



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



**MİKROBİYAL LEVAN VE PULLULAN
KULLANILARAK ÜRETİLEN KEFİRLERDE BAZI
Gr(+) VE Gr(-) BAKTERİLERİN
DAVRANIŞLARININ İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Gökhan Gurur GÖKMEN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

İzmir
2020

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MİKROBİYAL LEVAN VE PULLULAN
KULLANILARAK ÜRETİLEN KEFİRLERDE BAZI
Gr(+) VE Gr(-) BAKTERİLERİN DAVRANIŞLARININ
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gökhan Gurur GÖKMEN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Duygu KIŞLA

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Yüksek Lisans programı

Bornova-İZMİR

2020

Gökhan Gurur GÖKMEN tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “Mikrobiyal Levan ve Pullulan Kullanılarak Üretilen Kefirlerde Bazı Gr(+) ve Gr(-) Bakterilerin Davranışlarının İncelenmesi” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 23/01/2020 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı

: Prof. Dr. Duygu KİŞİA

Raportör Üye

: Doç. Dr. Gültan GENDİR

Üye

: Doç. Dr. Sibel MİRBAĞCI



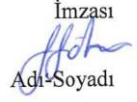


EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Mikrobiyal Levan ve Pullulan Kullanılarak Üretilen Kefirlerde Bazı Gr(+) ve Gr(-) Bakterilerin Davranışlarının İncelenmesi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

23 / 01 / 2020

İmzası

Adı-Soyadı

Gökhan Gurur GÖKMEN

ÖZET**MİKROBİYAL LEVAN VE PULLULAN KULLANILARAK
ÜRETİLEN KEFİRLERDE BAZI Gr(+) VE Gr(-) BAKTERİLERİN
DAVRANIŞLARININ İNCELENMESİ**

GÖKMEN, Gökhan Gurur

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Duygu KIŞLA

Ocak 2020, 146 sayfa

Bu çalışmada, kefir taneleri ve liyofilize kefir kültürü kullanılarak mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle 22°C ve 30°C sıcaklıkta üretilen kefirlerde fermentasyondan önce ve sonra inoküle edilen bazı Gr(+) ve G(-) bakterilerin davranışlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Üretilen kefir örneklerinin 6±1°C'de 14 günlük depolama boyunca fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyu analizleri yapılmıştır. En düşük pH değerinin (4,24±0,01) ve en yüksek titrasyon asitliği değerinin (1,10±0,00) 30°C'de kefir taneleri kullanılarak üretilen kontrol örneklerinde; en yüksek EPS içeriğinin (465,3±2,00 mg/kg) 30°C'de kefir taneleri kullanılarak ve mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde olduğu belirlenmiştir. Kefir üretiminde kefir taneleri kullanımı ve mikrobiyal polisakkarit ilavesi örneklerdeki maya sayısını istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırmıştır (p<0,05). En yüksek laktobasil ve laktik streptokok sayısı (sırasıyla; 9,64±0,06 ve 9,64±0,04 log kob/ml) 22°C'de kefir taneleri kullanılarak ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde tespit edilmiştir. Kefir taneleri kullanılarak üretilen örneklerin yalnızca *L. monocytogenes*'i, liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen örneklerin ise *E. coli* dışında bütün test bakterilerini inhibe ettiği belirlenmiştir. Renk, lezzet, kıvam ve genel beğeni açısından en çok beğenilen örneğin, mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve kefir taneleri kullanılarak 30°C'de üretilen örnek olduğu belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Kefir, antimikrobiyal aktivite, levan, pullulan



ABSTRACT**INVESTIGATION ON THE BEHAVIORS SOME Gr(+) AND Gr(-)
BACTERIA IN KEFIR PRODUCED BY USING MICROBIAL
LEVAN AND PULLULAN**

GÖKMEN, Gökhan Gurur

MSc in Food Eng.

Supervisor: Prof. Dr. Duygu KIŞLA

January 2020, 146 pages

In this study, it is aimed to investigate the behaviors of some Gr(+) and G(-) bacteria inoculated before and after fermentation in kefir produced by using kefir grains and lyophilized kefir culture and adding microbial levan and pullulan at 22 and 30°C. The physical, chemical, microbiological and sensory analysis of kefir samples were carried out during 14 days of storage at 6±1°C. The lowest pH value (4.24±0.01) and the highest titratable acidity (1.10±0.00) were determined in control samples produced by using kefir grains at 30°C; the highest EPS content (465.3±2.00 mg/kg) was determined in samples produced by using kefir grains with the addition of microbial levan at 30°C. The use of kefir grains and the addition of microbial polysaccharides in the production of kefir increased the yeast counts in the samples significantly ($p<0.05$). The highest counts of lactobacilli and lactic streptococci (9.64±0.06 and 9.64±0.04; respectively) were detected on the samples produced by using kefir grains with the addition of pullulan at 22°C. It was determined that the samples produced by using kefir grains inhibited only *L. monocytogenes* and the samples produced by using lyophilized kefir culture inhibited all bacteria except *E. coli*. The sample produced by using kefir grains and without adding any microbial polysaccharides at 30°C was considered as best with respect to color, flavor, consistency and overall acceptability.

Key words: Kefir, antimicrobial activity, levan, pullulan



ÖNSÖZ

Yüksek besleyici değeri ve sağlıkla ilgili olumlu özellikleri nedeniyle son yıllarda fonksiyonel gıda tüketimine ve bu gıdaların üretimine olan ilgi artmaktadır. Fonksiyonel gıdalar içerisinde yer alan kefir oldukça uzun bir geçmişe sahip olmakla birlikte, son yıllarda sağlık üzerindeki yararlı etkilerinin belirlenmesiyle tüketimi de artan probiyotik bir fermente süt ürünüdür. Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerde kefirin endüstriyel boyutlarda üretimi çok yaygın olmamakta ve kefir taneleri kullanılarak geleneksel yöntemlerle evde üretimi gerçekleştirilmektedir. İçerdiği probiyotik mikroorganizmalar ve bu mikroorganizmalar tarafından üretilen antimikrobiyal metabolitlere rağmen, bozulmaya neden olan ve patojen mikroorganizmaların kefirde canlılığını depolama süresi boyunca koruyabildiği ve tüketilmesi durumunda insan sağlığı açısından büyük bir risk teşkil ettiği yapılan çalışmalarla da desteklenmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında, mikrobiyal levan ve pullulan ilave edilerek üretilen kefirlerde bazı Gr(+) ve Gr(-) bakterilerin davranışları incelenmiştir. Çalışma tasarlanırken, öncelikle kefir taneleri kullanılarak evde gerçekleştirilen ve endüstriyel boyutlarda üretilen kefirlerde meydana gelebilecek kontaminasyonlara karşı test bakterilerinin davranışlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca üretim aşamasında farklı fermantasyon sıcaklığı, mikrobiyal levan ve pullulan ilavesi gibi farklı parametreler kullanılarak, kefiirlere fermantasyon öncesi ve sonrasında inoküle edilen test bakterilerinin davranışları incelenmiş ve karşılaştırılmıştır. Bu sayede endüstriyel ve ev tipi olarak üretilen kefirlerde mikrobiyolojik ve kalite özellikleri birlikte değerlendirilerek en ideal üretim koşullarının belirlenmesi ve çalışma sonuçlarının endüstriyel hayatta somut bir şekilde kullanılmasını sağlayacaktır. Bu çalışma ile birlikte ülkemizdeki fonksiyonel ürün yelpazesinin genişletilmesine, endüstriyel boyutta kefir üretiminin yaygınlaştırılmasına ve gelecekte yapılacak olan çalışmalara katkıda bulunulacağı beklenmektedir.

