli kefir üretimi için standart kurumadde oranına ulaşabilmek amacıyla yaban mersini pulpunun rotary evaporatörde suyu uzaklaştırılarak kuru maddesi, kefir kuru maddesine yaklaştırılmış ve pulplar pastörize edilip soğutulmuştur. Daha sonra belirlenen oranlarda (%0, 10, 20, 30 ve 40, v/v) pastörize yaban mersini pulpu aseptik bir şekilde kefire ilave edilerek meyveli kefir üretilmiştir.

### 4.2.1. Kuru madde miktarı

Meyveli kefirde tespit edilen ortalama kuru madde değerleri Çizelge 4.12’te verilmiştir. Çizelge 4.12’den görüldüğü gibi, kontrol örneğinde %10.81, meyveli kefir örneklerinde kuru madde %11.07 ile 11.86 arasında değişmiştir.

**Çizelge 4.12.** Farklı oranlarda yaban mersini pulpu ilave edilerek üretilen meyveli kefirlerde depolamanın 1. gününde belirlenen ortalama kuru madde miktarları

Pulp konsantrasyonları(%)	Depolama süresi(1.gün)
0	10,81±0,199C
10	11,07±0,06BC
20	11,22±0,190B
30	11,31±0,096B
40	11,86±0,158A

<sup>A-C</sup>Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

### 4.2.2. pH değeri

Yaban mersininin ezilmesi ve filtrasyonu ile elde edilen pulplarının %0 (kontrol), 10, 20, 30 ve 40 oranlarında kefire ilave edilmesi ile elde edilen meyveli kefirlerde tespit edilen pH değerlerine ait ortalama sonuçlar Çizelge 4.13’te verilmiştir. Çizelgeden görüldüğü gibi, pH değeri en düşük (3.92) %40 meyve ilaveli örnekte, en yüksek (4.49) ise kontrol örneğinde ölçülmüştür.

**Çizelge 4.13.** Farklı oranlarda yaban mersini pulpu ilave edilerek üretilen meyveli kefirlerde depolama süresince belirlenen pH değeri ortalamaları \*

Meyveli kefirlerin pulp konsantrasyonları (%)	Depolama süresi (gün)		
	1	10	21
0	4.49±0.005 Aa	4.49±0.023 Aa	4.49±0.036 Aa
10	4.35±0.005 Ba	4.32±0.020 Ca	4.35±0.020 Ca
20	4.17±0.025 Cc	4.32±0.01 Cb	4.38±0.020 BCa
30	4.057±0.011 Db	4.37±0.011 Ba	4.39±0.017 BCa
40	3.92±0.005 Ec	4.37±0.010 Bb	4.41±0.010 Ba

<sup>a-c</sup>Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

<sup>A-E</sup>Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

Yaban mersini pulpunun kefire ilave edilmesi ile kefirde meydana gelen farklılıkları belirlemek için varyans analizi, farklılıkların hangi ortalamalardan kaynaklandığını belirlemek için Duncan testi yapılmıştır. Meyveli kefirlerde meyve pulpu oranı arttıkça pH değeri azalmıştır, örnekler arasındaki farklılıklar istatistik olarak önemlidir (p<0.05). Depolama süresi ilerledikçe meyve pulpunu yüksek konsantrasyonda içeren bazı örneklerde pH önemli (p<0.05) düzeylerde artmıştır.

#### 4.2.3. Titrasyon asitliği

Tez çalışmamız için hazırladığımız yaban mersini pulplarını %0 (kontrol), 10, 20, 30 ve 40 oranlarında kefire ilave ederek yaptığımız meyveli kefirlerde saptanan titrasyon asitliği değerlerine ait ortalama sonuçlar Çizelge 4.14'te verilmiştir. Çizelge'den görüldüğü gibi, titrasyon asitliği değeri en yüksek (%0.82) %40 meyve ilaveli örnekte, en düşük (%0.63) ise kontrol örneğinde ölçülmüştür.

Gronnevik ve diğ. (2011) tarafından yapılan çalışmada analiz edilen kefir örneklerinin titrasyon asitliği değerleri %0.66-0.73 olarak saptanmıştır. Literatürle çalışmada elde ettiğimiz titrasyon asitliği verilerinin benzer olduğu söylenebilir.

**Çizelge 4.14.** Farklı oranlarda yaban mersini pulpu ilave edilerek üretilen meyveli kefirlerde depolama süresince belirlenen titrasyon asitliği (%) ortalamaları \*

Meyveli kefirlerin pulp konsantrasyonları (%)	Depolama süresi (gün)		
	1	10	21
0	0.63±0.005 Db	0.63±0.005 Eb	0.66±0.023 Aa
10	0.63±0.005 Da	0.67±0.005 Da	0.67±0.098 Aa
20	0.72±0.005 Ca	0.68±0.005 Ca	0.75±0.062 Aa
30	0.77±0.005 Ba	0.80±0.005 Aa	0.65±0.037 Ab
40	0.82±0.005 Aa	0.76±0.005 Bb	0.73±0.047 Ab

<sup>a-b</sup>Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

<sup>A-E</sup>Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

Yapılan istatistik analizleri sonucunda; genel olarak meyveli kefirlerde meyve pulpu oranı arttıkça titrasyon asitliği değerinin önemli düzeyde arttığı anlaşılmıştır (p<0.05). Meyveli kefirlerin titrasyon asitliği depolama süresince, bazı pulp konsantrasyonlarına bağlı olarak önemli (p<0.05) değişikliklere uğramıştır.

#### 4.2.4. Duyusal özellikler

Kefir (kontrol) ve yaban mersinli kefir örneklerinin görünüm, yapı, tat-lezzet, koku, genel kabuledilebilirlik özelliklerinin depolamanın 1, 10 ve 21. günlerindeki değişimleri Çizelge 4.15, 4.16, 4.17, 4.18 ve 4.19'da verilmiştir. Değerlendirmecilere %10, 20, 30 ve 40 yaban mersini pulpu içeren meyveli kefir örnekleri her tekerrür farklı zamanlarda sunulmuştur. Değerlendirmecilerin duyusal değerlendirmelerini etkilememek için örneklerin sırası gelişigüzel seçilmiştir.

#### Görünüm puanı

Depolama süresince elde edilen görünüm puanları Çizelge 4.15'te verilmiş, sonuçlara ait ortalama değerlerin değişimi Şekil 4.7'de gösterilmiştir. Farklı yaban mersini pulp konsantrasyonlarında ürettiğimiz meyveli kefirlerde, değerlendirme tarafından takdir edilen görünüm puanları 6.16 ile 9.34 arasında değişmiştir.

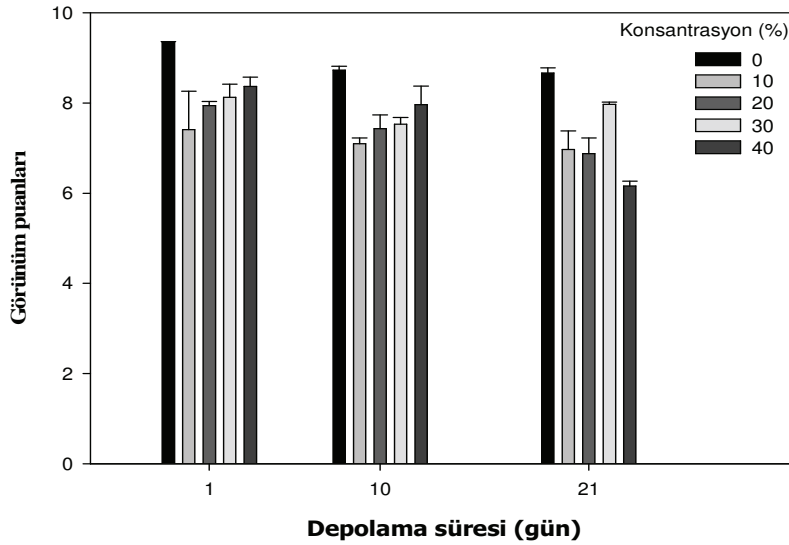
**Çizelge 4.15.** Farklı oranlarda yaban mersini pulpu ilave edilerek üretilen meyveli kefirlerde depolama süresince görünüm puanı ortalamaları \*

Meyveli kefirlerin pulp konsantrasyonları (%)	Depolama süresi (gün)		
	1	10	21
0	9.34±0.024 Aa	8.73±0.085 Ab	8.67±0.110 Ab
10	7.41±0.085 Da	7.10±0.128 Ca	6.97±0.409 Ba
20	7.94±0.098 Ca	7.43±0.305 Ca	6.88±0.344 Bb
30	8.13±0.286 BCa	7.53±0.148 BCb	6.97±0.051 Bc
40	8.37±0.204 Ba	7.96±0.412 Ba	6.16±0.330 Cb

<sup>a-c</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

<sup>A-D</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

Yaban mersini pulpunun %10 ve 20 konsantrasyonda ilave edilmesi kefirlerde görünüm puanlarını önemli (p<0.05) düzeyde azaltmıştır. Duyusal teste katılanlar %30 ve 40 oranında meyve pulpu içeren kefirlerin görünümlerini daha pozitif karşılamışlardır. Bu sonuçlardan; %10 ve 20 pulp konsantrasyonlarının meyveli kefirlerde istenilen görünümü sağlamadığı ve tercih edilmediği, %30 ve 40 konsantrasyonların ise kefirlerde daha koyu bir renge neden olduğundan daha çok beğenildiği iddia edilebilir. Yaban mersini pulpu içeren kefirlerin çoğu örneklerinde görünüm puanları depolama süresinin bazı zamanlarında istatistik önemde azalmıştır (p<0.05). Meyveli kefirlerin görünüm puanlarında depolama süresince meydana gelen değişimler Şekil 4.7’de gösterilmiştir.



**Şekil 4.7.** Yaban mersini pulpu ilave edilen kefirlerin depolama süresince görünüm puanları değişimi

## Yapı puanları

Yapımı gerçekleştirilen değişik pulp içeriklerine sahip kefirlerin depolamanın 1, 10 ve 21. günlerinde aldığı yapı puanları Çizelge 4.16’da verilmiş, sonuçlara ait ortalama değerlerin değişimi ise Şekil 4.8’de gösterilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda meyve pulpu katılan kefirlerin yapı puanları 6.58 ile 9.10 arasında değişim göstermiştir.

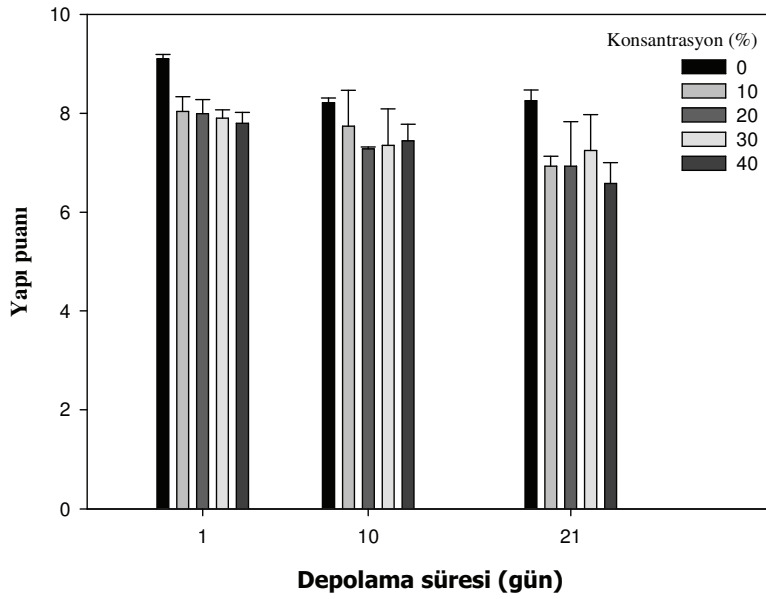
**Çizelge 4.16.** Farklı oranlarda yaban mersini pulpu ilave edilerek üretilen meyveli kefirlerde depolama süresince yapı puanı ortalamaları \*

Meyveli kefirlerin pulp konsantrasyonları (%)	Depolama süresi (gün)		
	1	10	21
0	9.10±0.092 Aa	8.21±0.098 Ab	8.25±0.222 Ab
10	8.04±0.297 Ba	7.74±0.722 Aab	6.93±0.199 Bb
20	7.99±0.285 Ba	7.28±0.040 Aa	6.93±0.901 Ba
30	7.90±0.167 Ba	7.35±0.737 Aa	7.25±0.724 ABa
40	7.80±0.218 Ba	7.44±0.338 Aa	6.58±0.420 Bb

<sup>a-b</sup>Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

<sup>A-B</sup>Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

Kefirlerin yapı puanları açısından aralarında farklılık olup olmadığını belirlemek için Duncan çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. Testin sonuçlarına göre, meyve pulpu ilavesinin meyveli kefirlerin yapı puanlarını istatistik önemde azalttığı anlaşılmıştır. Üretilen kefirlerden en düşük yapı puanını 6.58 ile %40 yaban mersini pulpu içeren kefir, depolamanın 21. gününde almıştır. Meyve pulpunu %20 ve 30 içeren kefir örneklerinin yapı puanları, depolama zamanlarında istatistik önemde bir değişikliğe uğramamıştır (p>0.05).



**Şekil 4.8.** Yaban mersini pulpu ilave edilen kefirlerde depolama süresince yapı puanları değişimi

Şekil 4.8’de görüldüğü üzere, meyveli kefirlerin yapı puanları kontrol, %10 ve %40 meyve pulplu örneklerde depolamanın bazı zamanlarında azalmıştır.

### Tat-lezzet puanları

Duyusal kalitesi tespit edilecek meyveli kefirlerin depolama süresince elde edilen tat-lezzet puanları Çizelge 4.17’de verilmiş, sonuçlara ait ortalama değerlerin değişimi Şekil 4.9’da gösterilmiştir. Yaban mersini pulpunu farklı konsantrasyonlarda içeren kefirlerin tat-lezzet puanları 5.56 ile 8.77 arasında değişmiştir.

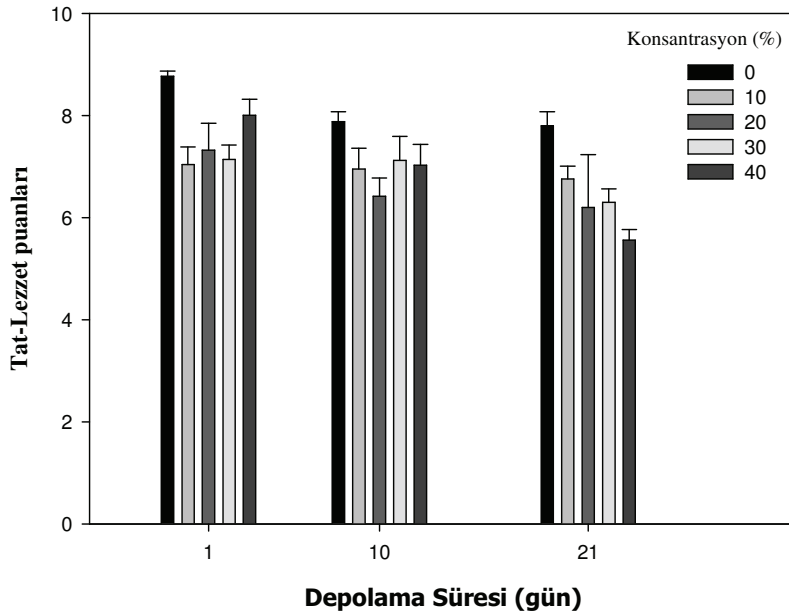
**Çizelge 4.17.** Farklı oranlarda yaban mersini pulpu ilave edilerek üretilen meyveli kefirlerde depolama süresince tat-lezzet puanı ortalamaları \*

Meyveli kefirlerin pulp konsantrasyonları (%)	Depolama süresi (gün)		
	1	10	21
0	8.77±0.106 Aa	7.88±0.196 Ab	7.80±0.277 Ab
10	7.04±0.345 Ca	6.35±0.411 Ca	6.76±0.251 Ba
20	7.32±0.532 Ca	6.42±0.357 BCa	6.20±1.039 BCa
30	7.14±0.285 Ca	7.12±0.473 Ba	6.30±0.264 BCb
40	8.01±0.310 Ba	7.03±0.404 BCb	5.56±0.208 Cc

<sup>a-c</sup>Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

<sup>A-C</sup>Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

Meyve pulunu ilavesi ve konsantrasyonu ile depolama süresi meyveli kefirlerin tat-lezzet puanlarını istatistik düzeyde etkilemiştir. Depolamanın başlangıcında tat-lezzet puanları bakımından kontrolden sonra en çok beğenilen örnekler %40 pulp içeren kefirler olmuştur. Depolamanın 10. gününde kontrole en yakın tat-lezzet puanını ise %30 pulplu kefirler almıştır. Depolamanın sonunda tat-lezzet puanı en çok %40 pulp içeren meyveli kefirlerde azalmıştır. Bu sonuçlardan, depolama süreleri de dikkate alındığında tat ve lezzet açısından meyveli kefir üretiminde en uygun yabancı mersini pulpu konsantrasyon oranının %30 olduğu kabul edilebilir.



**Şekil 4.9.** Yabancı mersini pulpu ilave edilen kefirlerde depolama süresince tat-lezzet puanları değişimi

10 ve 21. günlerde %0 ve %20 oranında pulp içeren kefirlerin tat-lezzet puanları oldukça birbirine yakınken diğer kefirlerin puanları genelde azalma eğilimi göstermektedir. Ayrıca en düşük puanı 21.gün %40 pulp içeren meyveli kefir almıştır (Şekil 4.9).

#### **Koku puanları**

Depolama zamanlarında meyveli kefirlerde değerlendirmecilerin verdiği koku puanları Çizelge 4.18’de verilmiştir. Çizelgeden görüldüğü gibi, tezimizde ürettiğimiz meyveli kefirler 6.91 ile 9.03 arasında koku puanları almışlardır.

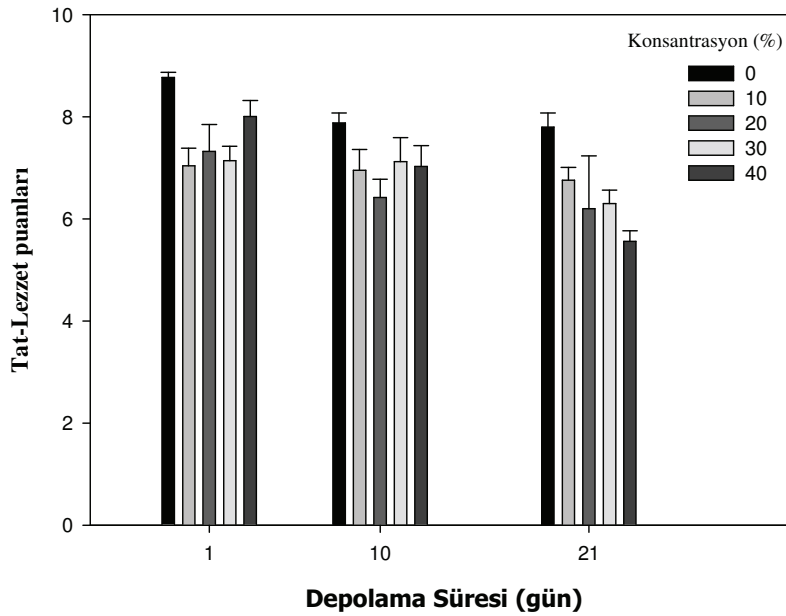
**Çizelge 4.18.** Farklı oranlarda yabancı mersini pulpu ilave edilerek üretilen meyveli kefirlerde depolama süresince koku puanı ortalamaları\*

Meyveli kefirlerin pulp konsantrasyonları (%)	Depolama süresi (gün)		
	1	10	21
0	9.03±0.249 Aa	8.09±0.023 Ab	7.64±0.023 Ac
10	7.03±0.660 Ba	6.91±0.363 Ca	7.58±0.221 Aa
20	7.55±0.788 Ba	7.14±0.446 BCa	7.15±0.450 Aa
30	7.77±0.487 Ba	7.88±0.631 ABa	7.56±0.325 Aa
40	7.94±0.255 Ba	7.69±0.206 ABa	7.47±0.273 Aa

<sup>a-c</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden  $p < 0.05$  düzeyinde farklıdır.