Adı – Soyadı

Gökhan Gurur GÖKMEN

23 / 01 / 2020

İZMİR



İÇİNDEKİLERSayfa

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xviii
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
2.1 Kefir Taneleri ve Liyofilize Kefir Kültürünün Özellikleri	5
2.1.1 Kefir üretimi	6
2.1.2 Kefir taneleri ve kefirin mikrobiyolojisi	8
2.1.3 Kefirin fiziksel ve kimyasal özellikleri	14
2.1.4 Kefirin sağlık açısından önemi	19
2.2 Mikrobiyal Polisakkaritler	23
2.2.1 Levan	24
2.2.2 Pullulan	26
3. MATERYAL VE METOT	28
3.1 Materyal	28

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.2 Metot	29
3.2.1 Kefir Taneleri ve Liyofilize Kefir Kültürlerinin Aktivasyonu ve Kefir Üretimi	29
3.2.2 Gr(+) ve Gr(-) bakteri kültürlerinin hazırlığı	31
3.2.3 Kefir üretiminde kontrol ve deneme grupları	32
3.3 Analiz Yöntemleri.....	38
3.3.1 Fiziksel ve kimyasal analizler.....	38
3.3.2 Mikrobiyolojik analizler	39
3.3.3 Duyusal değerlendirme	41
3.3.4 İstatistiksel değerlendirme	42
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	43
4.1 Fiziksel ve Kimyasal Analizler	43
4.1.1 pH analizi sonuçları	43
4.1.2 Titrasyon asitliği sonuçları.....	49
4.1.3 Kefir örneklerinin mikrobiyal ekzopolisakkarit (EPS) içerikleri.....	55
4.2 Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	61

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.2.1 Maya sayım sonuçları	61
4.2.2 Laktik asit bakterileri sayım sonuçları.....	67
4.2.3 <i>Escherichia coli</i> sayım sonuçları	79
4.2.4 <i>Salmonella Enteritidis</i> sayım sonuçları	90
4.2.5 <i>Staphylococcus aureus</i> sayım sonuçları	101
4.2.6 <i>Listeria monocytogenes</i> sayım sonuçları	111
4.3 Duyusal Değerlendirme	121
5. SONUÇ.....	126
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	130
TEŞEKKÜR	145
ÖZGEÇMİŞ	146

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Kefir taneleri	5
2.2 Kefiranın moleküler yapısı	6
2.3 Levanın moleküler yapısı.....	25
2.4 Pullulanın moleküler yapısı	26
3.1 Kefir tanelerinin aktivasyonu ve çalışma kültürünün hazırlığı akış şeması... ..	30
3.2 Liyofilize kefir kültürünün aktivasyonu ve çalışma kültürünün hazırlığı akış şeması.....	31
3.3 Kontrol grubuna ait kefir örneklerinin hazırlığı akış şeması	36
3.4 Deneme grubuna ait kefir örneklerinin hazırlığı akış şeması	37
3.5 Duyusal değerlendirme formu	41
4.1 Farklı parametrelerde üretilen kefirlerin depolamanın 0, 7 ve 14. günlerinde pH değerleri.....	48
4.2 Farklı parametrelerde üretilen kefirlerin depolamanın 0, 7 ve 14. günlerinde % titrasyon asitliği değerleri	54
4.3 Farklı parametrelerde üretilen kefirlerin depolamanın 0, 7 ve 14. gününde EPS içerikleri	60
4.4 Farklı parametrelerde üretilen kefirlerin depolamanın 0, 7 ve 14. günlerinde maya sayımı sonuçları	66

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.5 Farklı parametrelerde üretilen kefirlerin depolamanın 0, 7 ve 14. günlerinde <i>Laktobacillus</i> cinsi mikroorganizma sayım sonuçları	72
4.6 Farklı parametrelerde üretilen kefirlerin depolamanın 0, 7 ve 14. günlerinde laktik streptokok sayıları	78
4.7 Farklı parametrelerde üretilen kefir örneklerine fermantasyondan önce ve sonra inoküle edilen <i>E. coli</i> suşlarının 14 günlük depolama süresi boyunca sayım sonuçları	89
4.8 Farklı parametrelerde üretilen kefir örneklerine fermantasyondan önce ve sonra inoküle edilen <i>S. Enteritidis</i> suşlarının 14 günlük depolama süresi boyunca sayım sonuçları	100
4.9 Farklı parametrelerde üretilen kefir örneklerine fermantasyondan önce ve sonra inoküle edilen <i>S. aureus</i> suşlarının 14 günlük depolama süresi boyunca sayım sonuçları	110
4.10 Farklı parametrelerde üretilen kefir örneklerine fermantasyondan önce ve sonra inoküle edilen <i>L. monocytogenes</i> suşlarının 14 günlük depolama süresi boyunca sayım sonuçları	120
4.11 Farklı parametrelerde üretilen kefir örneklerinin renk özelliklerine ait duyuşal değerlendirme sonuçları	122
4.12 Farklı parametrelerde üretilen kefir örneklerinin lezzet özelliklerine ait duyuşal değerlendirme sonuçları	123
4.13 Farklı parametrelerde üretilen kefir örneklerinin kıvam özelliklerine ait duyuşal değerlendirme sonuçları	123
4.14 Farklı parametrelerde üretilen kefir örneklerinin genel beğeni özelliklerine ait duyuşal değerlendirme sonuçları	124

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Kefirin ürün özellikleri.....	4
2.1 Kefir taneleri ve kefirin mikrobiyal içerikleri	9
2.2. Kefirin kimyasal bileşimi ve besin değerleri	15
2.3 Kefir tanelerinde GC-MS analizleri ile belirlenen uçucu bileşenler	18
2.4 Kefirde bulunan probiyotik mikroorganizmaların potansiyel etki mekanizmaları	20
3.1 Liyofilize kefir kültürü mikroflora içeriği	28
3.2 Kontrol grupları üretim parametreleri ve örnek kodlamaları	32
3.3 Deneme grupları üretim parametreleri ve örnek kodlamaları	34
4.1 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerin pH değerleri	44
4.2 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin pH değerleri	46
4.3 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerin titrasyon asitliği sonuçları	50
4.4 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin titrasyon asitliği sonuçları.	52
4.5 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerin EPS değerleri	56
4.6 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin EPS değerleri	58
4.7 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerin maya sayımı sonuçları.....	62

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.8 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin maya sayımı sonuçları....	64
4.9 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerin <i>Lactobacillus</i> cinsi mikroorganizma sayımı sonuçları	68
4.10 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin <i>Lactobacillus</i> cinsi mikroorganizma sayımı sonuçları	70
4.11 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerin laktik streptokok sayımı sonuçları	74
4.12 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin laktik streptokok sayımı sonuçları	76
4.13 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefiirlere fermentasyon öncesinde inoküle edilen <i>E.coli</i> kültürünün davranışı	80
4.14 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefiirlere fermentasyon öncesinde inoküle edilen <i>E. coli</i> kültürünün davranışı	82
4.15 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefiirlere fermentasyon sonrasında inoküle edilen <i>E. coli</i> kültürünün davranışı	85
4.16 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefiirlere fermentasyon sonrasında inoküle edilen <i>E. coli</i> kültürünün davranışı	87
4.17 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefiirlere fermentasyon öncesinde inoküle edilen <i>S. Enteritidis</i> kültürünün davranışı	91
4.18 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefiirlere fermentasyon öncesinde inoküle edilen <i>S. Enteritidis</i> kültürünün davranışı	93

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.19 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon sonrasında inoküle edilen <i>S. Enteritidis</i> kültürünün davranışı	96
4.20 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon sonrasında inoküle edilen <i>S. Enteritidis</i> kültürünün davranışı	98
4.21 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon öncesinde inoküle edilen <i>S. aureus</i> kültürünün davranışı	102
4.22 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon öncesinde inoküle edilen <i>S. aureus</i> kültürünün davranışı	104
4.23 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon sonrasında inoküle edilen <i>S. aureus</i> kültürünün davranışı	106
4.24 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon sonrasında inoküle edilen <i>S. aureus</i> kültürünün davranışı	108
4.25 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon öncesinde inoküle edilen <i>L. monocytogenes</i> kültürünün davranışı.....	112
4.26 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon öncesinde inoküle edilen <i>L. monocytogenes</i> kültürünün davranışı	114
4.27 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon sonrasında inoküle edilen <i>L. monocytogenes</i> kültürünün davranışı	116
4.28 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon sonrasında inoküle edilen <i>L. monocytogenes</i> kültürünün davranışı	118
4.29 Farklı parametrelerde üretilen kefiirlere ait duyusal analiz sonuçları	121

1. GİRİŞ

Özellikle 21. yüzyılın ortalarından itibaren gelişen bilim ve teknolojiyle birlikte tüketicilerin dengeli bir diyetle beslenme farkındalıkları artmış ve buna bağlı olarak da sağlıklı ve güvenilir gıda kavramı önem kazanmıştır. Tüketicilerin bu taleplerini karşılamak için, üreticiler de katkı içermeyen organik, modifiye ve fonksiyonel gıdaların üretimi üzerine yoğunlaşmışlardır. Dünya genelinde gıda üreticileri ve tüketici alışkanlıkları göz önüne alındığında Türkiye gibi gelişmekte olan ve/veya gelişmemiş ülkelerde bahsi geçen fonksiyonel gıdaların tüketimi, buna bağlı olarak da ticari olarak üretim çeşitliliği oldukça sınırlıdır (Kart ve Demircan, 2014; Şahinöz ve Özdemir, 2017).