<sup>A-C</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden  $p < 0.05$  düzeyinde farklıdır.

Meyveli kefirlerde depolama süresine ve pulp konsantrasyonlarına bağlı olarak oluşabilecek farklılıkları ortaya koymak amacıyla koku verilerine Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Depolamanın ilk gününde meyve pulpu içeren kefir örneklerinin koku puanları kontrol örneklerinden önemli derecede ( $p < 0.05$ ) daha düşüktür. Depolamanın 10. gününde %30 ve 40 oranında pulp içeren örneklerin koku puanları kontrol örneklerinden 0.05 seviyesinde istatistik olarak farksızdır. Depolamanın sonunda ise örneklerin koku puanları arasında önemli bir farklılık söz konusu değildir (Çizelge 4.18). Depolama zamanlarında koku puanları sadece kontrol örneklerinde önemli düzeyde azalmıştır ( $p < 0.05$ , Şekil 4.10).



**Şekil 4.10.** Yabancı mersini pulpu ilave edilen kefirlerde depolama süresince koku puanları değişimi

Koku puanları üzerinden yapılacak değerlendirmede, meyveli kefir üretiminde yaban mersini pulpunun %30 ve %40 konsantrasyonlarında katılması önerilebilir.

### Genel kabuledilebilirlik puanları

Tez kapsamında üretilen meyveli kefirlerin depolama zamanlarında aldıkları genel kabuledilebilirlik puanları Çizelge 4.19’da verilmiştir. Depolama süresince, konsantrasyonlara bağlı olarak, meyveli kefirlerin genel kabul edilebilirlik puanlarında meydana gelen değişiklikler Şekil 4.11’de gösterilmiştir. Meyve konsantrasyonuna göre üretilen kefirlerin genel kabuledilebilirlik puanları 6.38 ile 9.5 arasında değişmiştir.

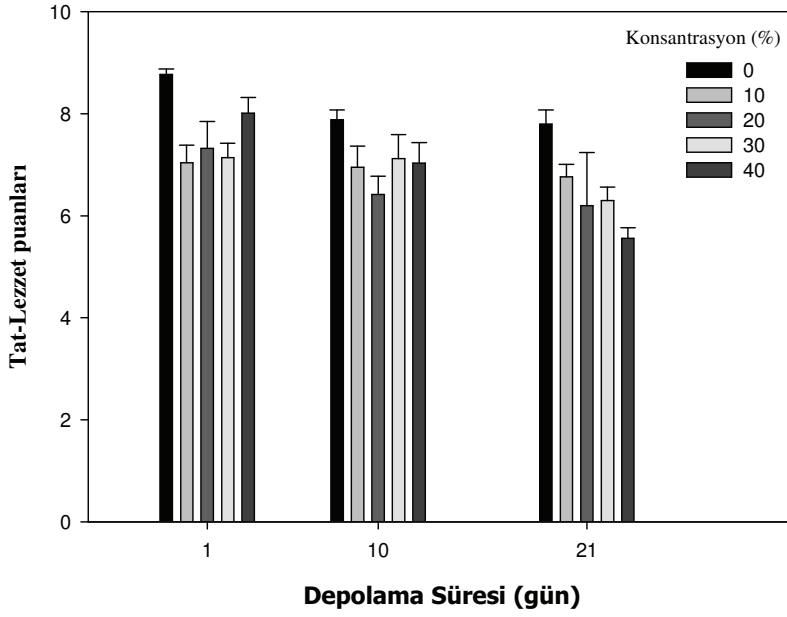
**Çizelge 4.19.** Farklı oranlarda yaban mersini pulpu ilave edilerek üretilen meyveli kefirlerde depolama süresince genel kabuledilebilirlik puanı ortalamaları \*

Meyveli kefirlerin pulp konsantrasyonları (%)	Depolama süresi (gün)		
	1	10	21
0	9.50±0.00 Aa	7.58±0.080 Ac	8.61±0.348 Ab
10	7.32±0.423 Ca	6.73±0.160 Ba	7.09±0.494 Ba
20	7.37±0.040 Ca	6.83±0.520 Ba	6.59±0.830 Ba
30	7.59±0.241 Ca	7.13±0.216 ABab	6.90±0.306 Bb
40	8.07±0.213 Ba	7.41±0.175 Aab	6.38±1.027 Bb

<sup>a-c</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

<sup>A-C</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

Depolamanın ilk gününde genel kabuledilebilirlik puanları açısından pulp içeren meyveli kefirlerin, kontrol örneğinden (pulp içermeyen) daha düşük (p<0.05) değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir. Depolamanın 10. gününde %30 ve 40 meyve pulpu içeren örneklerin genel kabul edilebilirlik puanları istatistik açıdan kontrol örneklerinden farklı değildir (Çizelge 4.19). Depolamanın sonunda ise genel kabul edilebilirlik puanları azalmıştır (Şekil 4.11).



**Şekil 4.11.** Yaban mersini ilave edilen kefirlerde depolama süresince genel kabuledilebilirlik puanları değişimi

Genel kabuledilebilirlik puanları açısından, depolama zamanları da dikkate alındığında, meyveli kefirle katılması gereken en uygun yaban mersini pulpu konsantrasyonunun %30 olduğu söylenebilir.

Duyusal değerlendirmeler sonucunda en uygun pulp konsantrasyonu olarak %30 tercih edilerek üretilen meyveli kefirlerde yapılan analizlerin sonuçları aşağıda verilmiştir.

### 4.3 Optimize Meyveli (%30 pulp ilave edilmiş) Kefir Sonuçları

Tezimizde ilk üretimde, değerlendirmecilerin verdiği duysal puanlar ve depolama zamanları da dikkate alınarak %30 pulp konsantrasyonunun meyveli kefirlerde beğeniyi en çok arttırdığı kabul edilmiştir. İkinci üretimde ise konsantrasyon %30 sabit alınarak meyve pulpları 2 farklı özellikte hazırlanmıştır. Bunlar; (1) yeni teknoloji uygulanmamış pulplar, (2) düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış pulplar şeklindedir. Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış pulp ve işlem uygulanmamış çiğ pulp hazırlandıktan sonra 80-85 °C'de 10 dak pastörize edilmiştir. Optimize kefirlerin üretimi için kullanılan süt ve kefirde yapılan analizler (toplam kurumadde, pH, titrasyon asitliği ve yağ değerleri) materyal metot kısmında verildiği

gibi gerçekleştirilmiştir. Farklı özelliklerde hazırlanan pulplarda belirlenen kurumadde, pH ve titrasyon asitliği değerleri sırası ile yaban mersini pulpunda %9.5, 3.45 ve %3.53; düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpunda %10.11, 3.45 ve %3.22, pastörize yaban mersini pulpunda %10.11, 3.45 ve %3.24 olarak belirlenmiştir.

Üç farklı özellikte yaban mersini pulplarından %30 katılarak üretilen meyveli kefirlerde 1, 10 ve 21 günlük depolama süreleri sonlarında fizikokimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır.

#### 4.3.1. Kuru madde miktarı

Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpunun kurumaddesi kefire göre ayarlanarak hazırlanan pulp pastörize edilmiştir. Hazırlanan yaban mersini pulpu ilave edilen kefirlerde belirlenen kuru madde miktarları Çizelge 4.20’de verilmiştir. Çizelgeden görüldüğü gibi kurumadde miktarı %9.65 ile 10.09 arasında tespit edilmiştir.

**Çizelge 4.20.** Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolamanın 1. gününde kuru madde miktarı (%) ortalamaları \*

Örnek	Depolama süresi (1. gün)
Kefir	9.65±0.316 A
Kefir + DUYMP	10.09±0.316 A
Kefir + YMP	9.94±0.439 A

\*: DUYMP: Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu, YMP: Yaban mersini pulpu

<sup>A</sup>: Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen değerler arasında p>0.05 düzeyinde fark yoktur.

#### 4.3.2. pH değeri

Yaban mersinini %30 konsantrasyonda içeren meyveli kefirlerin 21 gün içerisinde ölçtüğümüz pH değerleri Çizelge 4.21’de verilmiştir. pH değeri en yüksek (4.43) depolamanın 1. gününde kontrol örneğinde, en düşük (4.21) ise düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış pulp içeren kefirlerde ölçülmüştür.

Norveç bölgesinden alınmış hazır kefirlerin pH değerleri 4.38-4.61 arasında değişim göstermiştir (Gronnevik ve diğ., 2011). Bu literatürün pH değerleri bulgularımızla paralellik göstermiştir.

**Çizelge 4.21.** Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolama süresince pH değerleri ortalamaları \*

Örnek	Depolama süresi (gün)		
	1	10	21
Kefir (kontrol)	4.43±0.030 Aa	4.36±0.049 Aa	4.39±0.026 Aa
Kefir + DUYMP	4.21±0.010 Bc	4.37±0.020 Ab	4.40±0.010 Aa
Kefir + YMP	4.23±0.034 Bb	4.38±0.010 Aa	4.38±0.020 Aa

\*: DUYMP: Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu, YMP: Yaban mersini pulpu

<sup>a-c</sup>Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

<sup>A-B</sup>Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

Meyve pulpunun %30 oranında ilave edilmesi, kontrole göre, kefirin pH değerlerini önemli (p<0.05) düzeyde azaltmıştır. Depolamanın 10 ve 21. günlerinde ise meyve ilavesinden kaynaklanan pH farklılıkları istatistik önemini kaybetmiştir.

### 4.3.3. Titrasyon asitliği

Çalışmamızda değişik işlemlerle üretilen pulpların kefire katılmasıyla hazırlanan kefirlerin depolama süresince % titrasyon asitlikleri laktik asit cinsinden belirlenmiş olup, ortalama değerler Çizelge 4.22’te verilmiştir. Meyveli kefirlerin titrasyon asitlikleri %0.53 ile 0.78 arasında saptanmıştır. Bu duruma göre; titrasyon asitliği yönünde deneme kefirlerimiz Fermente Süt Tebliği’ne uygunluk göstermiştir.