İçerdiği protein, kalsiyum, fosfor, B2 ve B12 vitaminleri gibi önemli bileşenler sayesinde süt ve süt ürünleri, kaliteli ve sağlıklı bir hayat için insanların tüketmesi gereken en önemli besin gruplarından biridir. Buna rağmen Avrupa Birliği ülkelerinde kişi başına yıllık süt ve süt ürünleri tüketimi ortalama 331 kg/yıl iken Türkiye’de bu değer 171 kg/yıl olarak açıklanmıştır (Kart ve Demircan, 2014). Yapılan bilimsel çalışmalarla sağlık üzerindeki olumlu etkileri ispatlanan fonksiyonel süt ürünlerinin üç farklı yaklaşımla üretildiği bildirilmektedir. Bunlar; prebiyotik, probiyotik ve sinbiyotikleri içeren süt ürünleri, zenginleştirilmiş süt ürünleri ve enerjisi azaltılmış süt ürünleridir (Sezen ve Koçak, 2006). Bu ürün gruplarından en önemlileri ise probiyotik olarak tanımlanan ve insan sağlığı ve gastrointestinal bölge üzerinde olumlu etkileri olduğu yapılan çalışmalarla onaylanan canlı kültürleri içeren fermente sütler, yoğurt ve kefirin de içinde bulunduğu gruptur (Sezen ve Koçak, 2006). Fermente süt ürünleri, başta laktik asit bakterileri olmak üzere çeşitli mikroorganizmalar tarafından fermente edilen sütün farklı tat, aroma ve yapıdaki ürünlere dönüştürülmesi ile elde edilmektedir. Süt ürünlerinin kalitesini geliştirmek ve korumak için kullanılan yöntemlerin başında laktik asit fermantasyonu gelmektedir ve bu şekilde üretilen ürünlerin tat ve aroma özelliklerini de önemli ölçüde etkileyen *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Streptococcus* gibi laktik asit bakterileri önemli bir rol oynamaktadır (Prado et al., 2015).

Kefir, orjini Kafkas dağlarına dayanan asidik ve hafif alkollü olan fermente bir süt ürünüdür. Asya, Avrupa ve Amerika’da ticari olarak üretimi yaygın olmasına rağmen evde kefir üretimi çok sınırlıdır (Gulmez and Guven, 2003b). Kefir üretimi geleneksel olarak kefir taneleri kullanılarak üretiliyor olsa da gelişen teknolojiyle birlikte kefir tanelerinin içerdiği mikroorganizmalar izole edilerek saflaştırıldıktan sonra uygun kombinasyonları hazırlanarak liyofilizasyon işleminden sonra sanayide kullanılacak şekilde satışa sunulmaktadır. Her ne kadar içerdiği laktik asit bakterileri ve maya türlerinin insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri tespit edilmiş ve sanayide kontrol edilebilir bir üretim ortamı sağlıyor olsa da starter kültür kullanılarak üretilen kefirlerin tüketiciler tarafından çok fazla tercih edilmediği bilinmektedir (Karagözlü vd., 2007). Bu nedenle de üretilen ticari kefirler çeşitli meyve aromalarıyla birlikte tüketici beğenisine sunulmaktadır.

Kefirin tarihçesi ve ilk olarak nasıl üretildiği hakkında kesin bir bilgi bulunmamakla birlikte konuyla ilgili farklı yaklaşımlarda bulunulmuştur. Bunlardan bir tanesi, keçi tulumu içerisine inek sütünün koyun ve dana şırdanları ile pıhtılaştırılması sonucunda elde edildiği şeklindedir. Tulum içerisine bırakılan süt ve şırdanların birkaç hafta sonra süngerimsi bir kabuk tabakası meydana getirdiği, bu kabuk tabakasının kurutularak kefir tanelerinin elde edildiği ifade edilmiştir (Koroleva, 1988). İtalyan gezgin Marco Polo da ilk seyahat kitabında kefirten söz etmiştir. Ayrıca, Tibet’teki rahiplerin gelen ziyaretçilere şifa olarak kefir verdikleri ve hastalıklarını bu şekilde iyileştirdikleri bildirilmiştir (Yıldız, 2009).

Kolay sindirilebilir bir gıda olmasıyla kefir çocuklar, yaşlılar, sindirim problemleri olan hastalar ve hamile/emzirme dönemindeki kadınlar için ideal bir içecektir (Prado et al., 2015a). Ayrıca, fermantasyon sırasında bazı vitaminlerin sentezlenmesi, protein ve laktozun kısmen parçalanması ve pek çok mineral maddeyi içermesi yönüyle de kefir tüketiminin önemi ortaya koyulmaktadır. Yapılan çalışmalar, kefirin antibakteriyel, antikarsinojenik, antimutajenik, antienflamatuar, antidiyabetik, antihipertansif, hipokolesteromik etkileri olduğunu ve bağırsaktaki bakteriyel mikroflorayı düzenlemesi sayesinde bağışıklık sistemini güçlendirdiğini göstermiştir (Ahmed et al., 2013). Ek olarak; Chang et

al. (2018) kefirde elde ettikleri mikroorganizmaların gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyal etkileri, anti-obezite, kolesterol düşürücü, bağırsak mikrobiyotasını düzenleyici, kabızlığı azaltıcı ve biyoaktif bileşenlerin üretilmesi gibi pek çok alanda sağlık üzerindeki olumlu etkileri olduğunu belirtmişlerdir. Kefirin içerdiği probiyotik bakterilerin bağırsak florasında meydana gelebilecek spesifik enteropatojenlere karşı koruyucu etkisi olduğu bilinmektedir. Bu durum mukozal bariyer fonksiyonlarına katkı sağlamak, rekabetçi davranışlar, immun yanıt modülasyonları, laktik asit üretimi ve bakteriyosin gibi spesifik bileşenlerin salınımı ile lümen pH'sını düşürme gibi farklı mekanizmalarla açıklanmıştır (Golowczyc et al., 2007). Ayrıca toksinlerden koruması ve *Helicobacter pylori*'yi inhibe etmesi gibi özellikleri de kefirin probiyotik aktiviteleri olarak raporlanmıştır (Kandylis et al., 2016).

Kefir, yalnızca bakteri ve mayalardan oluşan kefir taneleri ile üretilmesi yönüyle diğer geleneksel fermente süt ürünlerinden ayrılmaktadır. Ayrıca maya ve bakteri türlerinin sütün fermentasyonu sırasındaki simbiyotik aktivitesine bağlı olarak hem laktik asit hem de alkol fermentasyonu birlikte oluşmaktadır. Laktik asit bakterileri ve mayaların fermentasyonu sonucu açığa çıkan asetik asit, laktik asit, karbondioksit (CO₂), etil alkol ve diğer aromatik bileşikler kefirin karakteristik özelliklerinin oluşmasını sağlamaktadır (Dinç, 2008). Kefirin % 88 – 89 su, % 0,8 – 0,9 süt asidi, % 0,6 – 1,1 etil alkol, % 1,7 – 2,7 laktoz, % 2,8 – 3,3 yağ, % 2,5 – 2,9 kazein, % 0,1 – 0,3 albümin ve % 0,6 – 0,8 mineral bileşimlerinden meydana geldiği bildirilmiştir (Çağlar ve Çağlar, 2013).

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde kefir, fermentasyonda spesifik olarak *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* ve *Acetobacter* cinslerinin değişik suşları ile laktozu fermente eden (*Kluyveromyces marxianus*) ve etmeyen mayaları (*Saccharomyces unisporus*, *S. cerevisiae* ve *S. exiguus*) içeren starter kültürler ya da kefir tanelerinin kullanıldığı fermente süt ürünü olarak ifade edilmektedir (Anon, 2009). Ayrıca fermente süt ürünleri tebliğine göre kefire ait ürün özellikleri Çizelge 1.1'de verilmiştir.

Çizelge 1.1 Kefirin ürün özellikleri (Anon, 2009)

	Süt Proteini (Ağırlıkça %)	Süt Yağı (Ağırlıkça %)	Titrasyon Asitliği (%Laktik Asit)	Toplam Spesifik Mikroorganizma (kob/g)	Etikette Belirtilen Toplam İlave Mikroorganizma (kob/g)	Mayalar (kob/g)
Limit	En az 2,7	En fazla 10	En az 0,6	En az 10^7	En az 10^6	En az 10^4

Bu çalışmada, kefir taneleri ve liyofilize kefir kültürü kullanılarak % 1 (w/v) oranında mikrobiyal polisakkarit (levan ve pullulan) ilavesiyle iki farklı fermantasyon sıcaklığında (22°C ve 30°C) üretilen kefirlerde fermantasyondan önce ve sonra inoküle edilen bazı Gr(+) ve G(-) bakterilerin (*Escherichia coli*, *Salmonella* Enteritidis, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus*) davranışları incelenmiştir. Bu kapsamda üretilen kefir örneklerinin üretim sonrası ve $+6\pm1^\circ\text{C}$ 'de 14 günlük depolama süresi boyunca fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyu analizi yapılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1 Kefir Taneleri ve Liyofilize Kefir Kültürünün Özellikleri

Kefir, geleneksel olarak kefir taneleri kullanılarak üretilbildiği gibi gelişen teknolojiyle birlikte starter kültür kullanılarak da endüstriyel boyutlarda üretilbilmektedir. Kefir, fermantasyon sonrasında kefir tanelerinin süzüntüden ayrılarak veya filtre edilerek tekrar kullanılabilirdiği tek fermente süt ürünüdür (Ratray and O'Connel, 2011).