**Çizelge 4.22.** Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolama süresince % titrasyon asitliği değerleri\*

Örnek	Depolama süresi (gün)		
	1	10	21
Kefir	0.61±0.023 Ab	0.65±0.051 Ab	0.78±0.045 Aa
Kefir + DUYMP	0.58±0.045 Aab	0.53±0.023 Bb	0.68±0.100 Aa
Kefir + YMP	0.58±0.045 Aab	0.57±0.028 Bb	0.64±0.028 Aa

\*: DUYMP: Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu, YMP: Yaban mersini pulpu

<sup>a-b</sup>Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

<sup>A-B</sup>Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

Kefirlere depolama süresinin ve içerdikleri meyve pulplarının etkilerini, meydana getirdiği değişim ve farklılıkları ortaya koymak için elde edilen sonuçlara istatistik analizler yapılmıştır. Depolama süresinin 1 ve 21. günlerinde pulp ilaveli veya ilavesiz örnekler arasında önemli bir farklılık söz konusu değildir. Depolamanın sonunda ise kefir örneklerinin tamamında titrasyon asitliği önemli (p<0.05) düzeyde

artmıştır. Bu durum kefir kaynaklı laktik asit bakterilerinin depolama süresince laktozu fermente etmeye devam etmesinden kaynaklanmış olabilir.

#### **4.3.4. Mikroorganizma sayıları**

Duyusal analizler sonucu belirlenen %30'luk meyve pulp konsantrasyonu dikkate alınarak bu konsantrasyonda 2 farklı özellikte pulp içecek şekilde 2 farklı meyveli kefir üretimi gerçekleştirilmiştir. Pulp oranları aynı (%30) olan kefirlerin sadece içerdikleri pulpların özellikleri (uygulanan işlemler) farklı olmuştur. Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu ile hazırlanmış meyveli kefir, işlem uygulanmamış yaban mersini pulpu ile hazırlanmış meyveli kefir ve kefir örneklerine 1, 10 ve 21. günlerde mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Yapılan mikrobiyolojik analizler lactobacilli, leuconostoc, lactococci ve maya-küf 4 gruptan oluşur.

#### **Lactobacilli sayısı**

Kefir içeceği yapısında laktik asit bakterileri ihtiva eder. Lactobacilli'ler de laktik asit bakterilerinden bir tanesidir. Farklı özelliklerde yaban mersini pulplarından %30 içecek şekilde üretilen kefirlerin depolama süresi boyunca içerdikleri lactobacilli sayıları Çizelge 4.23'te verilmiştir. Çizelgeden de görüldüğü üzere, lactobacilli en yüksek (9.59) işlem uygulanmamış yaban mersini pulpu ilave edilmiş kefirde, en düşük (7.62) ise pulp içermeyen sade kefirde sayılmıştır.

Atalar (2012) ticari kültürden ürettiği kefirlerde lactobacilli sayısını  $4.9 \times 10^8$ - $7.24 \times 10^9$  log kob/mL arasında tespit etmiştir.

Irigoyen ve diğ. (2005) %5'lik inokülasyon oranı ile 24 saat inkübasyon sonunda ürettiği kefirlerde lactobacilli sayısını 8 log kob/mL olarak belirlemişlerdir.

Fontan ve diğ. (2006) inek sütlerinden ticari starter kültürle üretilen kefirlerde 24 saatlik inkübasyon sonucu lactobacilli 7.2 log kob/mL olarak saymışlardır.

Literatürle sonuçlarımızı kıyasladığımızda genelde sonuçlar arasında benzerlik olduğu ileri sürülebilir.

**Çizelge 4.23.** Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolama süresince lactobacilli sayıları (log kob/mL)\*

Örnek	Depolama süresi (gün)		
	1	10	21
Kefir	8.62±0.436 Aa	7.62±0.235 Cb	8.17±0.304 Aab
Kefir + DUYMP	8.19±0.163 Aa	8.29±0.128 Ba	8.43±0.100 Aa
Kefir + YMP	8.37±0.164 Ab	9.59±0.034 Aa	7.66±0.166 Bc

\*YMP: Yaban mersini pulpu, DUYMP: Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu

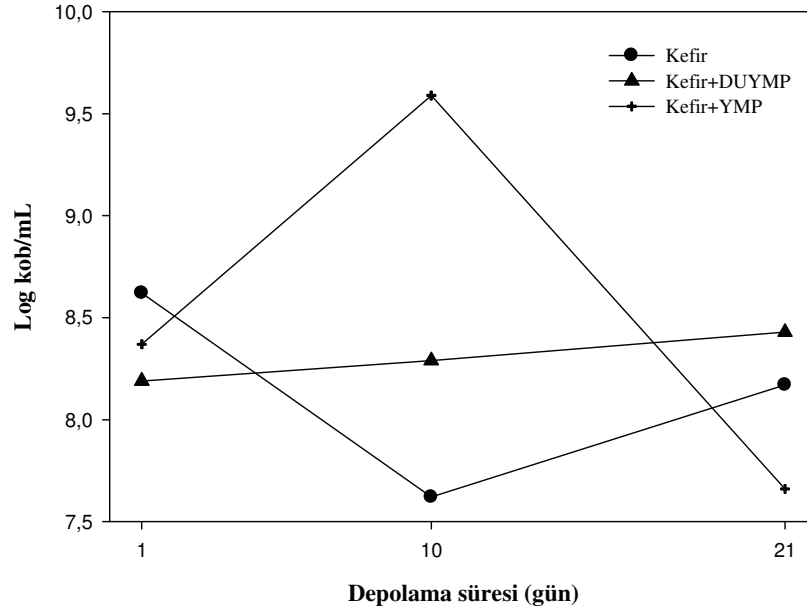
<sup>a-c</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

<sup>A-C</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

Kontrol ve işlem uygulanmamış pulp ilaveli kefir örneklerinde lactobacilli sayısında lineer bir artış söz konusu olmaksızın depolamanın 10 ve 21. günlerinde örneklerde dalgalanmalar meydana gelmiştir.

Yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testine göre, depolamanın 10. gününde işlem uygulanmamış yaban mersini pulpundan içeren kefirlerde lactobacilli diğerlerinden önemli (p<0.05) derecede daha yüksek sayılmıştır. Depolamanın sonunda ise en yüksek lactobacilli, düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış pulp içeren kefir örneklerinde saptanmıştır, ancak diğer örneklerdeki sayılarla aradaki farklılıklar istatistik olarak önemsizdir (p>0.05).

Lactobacilli gelişimi açısından, yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış pulpla üretilen kefirlerin, diğerlerine göre, depolama süresince daha stabil bir ortam oluşturduğu söylenebilir (Şekil 4.12). Depolama süresince %30 pulp içeren sade (kontrol) ve meyve pulplu kefirlerde ise lactobacilli inişli çıkışlı bir gelişme göstermiştir. Bu farklılıklar, mikroorganizmaların gelişmeleri için kullandıkları laktoz şekerinin konsantrasyonunun yaban mersini pulpu ilavesiyle değişmesiyle ilişkilendirilebilir.



**Şekil 4.12.** Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolama süresince lactobacilli sayılarının değişimi\*

\*: DUYMP: Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu, YMP: Yaban mersini pulpu

### Leuconostoc sayısı

Tezimizde kefirlerin depolama süresince mikrofloralalarında gelişen leuconostoc'lar sayılmıştır (Çizelge 4.24). Kontrol, yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon işlemine tabi tutulmuş pulplu kefir ve işlem uygulanmamış pulplu kefirlerin 21 gün depolama süresince leuconostoc sayıları 5.36-7.77 log kob/mL arasında değişmiştir.

Fontan ve diğ. (2006) inek sütlerinden ticari starter kültürle ürettikleri kefirlerde leuconostoc sayılarını 6.5-7 log kob/mL olarak saptamışlardır.

Gronnevik (2010) yaptığı bir çalışmada, Norveç'te tüketilen kefirlerde leuconostoc sayılarını ortalama 7 log kob/mL olarak saptamıştır.

Yapılan bir çalışmada UHT inek sütünden hazırlanan kefirde leuconostoc sayıları  $5.75 \times 10^6$ - $1.5 \times 10^8$  log kob/mL olarak tespit edilmiştir (Atalar, 2012).

Literatür çalışmalarında tespit edilen leuconostoc sayılarıyla tez kapsamında bulduğumuz sonuçların paralellik gösterdiği söylenebilir.

**Çizelge 4.24.** Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolama süresince leuconostoc sayıları (log kob/mL)\*

Örnek	Depolama süresi (gün)		
	1	10	21
Kefir (kontrol)	6.02±0.589 Ab	7.50±0.025 Ba	6.94±0.093 Ba
Kefir + DUYMP	5.82±0.187 Ab	7.46±0.047 Ba	7.57±0.284 Aa
Kefir + YMP	5.36±0.170 Ac	7.77±0.074 Aa	6.83±0.132 Bb

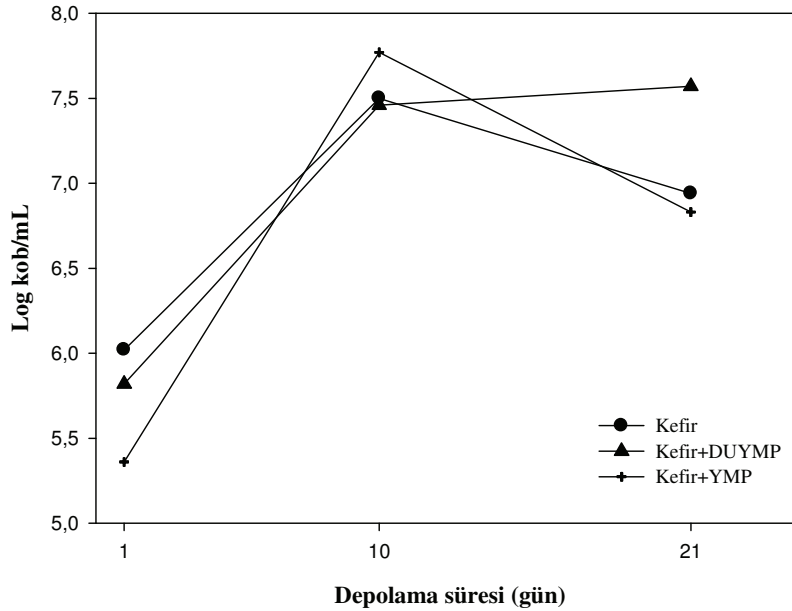
\*YMP: Yaban mersini pulpu, DUYMP: Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu

<sup>a-c</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

<sup>A-B</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

Kefirlerin sade veya meyveli örneklerinde leuconostoc sayıları depolamanın başında birbirinden farklı değildir (p>0.05). Depolamanın 10. gününde ise leuconostoc'lar 0.05 istatistik seviyesinde çoğalmıştır. Depolamanın sonunda ise daha önceki zamana göre önemli bir değişiklik meydana gelmemiştir, ancak düşük yoğunluklu ultrasonikasyon işlemine tabi tutulmuş pulplu kefirlerin leuconostoc sayıları diğerlerinden daha (p<0.05) yüksektir.

Kefir örneklerin tamamında, depolamanın 10. gününde leuconostoc sayıları artmış, daha sonraki zamanda ise bir miktar azalmıştır (Şekil 4.13).



**Şekil 4.13.** Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolama süresince leuconostoc sayılarının değişimi

\*: DUYMP: Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu, YMP: Yaban mersini pulpu

## Lactococci sayısı

Çalışmamızda ikinci üretimde yaptığımız meyveli kefir örneklerinde tespit ettiğimiz lactococci sayıları Çizelge 4.25'te verilmiştir. Çizelgeden, meyveli kefirlerde lactococci sayısının 8.31-9.44 log kob/mL arasında değiştiği görülmüştür.

Atalar (2012) çalışmasında starter kültürle yaptığı kefirin lactococci sayılarını  $4.9 \times 10^8$ - $7.24 \times 10^9$  log kob/mL aralığında tespit etmiştir.

Irigoyen ve diğ. (2005), süte %5'lik inokülasyon yaparak 24 saat inkübasyona tabi tutması sonucu elde ettiği kefirlerin lactococci sayısını 8 log kob/mL olarak saptamıştır.

Yapılan bir çalışmada kefirlerin lactococci sayısı ortalama 7.2 log kob/mL olarak belirlenmiştir (Fontan ve diğ., 2006).

**Çizelge 4.25.** Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolama süresince lactococci sayıları (log kob/mL)\*

Örnek	Depolama süresi (gün)		
	1	10	21
Kefir (kontrol)	9.32±0.325 Aa	8.61±0.026 Bb	8.46±0.077 Bb
Kefir + DUYMP	9.44±0.108 Aa	9.27±0.233 Aa	8.31±0.245 Bb
Kefir + YMP	9.18±0.024 Aa	8.90±0.164 Bb	8.95±0.001 Ab

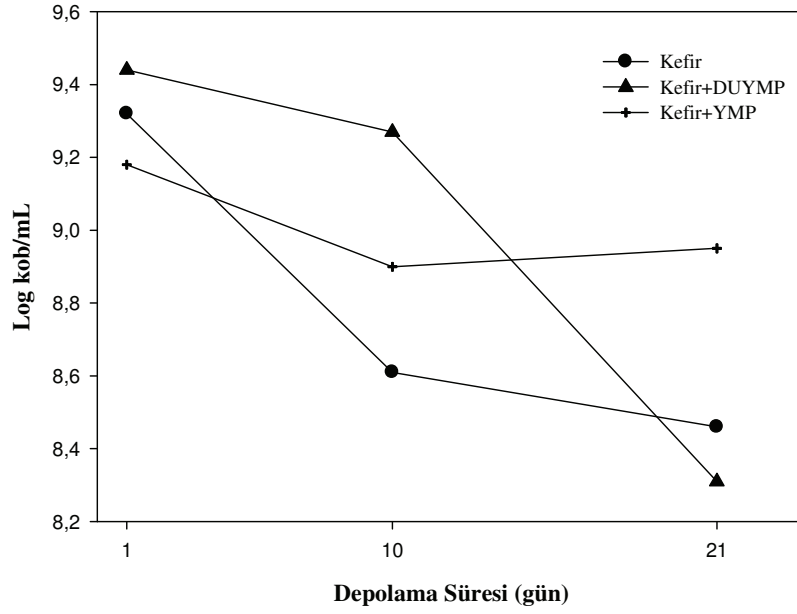
\*YMP: Yaban mersini pulpu, DUYMP: Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu

<sup>a-b</sup>Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

<sup>A-B</sup>Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

Yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testine göre, lactococci sayıları arasında 1. gün hariç depolama zamanlarında bazı önemli farklılıklar vardır.

Depolama süresince pulp içeren veya içermeyen kefirlerin lactococci sayılarında önemli veya önemsiz bazı azalmalar olmuştur (Şekil 4.14).



**Şekil 4.14.** Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolama süresince lactococci sayılarının değişimi

\*: DUYMP: Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu, YMP: Yaban mersini pulpu

### Maya-küf sayısı

Tez kapsamında üretimi gerçekleştirilen farklı özellikler taşıyan ve %30 oranında pulp içerikli kefirlerde belirlenen maya-küf sayıları Çizelge 4.26'da verilmiştir. Analiz edilen kefir örneklerinde maya-küf sayısı 2.36-4.77 log kob/mL arasında değişmiştir.

Yapılan bir çalışmada hem kültür hem kefir tanesi ile kefir üretimi gerçekleştirilmiş ve çalışma sonucunda kültürle üretilen kefirlerde mayaya rastlanmamıştır (Atalar, 2012).

Fontan ve diğ. (2006) starter kültürle inek sütünden 24 saat inkübasyon sonucu ürettikleri kefirlerde maya sayısını 1 log kob/mL'nin altında tespit etmişlerdir.

Norveç'te piyasada satılan kefirlerde yapılan çalışmada maya sayısı 3.3 log kob/mL olarak belirlenmiştir (Gronnevik ve diğ., 2011).

**Çizelge 4.26.** Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolama süresince maya-küf sayıları (log kob/mL)\*

Örnek	Depolama süresi (gün)		
	1	10	21
Kefir	3.02±0.589 Ab	4.50±0.025 Ba	3.94±0.093 Ba
Kefir + DUYMP	2.82±0.187 Ab	4.46±0.047 Ba	4.57±0.284 Aa
Kefir + YMP	2.36±0.170 Ac	4.77±0.074 Aa	3.83±0.132 Bb

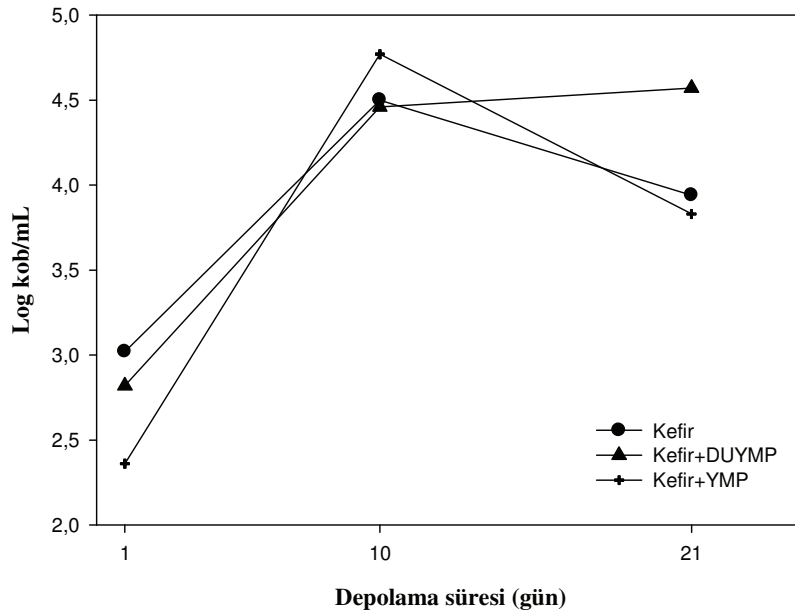
\*YMP: Yaban mersini pulpu, DUYMP: Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu

<sup>a-b</sup> Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

<sup>A-B</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

Yapılan istatistik analizlerde, 1. gün hariç depolama zamanlarında örneklerin maya-küf sayıları arasında bazı önemli farklılıkların bulunduğu anlaşılmıştır.

Depolama süresinin 10 ve 20. günlerinde maya sayıları artmıştır, aradaki farklılıklar 1. güne göre 0.05 istatistik seviyesinde önemlidir (Şekil 4.15).



**Şekil 4.15.** Meyveli (%30 kokulu yaban mersini pulpu ilave edilmiş) kefirlerde depolama süresince maya sayıları değişimi\*

\*: DUYMP: Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon uygulanmış yaban mersini pulpu, YMP: Yaban mersini pulpu



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışmamızda, ultrasonikasyon uygulamalarının yaban mersini pulpunun fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine etkisi araştırılmış ve bu uygulamalarla üretilen pulplar kefir üretiminde kullanılarak oluşturulan yeni ürünün duyuusal, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında yaban mersini meyvesinin preslenip filtre edilmesiyle elde edilen pulpların toplam fenol ve antioksidatif kapasite değerleri yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimize edilmiştir. Düşük yoğunluklu ultrasonikasyon için belirlenen optimum çalışma noktası ile yüksek yoğunluk ultrasonikasyon uygulamasının etkinliği ve meyvenin işlem uygulanmamış hali ile karşılaştırılmıştır.