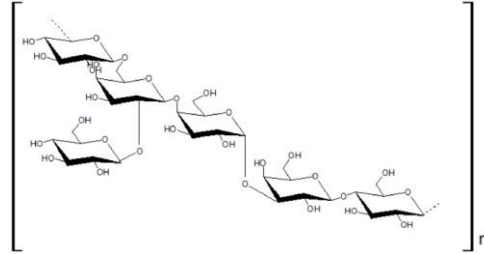
Kefir taneleri 3 – 20 mm aralığında çapa ve karnabahara benzeyen düzensiz bir şekle sahip olmasıyla birlikte beyaz veya sarı renkte, yumuşak, jelatinimsi yapıdadır (Şekil 2.1) (Libudzisz and Piatkiewicz, 1990). Kefir tanelerinin iç kısımlarında laktozu fermente edebilen mayalar bulunurken dış yüzeylerine doğru ilerledikçe laktozu fermente edemeyen mayalar olduğu yapılan çalışmalarla açıklanmıştır. Ayrıca mayaların yoğun olarak tanelerin merkezinde bulunurken laktobasillerin dış yüzey bölgelerinde bulundukları ve bu dağılımın rastgele olmadığı belirtilmiştir (Marshall et al., 1984). Kefir tanelerinin taze süte aktarılıp oda sıcaklığı koşullarında 20 – 24 saat inkübe edilmesi sonucunda tanelerin kütlelerinin %25'e kadar arttığı bildirilmektedir. Tanelerin canlılıklarının devam ettirilebilmesi açısından aktivasyon işleminin en fazla 8 – 10 gün arayla tekrar edilmesi, aksi taktirde tanelerin kuruması ve yaşlanması sonucu etkinliklerinin kaybolacağı belirtilmektedir (Farnworth, 2005).



Şekil 2.1 Kefir taneleri

Kefir taneleri, *Lactobacillus kefiranofaciens* tarafından üretilen polisakkarit bir yapıdan oluşmaktadır. Bu polisakkarit, suda çözünebilir özelliktedir ve glukoz ve galaktozdan oluşmaktadır (Otsoa et al., 2006). Kefiran olarak adlandırılan bu

polisakkarit yapı, kefir tanesinin kurumaddesinin %24'ünü oluşturmaktadır ve oluşumunda glukoz ve galaktozun dallanmış hekza- ve heptasakkaritlerinin tekrarlayan birimlerinin etkili olduğu düşünülmektedir (Guzel-Seydim et al., 2005; El-Hayek, 2011). Kefiranın moleküler yapısı Şekil 2.2'de gösterilmektedir.



Şekil 2.2 Kefiranın moleküler yapısı (Prado et al., 2015a)

Son zamanlarda endüstriyel boyutlarda kefir üretiminin artmasıyla birlikte ürün miktarını arttırmak ve kontaminasyon riskini azaltmak için liyofilize kefir kültürü kullanımına duyulan ilgi daha da artmıştır (Hertzler and Clancy, 2003). Endüstriyel kefir üretiminde kullanılan liyofilize kefir kültürlerinde mayalara çok az yer verilmekte veya hiç kullanılmamaktadır. Bunun nedeni ise açığa çıkan CO₂ gazının ürün ambalajında meydana getirebileceği bombaj ve deformasyonun tüketici tarafından bozuk olarak algılanmasına neden olabileceğidir. Endüstriyel amaçla üretilen kefirlerde streptokoklar da bulunmamakta ve böylece kefirde köpüksü bir yapı oluşmamaktadır (Marshall and Cole, 1985).

2.1.1 Kefir üretimi

Kefir geleneksel ve ticari olmak üzere iki farklı şekilde üretilmektedir. Gelişmiş ülkelerde geleneksel kefir üretimi pek yaygın olmasa da Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerde halen evde kefir üretimi yapılmaktadır. Geleneksel üretimde inokülasyon kültürü olarak kefir taneleri veya kefir tanelerinden üretilen kefir kullanılırken, ticari olarak üretilen kefirlerde inokülasyon kültürü olarak doğrudan liyofilize kefir starter kültürü kullanılmaktadır (Gulmez and Guven, 2003a; Rattray and O'Connell, 2011). Ticari olarak kefir üretimi ilk olarak 1930'lu yıllarda Eski Sovyetler'de set tipi üretim yöntemiyle denenmiştir. Bu şekilde yapılan üretimde kefir taneleri şişedeki süte inoküle edildikten sonra inkübasyona bırakılmakta ve inkübasyon sonrasında ise şişeler soğutulmaktadır.

Bu şekilde üretilen kefirin kalitesi evde üretilene göre düşük bulunmuştur. 1950’li yılların sonunda ise yeni bir yöntem olan stirred tipi kefir üretimine başlanmıştır. Bu yöntemde ise süt büyük bir kaptan mayalanarak fermentasyona bırakılmış ve kefir oluşumundan sonra ürün soğutulmuştur. Bu şekilde üretilen kefirin serinletici etkisi, keskin tat ve aromaya sahip olduğu bildirilmiştir (Koroleva, 1988b).

Geleneksel kefir üretimi, 85 – 90°C’de yaklaşık olarak 20 dakika ısıtılan sütün, oda koşullarına soğutulduktan sonra (~25°C), % 2 – 10 (w/v) oranında kefir taneleri ile inoküle edilip yine oda koşullarında (20 – 25°C) 18 – 24 saat inkübasyona bırakılmasıyla gerçekleştirilmektedir. İnkübasyondan sonra kefir taneleri süzgeç kullanılarak üründen ayrılmakta ve yıkanarak bir sonraki kullanıma kadar +4°C’de muhafaza edilmektedir. Üretilen kefir ise +4°C’de depolanmakta ve tüketime sunulmaktadır (Halle et al., 1994; Karagözlü ve Kavas, 2000). İnokülasyon kültürü olarak kefir tanelerinin kullanıldığı kefir üretiminde, tanelerin başlangıç büyüklüğü, fermentasyon sıcaklığı ve fermentasyon boyunca yapılan çalkalama işlemi gibi faktörler son ürünün mikrobiyal flora dağılımını ve buna bağlı olarak pH, viskozite, asitlik ve duyu özelliklerini önemli ölçüde etkilemektedir (Rattray and O’Connell, 2011). Geleneksel yöntemle kefir üretiminde son ürünün kalite özelliklerinin belirli standartlarda tutulamaması, her defasında farklı mikrobiyal dağılıma sahip son ürün üretilmesi ve tekrar kullanılan kefir tanelerinin kontaminasyon riskini arttırması gibi nedenlerden dolayı zamanla ticari olarak kefir üretimi önem kazanmıştır (Dinç, 2008).

Endüstriyel kefir üretiminde inokülasyon kültürü olarak liyofilize edilmiş ticari starter kefir kültürleri kullanılmaktadır. Bu yöntemde çiğ süt kuru madde miktarı standardize edilip homojenizasyon işlemine tabi tutulmakta ve pastörizasyon prosesi için süte 85 – 87°C’de 5 – 10 dakika ya da 90 – 95°C’de 2 – 3 dakika ısıtım uygulanmaktadır. Daha sonra 18 – 24°C sıcaklığa kadar soğutulan süte % 2 – 8 (w/v) oranında starter kefir kültürü inoküle edilerek 18 – 24 saat fermentasyona bırakılmaktadır. Fermentasyon sonrasında elde edilen ürünler şişelenerek aroma ve kıvam oluşumu için 3 – 10°C’de olgunlaşmaya bırakılmakta, ardından 4°C’de depolanmaktadır (Koroleva, 1988b). Rattray and O’Connell (2011) kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerin raf ömrünün 3 – 12 gün arasında değiştiğini; ancak starter kefir kültürü kullanılarak ticari boyutlarda

üretilen kefir örneklerinin ise raf ömrünün 28 güne kadar çıkabildiğini belirtmişlerdir.

2.1.2 Kefir taneleri ve kefirin mikrobiyolojisi

Kefir taneleri $10^8 - 10^9$ kob/g laktik asit bakterisi içerirken, yaklaşık olarak 10^8 kob/g maya içermektedir. Mikrobiyal içeriğin dağılımına bakıldığında ise en fazla paya laktobasillerin (% 65 – 80) ve streptokokların (% 20) sahip olduğu, mayaların ise yaklaşık % 5 ile en düşük oranda bulunduğu belirtilmiştir. Mikrobiyal yapıdaki bu farklılıkların kefir tanelerinin kaynaklarından veya üretim tekniklerinin farklılığından meydana geldiği belirtilmiştir (La Riviere, 1969; Libudzisz and Piatkiewicz, 1990). Otsoa et al. (2006) kefir tanesinin mikroskopik incelemesinde limon şeklinde veya uzun iplikli görünümlü mayaların, çubuk şeklinde laktobasillerin ve kokların bir arada olduğunu; kokların genelde maya hücrelerinin yüzeyinde, laktobasillerin ise maya hücrelerinin aralarına yerleşmiş durumda olduğunu belirtmişlerdir.