- Yapılan her iki analiz (FRAP ve DPPH) sonuçlarına göre; önemli etkisi bulunmasa da düşük ve yüksek yoğunluklu ultrasound teknikleri pulpların antioksidatif kapasitesini artırmıştır. Günlük alınması tavsiye edilen düzeyler dikkate alındığında, bu artışlar insan sağlığını iyileştirici ve düzenleyici etkileri açısından önem arz etmektedir.
- En yüksek toplam fenol miktarı yüksek yoğunluk ultrasonikasyon uygulanmış pulpta 8166.66 mg GAE/L olarak belirlenmiştir. Bu durum fenolik bileşik salınımını artırmak anlamına geldiğinden dolayı, ultrasonikasyon, meyve suyu endüstrisinde maserasyon işlemi için destek ekipman olarak düşünülebilir.
- Yaban mersini pulplarının antosiyanin değerlerini ultrasonikasyon uygulamaları (probu ve banyo) artırmıştır. Uygulanan işlemlerin malvidin değerleri üzerinde önemli bir değişikliğe neden olmadığı ancak cyanidin değerlerine etkisinin önemli olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla bu tekniklerden meyve suyu üretiminde arzu edilen maximum renk ekstraksiyonu için faydalanılabilir.

- İşlem uygulamalarının renk değerleri ( $L$ ,  $a$  ve  $b$ ) üzerine etkisi istatistik olarak önemli olmasa bile işlem uygulamaları  $L$  değerlerinde azalmalara  $a$  ve  $b$  değerlerinde ise artışlara sebep olmuştur. Ultrasonikasyon tekniklerinin pulplarda kırmızı ve mavi rengi artırması, meyve suyu endüstrisinde bu tekniklerin ürünlerin görünümlerini düzeltmek adına doğal çözüm olabilecekleri söylenebilir.
- Ultrasonikasyon tekniklerinin gallik asit, epigallokateşin, kateşin, epikateşin, resveratrol, kateşin gallat ve quarcetinhidrat üzerine etkili olduğu saptanırken gallokateşin üzerine etkisi saptanmamıştır. Ultrasonikasyon salınımı en çok epigallokateşin ve epikateşinde artırmıştır. Bu sonuçlar insan ürün kalitesi ve insan sağlığını arttırmak için dikkate değer olabilir.
- Farklı oranlarda (%0, 10, 20, 30 ve 40) pulp katılarak hazırlanan meyveli kefirlerde depolama süresince (21 gün) meyve pulpu ilavesinden dolayı pH değerlerinin düşmesi ve titrasyon asitliği değerlerinin artması beklenen bir sonuçtur.
- Yaban mersini pulpu ilaveli meyveli kefir örneklerinin görünüm, yapı, tat-lezzet, koku, genel kabuledilebilirlik özelliklerinin depolamanın 1, 10 ve 21. günlerindeki değişimi incelenerek en uygun konsantrasyonun %30 (v/v) yaban mersini pulpu ilaveli kefir olduğu belirlenmiştir.
- Ultrasonikasyon uygulanmış pulp ile hazırlanan kefirde depolama boyunca lactobacilli sayısında önemli artışlar olsa bile genel olarak kefiirlere ait lactobacilli sayıları birbirlerine yakındır.
- En düşük (5.36 log kob/mL) ve en yüksek (7.77 log kob/mL) leuconostoc sayılarına işlem uygulanmamış pulp ilaveli kefirlerde rastlanmıştır. Kefirlerdeki pulp varlığı 1-10 gün arasında leuconostoc gelişimini hızlandırmıştır.
- Kefir örneklerinin lactococci sayısında 21 gün depolama boyunca 1 log kob/mL'yi aşan bir değişim olmadığı depolama günü arttıkça lactococci sayısında önemli azalmaların olduğu saptanmıştır.
- Optimize kefirlerin maya-küf sayısında depolamanın ilk on gününde işlem uygulanmamış pulp katılan kefirin maya sayısında 2.41 log kob/mL artış olduğu saptanmıştır. Ayrıca literatürle kıyaslandığında maya sayısı ortalama

1-1.5 log kob/mL fazla olup bu artış pulp ilavesiyle ilişkilidir. Yapılan işlemlerin depolama arttıkça etkinlikleri sonuçlara yansımıştır.

- Genel olarak optimize kefirlerin depolama boyunca mikrobiyolojisine bakıldığında pulp ilavesine bağlı olarak mikroorganizma sayılarında dalgalanmalar meydana gelmiştir. Ancak bu dalgalanmalar özellikle canlı kalmasını istediğimiz laktik asid bakterileri üzerinde olumsuz sonuçlara yol açmamıştır.



## KAYNAKLAR

- Acar, J. 1998. Fenolik bileşikler ve doğal renk maddeleri, Gıda kimyası, Ed. Saldamlı, F., Hacettepe Univ. Yayınları, Ankara, s: 435-452
- Aliyev C., 2006. Kefir ve yaban mersininin dondurmanın fizikokimyasal, duyu ve mikrobiyolojik özelliklerine etkisi. Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, OMÜ.
- Alptekin, D., Uyar, S. 1997. Değişik İnkübasyon Sıcaklıklarının Kefir ve Kefir Danelerinin Kimi Özelliklerine Etkisi Üzerinde Bir Araştırma (Tez). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü .
- Anonim, 1994. Çiğ Süt. Türk Standartları Enstitüsü, TS 1018, 11 s., Ankara.
- Anonim, 2006. Bitkilerde Doğal Renk Maddeleri ve Fenolik Bileşikler. Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi, Ankara.
- Anonim. 2007. Yaş meyve sebze ihracatçıları birliği değerlendirme raporu. Türkiye Geneli ( 2005 / 2006 Ocak - Aralık dönemi ), Akdeniz İhracatçıları Birlikleri Genel Sekreterliği, Mersin, 2007.
- Amiot, M. J., Tacchini, M., Aubert, S. and Nicolas, J. 1992. Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. Journal of Food Science, 57, 958} 962.
- Amiot, M. J., Aubert, S. and Nicolas, J. 1993. Phenolic composition and browning susceptibility of various apple and pear cultivars at maturity. Acta Horticulturae, 343, 67} 69.
- Artık N. ve Ekşi A., 1988. Studies on chemical composition of some wild fruits (*Rosa canina*, *Crataegus monogyna*, *Crataegus aronia*, *Vaccinium myrtillus* and *Berberis vulgaris*) Food Industry, 9 (1988), pp. 33-34
- Atalar İ., 2012. Kefir Tozu Üretimi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, Samsun.
- Bas D., İsmail H. ve Boyacı J., 2007. Modeling and optimization. Usability of response surface methodology. J. Food Eng. 78:836-845.
- Bayraktaroğlu G. ve Obuz E., 2006. Ultrasonik Yönteminin İlkeleri ve Gıda Endüstrisinde Kullanımı. Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu
- Belitz H. D. ve Grosch W., 1999. Food chemistry. Springer-Verlag Heidelberg, 764-781s, Berlin.
- Benzie IFF, Szeto YT. 1999. Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing antioxidant power assay. J Agric Food Chem, 47: 633-636.
- Beshkova M.D., Simova D.E., Simov I.Z., Frengova I.G., ve Spasov N.Z., 2002. Pure cultures for making kefir. Food Microbiology, 19, 537-544.

- Bilaloğlu, G.V. ve Harmandar, M. 1996. Flavonoidler; molekül yapıları, kimyasal özellikleri, belirleme teknikleri, biyolojik aktiviteleri. Aktif yayınevi, İstanbul, 353s
- Borisov YY, Gynkina NM. 1973. Acoustic drying. In: Physical Principles of Ultrasonic Technology, Vol. 2, LD Rosenger (ed.), pp.381-474, Plenum Pres, New York.
- Bourzeix, M., Weyland, D. and Heredia, N. 1986. Etude des cahechinas et des procyanidols de la grappe de raisin, du vin et d'autres derives de la vigne. Bull. O.I.V.,669-670,1171.
- Bradley, R.L., Arnold, E., Barbano, D.M., Semerad, R.G., Smith, D.E. and Vines, B.K., 1992. Chemical and Physical Methods. In: Marshall, R.T. (Ed) Standard Methods for The Examination of Ddairy Products. 16th Edition. American Public Health Association, Washington, D.C., pp. 433–529.
- Brand W., Cuvelier M.E., Berset C., 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 28 (1995), pp. 25–30
- Cabrita, L., Früsteyn, N. A., and Andersen, Q. M. 2000. Anthocyanin trisaccharides in blue berries of *Vaccinium padifolium*. *Food Chemistry* 69 (2000) 33-36
- Cemeroğlu, A.P. ve Cemeroğlu, B.S. 1998. Sağlık açısından gıda fenolikleri. *Gıda Teknolojisi Dergisi*, 3;52-55.
- Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A. ve Özkan, M. 2001. Fenolik bileşikler. Meyve ve sebzelerin bileşimi, soğukta depolanmaları, 78 s., Gıda Teknolojileri Derneği Yayınları No:24, Ankara.
- Cemeroğlu, B., 2004. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1. Cilt. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 35, Ankara, 77-88.
- Chang, M-J., Collens, J.L., Bailey, J.W. ve Coffey, D.L. 1994. Cowpeas tannins related to cultivar, maturity, dehulling and heating. *J. Food Sci.*, vol:59, 1034-1036p.
- Cheynier, V., M. Feinberg, C. Chararas and C. Ducauze. 1983. Application of response surface methodology to evaluation of bioconversion experimental conditions. *Appl. Env. Microbiol.*45:634-639.
- Corrales M., Toepfl S., Butz P., Knorr D., Tauscher B., 2007. Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison, *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 9 (2008) 85–91
- Çağında Ö. ve Ötleş S., 2003. Beslenme ve sağlık açısından kefirin önemi. Süt Endüstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu 22-23 Mayıs, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü, İzmir.
- Çelik, H., 2003. Bazı Yüksek Çalı Yaban mersini Çeşitlerinin Rize'deki Performanslarının Saptanması Üzerine Araştırmalar-1. Ulusal Kivi ve Üzümsü Meyveler Sempozyumu, KTÜ Ordu Ziraat Fakültesi, 23-25 Ekim 454-460s, Ordu.
- Çelik H., 2005. Yaban mersini (Likapa) Yetiştiriciliği, HASAD Ltd. Şti. P.K.22 Üsküdar, 34673, İstanbul: <http://www.biriz.biz/rize/likapa/index.htm>
- Çelik H., 2006. Yaban mersini (Likapa) [http://www.uzumsu.com/dosyalar/likapa-sistmtkbotanyk%C3%BClt.pdf#search=%22Yaban%20Mersini%3A%20%20\(Vaccinium%20ashei%20Reade\)%20%22](http://www.uzumsu.com/dosyalar/likapa-sistmtkbotanyk%C3%BClt.pdf#search=%22Yaban%20Mersini%3A%20%20(Vaccinium%20ashei%20Reade)%20%22)
- Çelik, H., Rize İçin Mükemmel Bir Meyve Maviyemiş (Likapa ), Çaykur Rizespor Dergisi, 2,17 (2007 ) 92-97.
- Dubrovi I., Hecceg Z., Jambrak A., Badanjak M. ve Dragovi-Uzelac V., 2011. Effect