Kefirin mikrobiyal bileşiminin kullanılan inokülasyon kültürüne (kefir taneleri veya liyofilize ticari starter kültür), fermentasyon sıcaklığına, süresine, kefir tanelerinin depolama süresine ve üretim yapılan ortamın / işletmenin hijyenik özelliklerine bağlı olduğu bildirilmektedir. Kefir taneleri homofermentatif ve heterofermentatif laktobasil, streptokok, asetobakter ve lökonostok bakterilerini ve *Saccharomyces*, *Candida* ve *Torula* gibi maya türlerini içermektedirler (Marshall and Cole, 1985; Farnworth, 2005). Kaliteli bir kefirin ise içeriğinde $10^7 - 10^9$ kob/ml laktik asit bakterileri, $10^4 - 10^5$ kob/ml maya türleri ve $10^4 - 10^5$ kob/ml asetik asit bakterileri bulunduğu bildirilmektedir (Koroleva, 1988; Kurmann et al., 1992). Molska et al. (1983) tarafından yapılan bir çalışmada kefir örneklerinde yer alan mikroorganizmalar incelenmiş bunlarda *Bacillus* cinsine ait bakterilerin tek, çift ya da zincir; streptokok türü bakterilerin çift veya zincir ve mayaların ise tek hücre olarak bulunduğu belirtilmiştir. Ayrıca bu mikroorganizmaların örnek içindeki dağılımlarının % 66,62 – 69,00 (*Lactobacillus* ssp.); % 16,11 – 22,00 (streptokoklar) ve % 18,16 – 20,00 (maya) şeklinde olduğu bildirilmiştir (Molska et al., 1983). Kefir taneleri ve kefirin

mikrobiyal içerikleri Rattray and o'Connell (2011) tarafından Çizelge 2.1'de açıklanmıştır.

Çizelge 2.1 Kefir taneleri ve kefirin mikrobiyal içerikleri (Rattray and O'Connell, 2011)

<i>Laktobacilli</i>	<i>Lactococci ve Leuconostoc</i>	Mayalar	Diğerleri
Homofermentatifler	Homofermentatifler	Laktozu fermente edebilen	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactococcus subsp. lactis</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i> <i>Candida kefir</i>	<i>Acetobacter aceti</i>
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Kluyveromyces lactis</i> var. <i>lactis</i>	<i>Acetobacter rasens</i>
<i>Lb. helveticus</i>		<i>Debaryomyces hansenii</i> <i>Candida famata</i>	<i>Enterococcus durans</i>
<i>Lb. kefiranofaciens</i>	Heterofermentatifler	<i>Dekkera anomala</i> <i>Brettanomyces anomalus</i>	<i>Galactomyces geotrichum</i> <i>Geotrichum candium</i>
<i>Lb. kefirgranum</i>	<i>Lc. lactis</i> (sitrat pozitif)		
Heterofermentatifler	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>	Laktozu fermente edemeyen	
<i>Lb. kefir</i>	<i>Leu. mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>	<i>Saccharomyces unisporus</i>	
<i>Lb. parakefir</i>	<i>Leu. mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i>	<i>Sac. turicensis</i>	
<i>Lb. brevis</i>		<i>Sac. cerevisiae</i>	
<i>Lb. plantarum</i>		<i>Sac. exiguus</i>	
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>casei</i>		<i>Sac. pastorianus</i>	
		<i>Pichia fermentans</i> <i>Candida firmetaria</i> <i>Torulaspora delbrueckii</i>	
<i>Lb. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i>			
<i>Lb. fermentum</i>		<i>Candida friedrichii</i> <i>Candida humilis</i> <i>Issatchenkia orientalis</i> <i>Candida krusei</i> <i>Candida maris</i>	
<i>Lb. rhamnosus</i>			
<i>Lb. fructivorans</i>		<i>Debaryomyces occidentalis</i>	
<i>Lb. hilgardi</i>		<i>Yarrowia lipolytica</i> <i>Candida lipolytica</i>	

Angulo et al. (1993) kefir tanelerinin mikrobiyal florasını belirlemek için yaptıkları çalışmada Galiçya (İspanya) bölgesinde faaliyet gösteren mandıralardan temin ettikleri 8 farklı kefir tanesini (> 5 yıl), laboratuvar ortamında haftada 2 veya 3 kez pastörize süte transfer ederek oda sıcaklığında inkübe etmişler ve çoğaltmışlardır. Araştırmacılar yaptıkları analizler sonucunda, kefir tanelerinin % 33 – 60 oranında maya, % 30 – 60 oranında laktik asit bakterisi ve % 6 – 33 oranında da kontaminant içerdiğini tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmada kefir tanelerindeki mayaların *Torulaspora delbrueckii*, *Sac. cerevisiae*, *Sac. unisporus*, *Candida kefir*, *Cand. holmii*, *Cand. friedrichii*, *Kluyveromyces lactis*, *Pichia fermentans*'tan; laktik asit bakterilerinin *Lactobacillus brevis*, *Lb. viridescens*, *Lb. kefir*, *Lb. fermentum*, *Lb. casei* subsp. *rhamnosus*, *Lb. casei* subsp. *tolerans*, *Lb. casei* subsp. *pseudopantarum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. gasseri*, *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc* ssp., *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*'tan; kontaminantların ise *Pediococcus* ssp., *Micrococcus* ssp., *Bacillus* ssp., *Acetobacter* ssp. ve *Escherichia coli*'den oluştuğu belirtilmiştir. Araştırmacılar izole edilen kontaminantların varlığını; i) kullanılan pastörize sütlerin farklı mikrobiyolojik özelliklerinden veya üretimi sırasındaki asepsi eksikliğinden, ii) çalışılan kefir tanelerinin yetersiz hijyen koşullarında saklanması veya çalışılmasından kaynaklı olabileceğini açıklamışlardır.

Farnworth (2005) kefir taneleri ve kefirde bulunan bazı bakterileri *Lb. kefir*, *Lb. kefiranofaciens*, *Lb. kefirgranum*, *Lb. parakefir*, *Lb. brevis*, *Lb. plantarum*, *Lb. helveticus*, *Lb. acidophilus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. casei*, *Lb. fructivarans*, *Lb. hilgardii*, *Lb. fermentum*, *Lb. viridescens*, *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Lc. lactis* subsp. *cremoris*, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus durans*, *Leu. ssp.*, *Leu. mesenteroides*, *Acetobacter* ssp., *Acetobacter pasteurianus*, *Acetobacter aceti*, *Bacillus* ssp., *Bacillus subtilis*, *Micrococcus* ssp., *Escherichia coli* olarak derlemişlerdir.

Irigoyen et al. (2005) yaptıkları çalışmada süte farklı oranlarda (%1 ve %5, w/v) kefir tanesi inoküle etmişler ve ürettikleri kefirleri +5±1°C'de 28 gün boyunca depolayarak mikrobiyal özelliklerindeki değişimi incelemişlerdir. Yapılan çalışmada, depolama süresi boyunca laktobasil ve laktokok sayılarının azaldığı, buna rağmen asetik asit bakterisi ve maya sayılarının ise değişmediği

tespit edilmiştir. Kefir üretiminde kullanılan kefir tanesi oranının artmasıyla birlikte son ürünlerdeki laktik asit bakteri sayısının arttığı, maya ve asetik asit bakteri sayılarının ise azaldığı belirlenmiştir.

Fontan et al. (2006) yaptıkları çalışmada inek sütüne 0,8 g/l oranında liyofilize kefir kültürü ilave ederek 20 – 23°C’de fermantasyona bırakmışlar ve fermantasyonun 2, 8, 24, 48, 96 ve 168. saatlerinde yaptıkları analizlerle fermantasyon süresince meydana gelen mikrobiyal değişimleri incelemişlerdir. Aerob mezofil canlı sayısı başlangıçta 6,5 log kob/ml iken fermantasyonun 24. saatinde yaklaşık olarak 1,5 logaritmalık bir artış göstermiştir. Örneklerdeki *Leuconostoc* düzeyi ilk 48 saat boyunca artarken daha sonraki saatlerde değişmemiş, *Lactobacillus* sayıları ise başlangıçta hızlı daha sonrasında yavaş olmak üzere sürekli artış göstermiştir. Fermantasyon sürecinin ilk 8 saatinde örneklerdeki maya sayısı < 1 log kob/ml iken, 168. saatte yapılan analizlerde maya sayısının yaklaşık 3 log kob/ml olduğu belirlenmiştir. Ayrıca fermantasyonun ilk 48 saatinde laktokokların, 48. saatten sonra ise laktobasillerin baskın olduğu belirtilmiştir.

Chen et al. (2008) üç farklı kefir tanesinden *Lb. kefiranofaciens*, *Lb. kefir*, *Leu. mesenteroides* ve *Lc. lactis* türü laktik asit bakterilerini izole etmişlerdir. Garofalo et al. (2015) yaptıkları çalışmada İtalya’nın farklı bölgelerinden temin ettikleri 6 farklı kefir tanesi örneklerinden *Lb. kefiranofaciens*, *Lb. kefir*, *Lb. buchneri*, *Lb. sunkii*, *Lb. otakiensis* türü bakteriler ile *Kazachstania unispora*, *K. servazzii*, *K. solicola*, *K. aerobia*, *K. turicensis*, *Sac. cerevisiae*, *Sac. cariocanus* ve *Dekkera anomala* türü mayaları tanımlamışlardır.

Cetinkaya and Mus (2012) Bursa’da tüketilen kefirlerin mikrobiyolojik ve kimyasal karakteristiklerini belirlemek için farklı yerel marketlerden temin ettikleri 50 örnek ile yürüttükleri çalışmada örneklerin ortalama *Lactobacilli* sayısının $3,6 \times 10^7$ kob/ml, *Lactococci* sayısının $1,8 \times 10^8$ kob/ml ve maya sayısının ise $7,7 \times 10^4$ kob/ml olduğunu bulmuşlardır. Bunun yanında örneklerde *Enterocci* ($4,8 \times 10^4$ kob/ml), *Enterobacteriaceae* ($7,3 \times 10^3$ kob/ml) ve *S. aureus* ($2,4 \times 10^2$ kob/ml) gibi insan sağlığı açısından risk teşkil eden mikroorganizmaların da bulunduğu dikkat çekmiştir. Araştırmacılar kefir

örneklerindeki koliform, enterokok ya da *S. aureus* ve *E. coli* gibi potansiyel patojen bakteri varlığının; üretimde çalışan personelin hijyen eksikliğinden, soğuk depolama şartlarının yetersizliğinden veya eksikliğinden kaynaklı olabileceğini belirtmişlerdir.

Gao et al. (2012) Tibet'in dört farklı bölgesinden – Tibet (TK-ZJUI01), Siçuan (TK-ZJUI02), Sincan (TK-ZJUI03) ve Çinghay (TK-ZJUI04) – temin ettikleri kefir tanelerinin mikrobiyal florasını PCR amplifikasyon yöntemi ile belirlemek için yürüttükleri çalışmada, literatürde ilk defa Tibet kefirinden *Pichia kudriavzevii* ve *P. guilliermondii* mayalarını tanımladıklarını açıklamışlardır. Araştırmacılar, TK-ZJUI01 örneğinden *Bacillus subtilis* ($2,9 \times 10^7$ kob/ml), *Lc. lactis* ($8,2 \times 10^7$ kob/ml), *Kluyveromyces marxianus* ($3,0 \times 10^6$ kob/ml), *Sac. cerevisiae* ($9,0 \times 10^6$ kob/ml); TK-ZJUI02 örneğinden *Lb. kefir* ($1,0 \times 10^8$ kob/ml), *P. kudriavzevii* ($5,0 \times 10^6$ kob/ml), *K. marxianus* ($1,9 \times 10^7$ kob/ml), *Kazachstania unispora* ($6,2 \times 10^7$ kob/ml); TK-ZJUI03 örneğinden *Leu. lactis* ($4,6 \times 10^7$ kob/ml), *Lc. lactis* ($3,0 \times 10^7$ kob/ml), *Lb. plantarum* ($3,0 \times 10^7$ kob/ml), *K. unispora* ($3,0 \times 10^6$ kob/ml), *K. marxianus* ($2,0 \times 10^6$ kob/ml), *Kazachstania exigua* ($1,7 \times 10^7$ kob/ml); TK-ZJUI04 örneğinden *Lb. plantarum* ($1,8 \times 10^7$ kob/ml), *Acetobacter fabarum* ($5,0 \times 10^6$ kob/ml), *K. unispora* ($6,2 \times 10^7$ kob/ml) ve *P. guilliermondii* ($6,2 \times 10^7$ kob/ml) türlerini izole etmişlerdir.

Leite et al. (2013) yaptıkları çalışmada kefirin fermantasyon ve depolama süresi boyunca mikrobiyal özelliklerini incelemişlerdir. Bu amaçla, %3 (w/v) oranında kefir taneleri ile inoküle ettikleri sütü 25°C'de fermantasyona bırakmışlar ve fermantasyonun 0, 6, 12, 18 ve 24. saatlerinde, ürettikleri kefir örneklerini ise depolamanın 2, 7, 14 ve 28. günlerinde mikrobiyolojik özellikleri bakımından incelemişlerdir. Laktik asit bakteri sayısının M17 agarda fermantasyonun 12. saatinde 4 log kob/ml artış gösterirken, MRS agarda 2 log kob/ml artış gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan analizlerde laktik asit bakteri sayısının en yüksek değerine (10 log kob/ml) fermantasyonun 18. saatinde, asetik asit bakteri sayısının ise en yüksek değerine (7,8 log kob/ml) fermantasyonun 24. saatinde ulaştığı belirlenmiştir. Örneklerdeki maya sayılarının ise fermantasyonun ilk 12 saatinde arttığı ve fermantasyon sonuna kadar 6,0 log kob/ml değerinde sabit kaldığı görülmüştür. Depolama boyunca kefir örneklerine yapılan analizler

sonucunda laktik asit bakterisi ve maya sayısının sabit kaldığı; ancak asetik asit bakteri sayısının 0,6 log kob/ml azaldığı tespit edilmiştir.

Kök-Taş et al. (2013) farklı starter kültür (kefir taneleri ve doğal kefir starteri) ve farklı atmosfer (normal atmosfer ve %10 CO₂) koşullarında ürettikleri kefir örneklerinin 21 günlük depolama süresi boyunca *Lactobacillus* ssp. sayılarının 8,03±0,19 – 9,31±0,07 log kob/ml aralığında, *Lactococcus* ssp. sayılarının 8,04±0,18 – 9,38±0,06 log kob/ml aralığında ve maya sayılarının ise 4,71±0,07 – 5,56±0,07 log kob/ml aralığında değiştiğini tespit etmişlerdir. İtalya’da 6 farklı kefir tanesi ile yapılan çalışmada, kefir tanelerindeki baskın türlerin *Lb. kefiranofaciens* ve *Dekkera anomala*’dan oluştuğu belirlenmiştir. Ayrıca, çalışılan örneklerde *Streptococcus thermophilus*, *Lc. lactis*, *Acetobacter genera*, *Enterococcus* ssp., *Bacillus* ssp., *Acetobacter fabarum*, *Acetobacter lovaniensis* ve *Acetobacter orientalis* türlerinin de varlığı saptanmıştır (Garofalo et al., 2015).

Erdoğan et al. (2019) yaptıkları çalışmada doğal kefir taneleri ve starter kültür kullanarak ürettikleri kefir örneklerinde *Lactobacillus* ssp. miktarını sırasıyla 10,54 log kob/ml ve 8,40 log kob/ml olarak, *Bifidobacterium* ssp. miktarını ise sırasıyla 8,65 log kob/ml ve 0,12 log kob/ml olarak bulmuşlardır. Ayrıca, örneklerdeki toplam maya miktarının doğal kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerde 5,69 log kob/ml iken starter kültür kullanılarak üretilen kefirlerde 2,5 log kob/ml olduğunu belirtmişlerdir.

Delgado-Fernandez et al. (2019) yaptıkları çalışma 0,7 g/l oranında liyofilize kefir kültürü kullanarak ve farklı oranlarda (%2 ve %4; w/v) prebiyotik (OsLu, GOS ve laktuloz) ilave ederek 25°C’de 24 saat fermente ederek ürettikleri kefirlerin fermentasyon süresi ve 28 günlük depolama süresi boyunca mikrobiyolojik özelliklerini incelemişlerdir. Elde edilen veriler neticesinde ilave edilen prebiyotik tipi ve dozunun örneklerdeki bakteriyel sayımları istatistiksel olarak önemli ölçüde etkilemediği (p>0,05) bulunmuş ve örneklerin streptokok sayılarının en yüksek 9,8 log kob/ml, laktobasil sayılarının en yüksek 9,3 log kob/ml, *Leu. mesenteroides* subsp. *cremoris* sayılarının en yüksek 6,3 log kob/ml ve maya sayılarının ise en yüksek 2,3 log kob/ml olduğu tespit edilmiştir.