- of High Intensity Ultrasound and Pasteurization on Anthocyanin Content in Strawberry Juice. *Food Technol. Biotechnol.* 49 (2) 196–204 (2011)
- Eck, P. ve Gough, R.E., *Small Fruit Crop Management*, Pentice Hall, New Jersey, 1990.
- Eren İ., 2004. Patateslerin osmotik dehidrasyonunun response surface metodu kullanılarak optimizasyonu. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, Türkiye.
- Ferrazza, R.E., Fresno, J.M., Ribeiro, J.I., Tornadijo, M.E. and Mansur Furtado, M., 2004. Changes in the microbial flora of Zamorano cheese (P.D.O) by accelerated ripening. *Food Research International*, 37, 149-155.
- Floros JD ve Liang H. 1994. Acoustically assisted diffusion through membranes and biomaterials. *Food Technology*, December: 79–84.
- Fontan M.C.G., Martinez S., Franco I., Carbollo J., 2006. Microbiological and chemical changes during the manufacture of Kefir made from cows' milk, using a commercial starter culture. *International Dairy Journal*, 16, 762-767
- Frankel E.N., 1999. Food antioxidants and phytochemicals: present and future perspectives. *Fett/Lipid*, 101, Nr 12, 450-455p.
- Frankel E.N. ve Finley J. W., 2008. How to Standardize the Multiplicity of Methods To Evaluate Natural Antioxidants. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 4901–4908.
- Freitas V.A.P. ve Glories Y. 1999. Concentration and compositional changes of procyanidins in grape seeds and skin of white *Vitis vinifera* varieties. *J. Sci. Food agric.*,79,1601-1606.
- Fusco D, Colloca G, Lo MMR, Cesari M., 2008. Effects of antioxidant supplementation on the aging process. *Clin. Interv. Aging*, 2: 377-387.
- Harborne J.B., 1967. *Comparative biochemistry of the flavonoids*. Academic press, NewYork
- Herrmann, K. 1976. Flavonols and flavones in food plants: A review. *J. Food Technol.*, 11, 433.
- Herrmann, K. 1976. Occurrence and content of hydroxy cinnamic and hydroxybenzoic acid compounds food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* , 28, 315- 347, Macheix.
- Herrmann K., 1992. *Fluss. Obst.* 59,66.
- Hertog M.G.L., Hollman P.C.H. ve Van de Putte, B., 1993b. Concent of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions wines and fruit juices. *J. Agric. Food Chem.*, 41, 1241-1246pp.
- Hollman P.C.H., Hertog M.G.L. ve Katan M.B., 1996. Analysis and health effects of flavonoids. *Food Chem.*, 57, 43-46pp.
- <http://www.leatherheadfood.com/long-may-the-growth-in-functional-foodscontinue>
- Gökpınar S., Koray T., Akçiçek E., Göksan T., Durmaz Y., 2006. Algal Antioksidanlar. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*. 23, 85-89.
- Grønnevik H., Falstad M., ve Narvhus, J. A. (2011). Microbiological and chemical properties of Norwegian kefir during storage. *International Dairy Journal*, 21(9),601–606.
- Gulitz A., Stadie J., Wenning M., Ehrmann M. A., ve Vogel, R. F. (2011). The microbial diversity of water kefir. *International Journal of Food Microbiology*, 151(3), 284–288, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.09.016>.
- Güngör N., 2007. Dut Pekmezinin Bazı Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri İle Antioksidan Aktivitesi Üzerine Depolamanın Etkisi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi,Erzurum.
- Güven E., Otkun G., Boyacıoğlu D., 2010. Flavonoidlerin Biyoyararlılığını Etkileyen Faktörler. *GIDA* (2010) 35 (5): 387-394

- Irigoyen A., Arana I., Castiella M., Torre P., Ibanez F.C., 2005. Microbiological, physicochemical and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chemistry*, 90, 613-620
- Kalt W (2005). Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidant. *J. Food Sci.*, 70: 11-19.
- Karagözlü, C., 2005. Yeniden Hatırladığımız Kefir. *Gıda*, Kasım 2005 Yılı: 21 Sayı: 246, 30-34.
- Karagözlü C., Dumanoglu Z., 2011. Türkiye’de Endüstriyel Kefir Tüketiminin Arttırılması: Avrupa’da Yakult Pazarlaması Örneği. *Gıda Teknolojisi Dergisi* . 15(11): 48-51
- Karakaya S, Kavas A., 1999. Antimutagenic activities of some foods. *J. Agric. Food Chem.*, 79: 237-242.
- King A. ve Young G., 1999. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J. of the Am. Diet. Assoc.*, 99:213-218 p.
- Konar A. ve Sahan N., 1989. İnek, keçi ve koyun sütlerinden üretilen kefirlerin özellikleri ve bu kefiirlere olgunlaştırma süresinin etkisi. Bursa 1. Uluslar arası gıda sempozyumu, 184-197.
- Konic-Ristic A., Šavikin K., Zdunic G., Jankovic T., Juranic Z., Menkovic N., Stankovic Ā., 2011. Biological activity and chemical composition of different berry juices. *Food Chemistry* 125 (2011) 1412–1417
- Koutinas A. A., Papapostolou H., Dimitrellou D., Kopsahelis N., Katechaki E., Bekatorou A., 2009. Whey valorisation: a complete and novel technology development for dairy industry starter culture production. *Bioresource Technology*, 100(15), 3734–3739
- Latorre-García L., Castillo-Agudo L., ve Polaina J., 2006. Taxonomical classification of yeasts isolated from kefir based on the sequence of their ribosomal RNA genes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(6), 785–791.
- Lea, A.G.H., Briddle, P., Timberlake, C.F. and Singleton, V.L. 1979. The procyanidins of white grape and wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, 30:289.
- Le Blanc A. de M., Matar C., Farnworth E., ve Perdigon, G., 2006. Study of cytokines involved in the prevention of a murine experimental breast cancer by kefir. *Cytokine*, 34(1–2), 1–8
- Leighton TG., 1998. The principles of cavitation. In: *Ultrasound in Food Processing*, MJW Povey and TJ Mason (eds), pp.151-182, Chapman & Hall, London.
- Li H, Pordesimo L, Weiss J., 2004. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. *Food Research International*, 37: 731–738.
- Liang H., 1993. Modeling of ultrasound assisted and osmotically induced diffusion in plant tissue. PhD Dissertation, Purdue University, Indiana, US.
- Luque-García JL, Luque de Castro MD., 2004. Ultrasound-assisted Soxhlet extraction: an expeditive approach for solid sample treatment Application to the extraction of total fat from oleaginous seeds. *Journal of Chromatography A*, 1034 (1-2) :237-242.
- Macheix J-J., Fleuriet A. ve Billot J. 1990. *Fruit phenolics*. CRC Pres, Boca Raton, FL.
- Magalhães K. T., Pereira M. A., Nicolau A., Dragone G., Domingues L., Teixeira J. A., 2010. Production of fermented cheese whey-based beverage using kefir grains as starter culture: evaluation of morphological and microbial variations. *Bioresource Technology*, 101(22), 8843–8850
- Maier G., Mayer P., Dietrich H. ve Wucherpfennig K., 1990. Polyphenoloxidasen und ihre Anwendung bei der Stabisierung von Fruchtsaften, *Flussiges Obst*, 57,

- 4, 230-239. (Polyphenol oxidases and their application in the stabilization of fruit juices, *Flussiges Obst.*, 56, 4, 249-251).
- Manolopoulou, E., Sarantinopoulos, P., Zoidou, E., Aktypis, A., Moschopoulou, E., Kandarakis, I.G., and Anifantakis, E.M., 2003. Evolution of microbial populations during traditional Feta cheese manufacture and ripening. *International Journal of Food Microbiology*, 82, 153– 161.
- Mason TJ, Cordemans ED., 1996. Ultrasonic intensification of chemical processing and related operations: A review. *Transactions of the Institute of Chemical Engineers*, 74: 511–516.
- Mason T.J., 1998. Power ultrasound in food processing. The way forward. In: *Ultrasound in Food Processing*, MJW Povey and TJ Mason (eds), pp.105-126, Chapman & Hall, London.
- Mason T.J., Riera E., Vercet A., Lopez-Bueza P., 2005. Application of ultrasound, in: Da-Wen Sun (Ed.), *Emerging Technologies for Food Processing*, Elsevier Ltd., Cambridge, MA, 2005, pp. 323–351.
- Matsua, T and Itoo, S. 1981. Comparative studies of condensed tannins in from several young fruits. *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.*, vol: 50, 262p.
- Miguel M. G. da C. P., Cardoso P. G., Magalhães K. T. ve Schwan R. F., 2011. Profile of microbial communities present in tibico (sugary kefir) grains from different Brazilian States. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(8), 1875–1884.
- Moon J.K., Shibamoto T., 2009. Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *J. Agric. Food Chem*, 57, 1655–1666.
- Mosel, H.D. and Herrmann, K. 1974. Die phenolischen inhalstoffe der Obstes. IV. Die phenolischen Inhaltsstoffe der Brombeeren und Himbeeren und deren deren Veranderun gen wahrend Wachstum und Reife der Fruchte. *Z. Lebensm. Unters.Forsch.*, 154:324.
- Mulet A, Carcel JA, Benedito J, Simal S., Rossello C., 1999. Ultrasonic mass transfer enhancement in food processing. In: *Proceedings of 6th Conference of Food Engineering AIChE Annual Meeting*, G. Barbosa-Canovas and SP Lombardo (eds.), pp. 74–85, Dallas.
- Nishino H, Murakoshi M, Mou X.Y., Wada S., Masuda M., Ohsaka Y., Satomi Y., Jinno K., 2005. Cancer prevention by phytochemicals. *Oncol.*, 69: 38-40.
- Oysun G., 1996. Süt Ürünlerinde Analiz YöntemLeri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 504. Ofset Basımevi. Genişletilmiş 2. Baskı, İzmir.
- Özer B.H., Atasoy F. ve Özer D. 2000. İki aşamalı fermentasyon ve starter kültür kullanımının kefir kalitesi üzerine etkileri hakkında bir araştırma. VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, Tekirdağ, 354-362.
- Özgen M., Tulio A.Z., Miller A.R., Reese R.N. ve Scheerens J.C., 2005a. Comparison of Methods to Determine Antioxidant Levels in Fruit. *HortScience* 40(4):1091. (abstr. 468).
- Özsoy İ., Vatansever F., Orhan T.Y., Özkarabacak Ö., 1998. Kefirin in vivo Koşullarda Bağırsak Mikroflorası Üzerine Etkisi (Diploma Tezi). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü, İzmir.
- Pehlivan M. ve Güleriyüz M., 2004. Ahududu ve Böğürtlenlerin İnsan Sağlığı Açısından Önemi. *Bahçe*, 33 (1-2): 51 – 57
- Peterson J. ve Dwyer J., 1998. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition research*, vol:18 no:12, pp.1995-2018.