Kefir ve kefir tanelerinin mikrobiyotasında laktobasil, laktik streptokok, asetik asit bakterileri dışında *Bacillus* ssp. (Angulo et al., 1993), *Bifidobacterium bifidum* (Tas et al., 2012), *Enterococcus durans* (Yuksekdag et al., 2004), *E. coli*, *Micrococcus* ssp. (Angulo et al., 1993), *Leu. mesenteroides* (Witthun et al., 2005), *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus dextrinicus* ve *Pediococcus pentosaceus* (Sabir et al., 2010) gibi mikroorganizmaların da varlığı farklı araştırmacılar tarafından belirlenmiştir.

2.1.3 Kefirin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Kefir fermantasyonu sırasında içeriğinde bulunan laktik asit bakterileri ve mayaların simbiyotik aktiviteleri sonucunda laktik asit ve alkol fermantasyonu aynı anda oluşmaktadır ve kefirin karakteristik tat ve aromasını sağlayan CO₂, laktik asit, etanol, asetaldehit ve aseton gibi metabolitler oluşmaktadır (Vedamutlu, 1977; Yılmaz et al., 2006). Kefir bileşiminde yer alan ve kendine özgü tadın oluşmasını sağlayan bu metabolitler; kullanılan çiğ sütün çeşidi ve kalitesine, kullanılan inokülasyon kültürüne, fermantasyon sıcaklığı ve süresine, son olarak da depolama şartlarına bağlıdır. Depolama boyunca uygulanan düşük sıcaklıklar sayesinde laktik asit bakterilerinin aktiviteleri durdurulabilse de mayaların faaliyetleri devam etmektedir, bu durum da üründe karbondioksit artışına neden olmaktadır. Yüksek CO₂ miktarı, kefirde istenmeyen tat ve aromaya sebep olacağından, liyofilize veya dondurulmuş starter kullanılarak yapılan üretimlerde maya miktarı sınırlandırılarak kontrol edilmeye çalışılmaktadır (Otlés and Cagindi, 2003; Tomar vd., 2017).

Kaptan ve ark. (1990) yaptıkları çalışmada %3 (w/v) oranında kefir tanesi inoküle ettikleri sütleri 20, 25 ve 30°C'de 16 saat süreyle inkübe etmişler ve ürettikleri kefir örneklerini +5°C'de 2 gün boyunca olgunlaşmaya bırakarak inkübasyon sıcaklığının kefirin fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Yapılan çalışmada, inkübasyon sıcaklığının örneklerin titrasyon asitliği üzerinde etkili olduğu ve 30°C'de üretilen örneklerin diğerlerine göre daha yüksek titrasyon asitliği değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Örneklerin pH, viskozite, serum ayrılması değerleri ve asetaldehit içeriklerinin inkübasyon sıcaklığından etkilenmediği; ancak bu değerlerin olgunlaştırma

süresinde değiştiği belirlenmiştir. Üretilen örneklerin toplam uçucu yağ asitleri ve karbondioksit (CO₂) içeriklerinin inkübasyon sıcaklığı ve olgunlaştırma sürecinden etkilenmediği görülmüştür.

Otles and Cagindi (2003) yaptıkları derleme çalışmasında kefirin kimyasal bileşimi ve besin değerlerini Çizelge 2.2’de belirtmişlerdir.

Çizelge 2.2 Kefirin kimyasal bileşimi ve besin değerleri (Otles and Cagindi, 2003)

Bileşenler	100 g	Bileşenler	100 g
Enerji	65 kkal	Mineral içeriği (g)	
Yağ (%)	3,5	Kalsiyum	0,12
Protein (%)	3,3	Fosfor	0,10
Laktoz (%)	4,0	Magnezyum	12
Su (%)	87,5	Potasyum	0,15
		Sodyum	0,05
Süt asidi (g)	0,8	Klorid	0,10
Etil alkol (g)	0,9		
Laktik asit (g)	1,0	İz elementler	
Kolesterol (mg)	13	Demir (mg)	0,05
		Bakır (µg)	12
Esansiyel aminoasitler (g)		Molibden (µg)	5,5
Triptofan	0,05	Manganez (µg)	5,0
Fenilalanin + Tirosin	0,35	Çinko (mg)	0,36
Lösin	0,34		
İsolösin	0,21	Aromatik bileşenler	
Treonin	0,17	Asetaldehit	
Metionin + Sistin	0,12	Diasetil	
Lisin	0,27	Aseton	
Valin	0,22		
Vitaminler (mg)			
A	0,06	B ₁₂	0,05
Karoten	0,02	Niasin	0,09
B ₁	0,04	C	1,0
B ₂	0,17	D	0,08
B ₆	0,05	E	0,11

Irigoyen et al. (2005) yaptıkları çalışmada, süte %1 ve %5 (w/v) oranında kefir taneleri inoküle ederek ürettikleri kefir örneklerinin inkübasyondan hemen sonra ve 5°C’de 28 günlük depolama süresi boyunca fiziksel ve kimyasal özelliklerinde meydana gelen değişiklikleri incelemişlerdir. Depolama süresince örneklerin pH değerleri ve laktoz içerikleri sabit kalırken, toplam kuru madde ve yağ içeriklerinin azaldığı tespit edilmiştir. Üretimde kullanılan kefir tanesi oranındaki artışın, örneklerin laktoz içerikleri ve pH değerlerini arttırdığı, viskozitelerini ise azalttığı görülmüştür. Örneklerdeki toplam kuru madde ve yağ içeriklerinin ise farklı oranlarda kefir tanesi kullanımından etkilenmediği belirlenmiştir.

Bensmira et al. (2010) süte uygulanan homojenizasyon basıncı (15, 17, 19 ve 21 Mpa), inkübasyon sıcaklığı (20°C, 24°C ve 28°C) ve inkübasyon süresinin (18, 24 ve 30 saat) kefirin reolojik özellikleri ve üretilen ekzopolisakkarit (EPS) üzerindeki etkilerini incelemek için yürüttükleri çalışmada; örneklerin reolojik özellikleri ve EPS üretiminin inkübasyon sıcaklığından etkilendiği, ancak inkübasyon süresinden etkilenmediği tespit edilmiştir. Uygulanan homojenizasyon basıncının ise kefirin reolojik özellikleri üzerinde etkili olurken EPS üretimi üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucu araştırmacılar, kefirin reolojik özellikleri ve EPS üretimi bakımından optimum inkübasyon şartlarının 19 MPa’lık homojenizasyon basıncı, 24°C inkübasyon sıcaklığı ve 18 saatlik inkübasyon süresi olduğunu belirtmişlerdir.

Cetinkaya and Mus (2012) Bursa’da tüketiciye sunulan rastgele seçilmiş marketlerden temin ettikleri 50 farklı kefir örneklerinde ortalama pH değerinin $4,3 \pm 0,02$; % asitliğin $0,8 \pm 0,02$; % kuru maddenin $11,3 \pm 0,36$ ve % yağ içeriğinin $2,3 \pm 0,14$ olduğunu belirtmişlerdir. Altay et al. (2013) ise kefirin kuru madde miktarının %8,88 – 16,73 aralığında, protein içeriğinin 3,10 – 4,72 aralığında ve yağ miktarının 1,11 – 2,77 aralığında değiştiğini belirtmişlerdir.

Kök-Taş et al. (2013) yaptıkları çalışmada %2 (w/v) oranında kefir taneleri kullanarak normal atmosferde (KG) ve %10 CO₂ içeren atmosferde; %3 (w/v) oranında doğal kefir kültürü kullanarak normal atmosferde (KS) ve %10 CO₂

içeren atmosferde 25°C sıcaklıkta 22 saat boyunca fermentasyon işlemi ile elde ettikleri örnekleri kimyasal özelliklerini 21 günlük depolama süresince incelemişlerdir. Araştırma sonuçlarına göre örneklerin pH değerleri KG için $4,47 \pm 0,02$ – $4,29 \pm 0,00$ aralığında, KG-C için $4,53 \pm 0,01$ – $4,32 \pm 0,02$ aralığında, KS için $4,49 \pm 0,00$ – $4,35 \pm 0,01$ aralığında ve KS-C için ise $4,50 \pm 0,03$ – $4,37 \pm 0,01$ aralığında bulunmuştur. Örneklerin laktik asit değerlerinin ise KG için %0,92 - %0,84; KG-C için %0,95 - %0,90; KS için %0,92 - %0,81 ve KS-C için %0,90 - %0,83 aralığında olduğu belirlenmiştir. Üretilen kefir örneklerinin tamamında depolama süresi boyunca örneklerin içerdikleri etanol miktarının istatistiksel olarak önemli bir şekilde arttığı; örneklerin etanol içeriklerinin depolamanın 1. ve 21. gününde en yüksek değerine KG-C (sırasıyla; $123,6 \pm 0,25$ ve $5147 \pm 0,97$; mg/l) örneklerinde ulaştığı görülmüştür. Örneklerin en yüksek kuru madde içeriklerinin depolamanın 1. gününde olduğu ve büyükten küçüğe doğru sırasıyla KS-C ($8,21 \pm 0,16$; w/w), KS ($8,19 \pm 0,09$; w/w), KG-C ($8,06 \pm 0,11$; w/w) ve KG ($7,98 \pm 0,04$; w/w) şeklinde olduğu tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın en yüksek protein içeriğinin KG-C ($3,48 \pm 0,01$; g/100 ml) örneklerinde olduğu belirlenmiştir. Üretilen kefir örneklerinde en yüksek asetaldehit içeriğinin ise depolamanın 21. gününde KG-C ($23,6 \pm 0,98$; mg/l) örneğinde olduğu tespit edilmiştir.