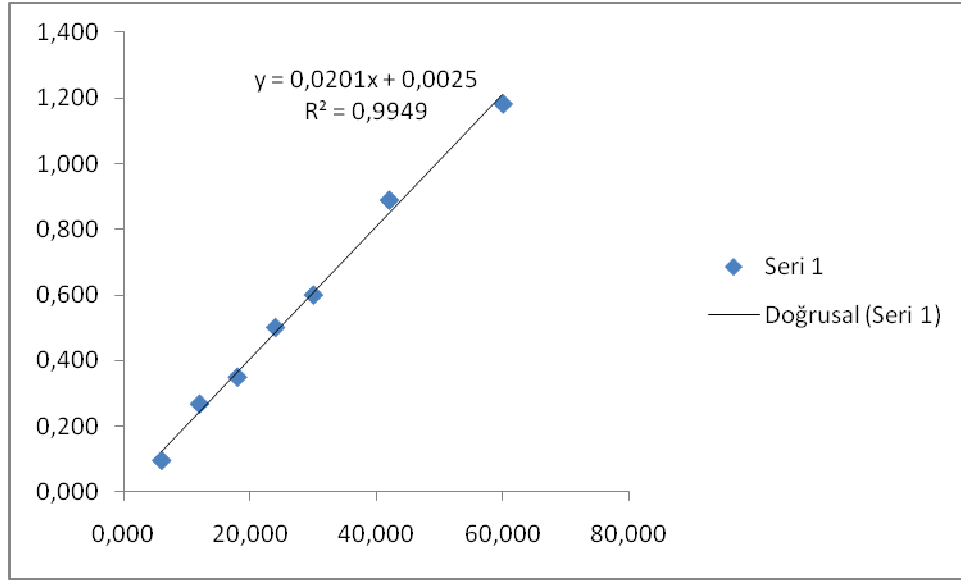
- Potter R.M., Dougherty M.P., Halteman W.A., Camire M.E., 2007. Characteristics of wild blueberry-soy beverages LWT-Food Science and Technology Volume 40, Issue 5, June 2007, Pages 807-814
- Pugin B, Turner AT. 1990. Influence of ultrasound on reaction with metals. In: Advances in Sonochemistry, Vol.1, TJ Mason (ed.), pp.81-118, JAI Pres, London.
- Ribera A., Reyes-Diaz M., Alberdi M., Zuniga G.E., Mora M L, 2010. Antioxidant compounds in skin and pulp fruits change among genotypes and maturity stages in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). Journal of soil science and plant nutrition 10(4): 509-536(2010)
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Duboisdeau., 2000. Handbook of Enology, Volume 2: The Chemistry of Wine and Stabilization and Treatments. John Wiley and Sons Ltd., England.
- Robards K., Prenzler P.D., Tucker G., Swatsiteng P. ve Glover W., 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. Food chemistry, 66: 401-436.
- Rommel A. ve Wrolstad R. E., 1993b. Influence of acid and base hydrolysis on the phenolic composition of red raspberry juice. J. Agric. Food Chem., 41, 1237-1241.
- Rusznayk S. ve Szent-Gyorgyi A., 1936. Vitamin P: Flavonols as vitamins. Nature., 138, 27p.
- Saldamlı, İ., 2007. Gıda Kimyası. Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara, 463-492.
- Schmidtlein H. ve Herrmann K., 1975a. On the phenolics acids of vegetables. I. Hydroxycinnamic acids and hydroxybenzoic acids of Brassica species and leaves of other Cruciferae. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 159:139.
- Schmidtlein H. ve Herrmann K., 1975b. On the phenolics acids of vegetables. IV. Hydroxycinnamic acids and hydroxybenzoic acids of vegetables and potatoes. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 159:255.
- Shahidi F. ve Naczk M., 1995. Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects, Applications, Lancaster: Technomics, 312p, USA.
- Shahzad S. ve Bitsch I., 1996. Determination of some pharmacologically active phenolic acids in juices by high-performance liquid chromatography. Journal of Chromatography A, 741, 223-231.
- Schuster, B. ve Herrmann, K. 1985. Hydroxybenzoic acid and hydroxycinnamic acid derivatives in soft fruits. Phytochemistry, 24, 2761.
- Skrede G., Wrolstad R.E. ve Durst R.W., 2000. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). Journal of Food Science, 65(2), 357-364.
- Silva K. R., Rodrigues S. A., Filho L. X. ve Lima A. S., 2009. Antimicrobial activity of broth fermented with kefir grains. Applied Biochemistry and Biotechnology, 152(2), 316-325.
- Stohr, A. ve Herrmann, K. 1975a. Die phenolischen Inhaltstoffe des Obstes. VI. Die phenolischen Inhaltsstoffe der Johannisbeeren, Stachelbeeren und Kulturheidelbeeren Veränderungen der Phenolsäuren und Caracine während Wachstum und Reife von Swarzen Johannisbeeren. Z. Lebensm. Unters.Forsch., 159:31.
- Stohr, A. ve Herrmann, K. 1975b. The phenols of fruits. V. The phenols of strawberries and their changes during development and ripeness of fruits. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 158:341.

- Spanos, G. A., Wrolstad, R.E. ve Heatherbell, D.A. 1990. Influence of processing and storage on the phenolic composition of apple juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 1572-1579.
- Spanos G. A. ve Wrolstad R.E., 1992. Phenolics of apple, pear and grape juice and their changes with processing and storage-A review, *J. Agric. Food Chem.*, 40, 1478-1487
- Timberlake C.F. ve Bridle P., 1976. *Amer. J. Enol. Vitic.* 27, 97.
- Tiwari B.K., Patras A. , Brunton N., Cullen P.J., O'Donnell C.P. , 2010. Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. *Ultrasonics Sonochemistry* 17 (2010) 598–604
- Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği(Tebliğ No:2009/25). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Resmi Gazete Sayı:27143
- Vilkhu K., Mawson R., Simons L., Bates D., 2008. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry – a review, *Innov. Food Sci.Em. Technol.* 9 (2008) 161–169.
- Vinatoru M, Toma M, Mason TJ. 1999. Ultrasound-assisted extraction of bioactive principles from plants and their constituents. In *Advances in Sonochemistry*, Mason TJ (ed), Volume 5, JAI Press, UK, pp. 209–248.
- Vinatoru M. 2001. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8: 303–313.
- Wang L, Weller CL. 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17: 300-312.
- Wang J, Sun B, Cao Y, Tian Y, Li X. 2008. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*, 106:804-810.
- Williams, H.P. (1999), *Model Building in Mathematical Programming*, 4. baskı, Wiley, New York, NY.
- Winston, W.L. (2003), *Operations Research: Applications and Algorithms*, 4. baskı, International Thomson Publishing, Belmont, CA.
- Wu J, Lin L, Chau F, 2001. Ultrasound-assisted extraction of ginseng saponins from ginseng roots and cultured ginseng cells. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8: 347-352.
- Yıldız, H. ve Baysal, T. 2003. Bitkisel fenoliklerin kullanım olanakları ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 7(14), s:29-35.
- Yi, O. S., Meyer, A.S. and Frankel, E.N. 1997. Antioxidant activity of grape extracts in a lecithin liposome system. *Journal of the American Oil Chemists'Society*, 74, 1301-1307
- Zarate V., Belda F., Pérez C., Cardell E., 1997. Changes in the microbial flora of Tenerife goats' milk cheese during ripening. *International Dairy Journal* 7, 635-641. DOI: [10.1016/s0958-6946\(97\)00065-4](https://doi.org/10.1016/s0958-6946(97)00065-4)
- Zhou, J., Liu, X., Jiang, H., & Dong, M. (2009). Analysis of the microflora in Tibetan kefir grains using denaturing gradient gel electrophoresis. *Food Microbiology*, 26(8),770–775
- Zor, M., 2007. Depolanmanın Ayva Reçelinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri İle Antioksidan Aktivitesi Üzerine Etkisi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.



## EKLER

### EK A: FRAP analizi için Trolox standart analizi





## ÖZGEÇMİŞ

- Adı Soyadı** : MEHTAP ER
- Doğum Yeri ve Tarihi** : SAMSUN/ 23.07.1989
- Adres** : Atakent Mah. 1522. Sokak Kılıç 4 Apt. No:19/10  
Elvankent/ANKARA
- E-Posta** : mehtaper0@gmail.com
- Lisans Bölümü** :Ondokuz Mayıs Üniversitesi-GıdaMühendisliği
- Yüksek Lisans Bilim Dalı** :Ondokuz Mayıs Üniversitesi Gıda Mühendisliği Ana
- Mesleki Deneyim ve Ödüller:** (01.08.2013-.....) Öz Reha Engelli ve Özürlü Bakım  
Merkezi Gıda Mühendisi