Dertli and Çon (2017) yaptıkları çalışmada Türkiye'nin farklı bölgelerinden temin ettikleri 4 farklı kefir tanelerinde belirledikleri asitler, alkoller, aldehytler, karboksilik asitler, esterler, ketonlar ve sülfür bileşenlerinin ürünün spesifik tat ve aromasında önemli bir rol oynayan uçucu bileşenler olduğunu açıklamışlardır. Bu bileşenler kefirin mikroflorasının biyokimyasal fonksiyonları ile üretilmektedir (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3 Kefir tanelerinde GC-MS analizleri ile belirlenen uçucu bileşenler (Dertli and Çon, 2017)

Bileşen	Koku Düzeyi	Kaynak
Asitler		
İzovalerik asit	Ağır, peynirsi	Yağ metabolizması
Alkoller		
Ethanol	Kuru, toz	Karbonhidrat metabolizması
2-Heptanol	Yeşil, Çiçeksi, Meyveli	Karbonhidrat metabolizması
3-Metil-1-Bütanol	Taze peynir, Alkolik, Meyveli	Aminoasit metabolizması
Benzenetanol	Taze, şarap	Karbonhidrat metabolizması
Aldehitler		
3-Metilbütanal	Peynirsi, Koyu çikolata, Kakao	Aminoasit metabolizması
Asetaldehit	Meyveli, alkolik, şarap	Karbonhidrat metabolizması
Karboksilik asitler		
Benzoik asit	Meyveli, alkolik	Yağ metabolizması
Karbamik asit	Ekşi	Aminoasit metabolizması
Asetik asit	Sirke, yeşil, meyveli, ekşi	Karbonhidrat metabolizması
Propanoik asit	Ekşi	Yağ metabolizması
Bütanoik asit	Buruk asidik, peynirsi, kötü	Karbonhidrat metabolizması
Hekzanoik asit	Ağır, peynirsi, keskin, asidik	Yağ metabolizması
Oktanoik asit	Peynirsi, kokuşmuş, keskin	Yağ metabolizması
Dekanoik asit	Ekşimsi, mumsu, bayat, tereyağı	Yağ metabolizması
Dodekanoik asit	Ekşimsi, mumsu, yağlı	Yağ metabolizması
Esterler		
1,2-Benzenedikarboksilik asit, dietil ester	Plastik	Karbonhidrat metabolizması
2-hidroksi-isokaproik asit, metil ester	Hoş taze bitkimsi	Aminoasit metabolizması
Asetik asit, metil ester	Rahatlatıcı, ananas, meyveli, elma	Karbonhidrat metabolizması
Ketonlar		
2-Heptanon	Mavi peynir, baharatlı, Rokfort	Yağ metabolizması
2-Bütanon	Tereyağı, ekşi süt, eterik	Karbonhidrat metabolizması
2-Nonanon	Malt gibi, meyveli, sıcak süt	Yağ metabolizması
2,6-Dimetil-4-heptanon	Meyveli, tatlı	Yağ metabolizması
Sülfür bileşenleri		
Dimetil sülfon	Kükürtsü, sıcak süt, yanık	Aminoasit metabolizması

2.1.4 Kefirin sağlık açısından nemi

Kefir, genel refahın yüksek olduğu Doğu Avrupa lkelerinde sağlığa faydalı etkilerinden dolayı uzun bir geçmişe sahiptir (Farnworth, 2005). Kefir fermantasyonu sırasında bazı vitaminlerin sentezlenmesi, protein ve laktozun kısmen parçalanmasıyla kolay sindirilebilir olması, içeriğinde bulunan protein, vitamin ve mineral dağılımının dengeli olması gibi faktörler kefirin sağlık açısından önemini ortaya koymaktadır (Ahmed et al., 2013). Kefir tüketiminin bağışıklık sistemini desteklediği ve patojenlerin çoğalmasını engellediği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Lopitz-Otsoa et al., 2006; Golowczyc et al., 2010).

Eski Sovyetler Birliği'nde metabolik bozukluklar, alerjik hastalıklar ve aterosklerozis gibi rahatsızlıkların tedavisinde; modern tıbbın mümkün olmadığı dönemlerde özellikle Kafkasya'da kanser, gastrointestinal rahatsızlıklar ve tüberküloz tedavisinde kefir kullanıldığı belirtilmektedir (Koroleva, 1988b; Zourari and Anifantakis, 1988). Tomar vd. (2017) kefirde bulunan probiyotik mikroorganizmaların insan sağlığı açısından bazı yararlı etkilerini ve potansiyel etki mekanizmalarını izelge 2.4'te derlemişlerdir.

Çizelge 2.4 Kefirde bulunan probiyotik mikroorganizmaların potansiyel etki mekanizmaları (Tomar vd., 2017)

Yararlı Etki	Etki Mekanizması
Laktoz sindirimine katkı	Bakteriyel laktaz ile laktozun sindirimi
Enterik patojenlere karşı direnç	Bağıışıklık salgılama etkisi, kolonizasyon direnci, intestinal sistemin patojenleri için uygun olmayan koşullara değişimi, toksin bağlama bölgelerinin yapısal değişimi, intestinal flora popülasyonları üzerindeki etki, intestinal mukozada agregasyon oluşturarak patojenlerin bağlanmasını engelleme, patojenlerin epitel hücrelere tutunmasını önlemek
Bağırsak kanserini önleyici etki	Mutajenleri bağlama, karsinojenlerin aktivitesini engelleme, bağırsak mikroorganizmalarının ürettiği karsinojen üreten enzimlerin inhibisyonu, bağıışıklık sistemini güçlendirme, ikincil safra tuzu konsantrasyonunu etkileme
İmmün sisteminin düzenlenmesi	Enfeksiyon ve tümör oluşumuna karşı spesifik olmayan savunma mekanizmasını güçlendirir. Antijene özgü immün yanıtı yardımcı etki, IgA üretimini arttırılması
Kan lipidleri ve kalp hastalıkları	Kolesterolün bakteri hücresi içinde asimilasyonu, safra tuzu hidrolazın dekonjugasyonu ile safra tuzlarının atılımını arttırmak, antioksidasyon etkisi
Hipertansiyonu önleyici etkisi	Peptidazın süt proteinleri üzerine etkisi sonucu oluşan tripeptidler angiotensin-1 enzim dönüşümünü inhibe etmesi, hücre duvarı komponentlerinin angiotensin-1 enzim inhibitörleri gibi davranması
Ürogenital enfeksiyonlar	Üriner ve vajinal bölge hücrelerine adezyon, bölgeye güçlü kolonize olabilme, inhibitör üretimi (H_2O_2 , biyosüfaktant)
<i>H. pylori</i> 'nin neden olduğu enfeksiyonlar	<i>H. pylori</i> inhibitörlerinin (laktik asit, bakteriosin v.b.) üretimi
Hepatik ensefalopati	Üreaz üreten bağırsak florasının inhibisyonu

Thoreux and Schmucker (2001) yaptıkları çalışmada kefir taneleri kullanarak ürettikleri kefirlerle genç (6 aylık) ve yaşlı (26 aylık) sıçan deneklerini beslemişler, genç olanlarda kolera holotoksinine karşı spesifik mukozal immün tepkisini arttırdığını; ancak yaşlı olanlarda herhangi bir etkisinin olmadığını açıklamışlardır.

Hertzler and Clancy (2003) yaptıkları çalışmada sade ve aromalı kefir tüketiminin laktoz sindirimi üzerine etkisini incelemek için yürüttükleri

çalışmada; laktoz intoleransı olan yetişkin bireylere aynı oranda laktoz içeren süt, yoğurt, kefir, aromalı yoğurt ve aromalı kefir vermişlerdir. Yapılan analizler sonucunda süt, yoğurt, kefir, aromalı yoğurt ve aromalı kefirin β -galaktosidaz aktiviteleri sırasıyla 0; 3,4; 5,4; 3,2 ve 5,2 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar hem sade hem de aromalı kefirin β -galaktosidaz aktivitesinin yoğurda göre daha yüksek olduğunu göstermiştir.

Chen et al. (2007) kefir, yoğurt ve pastörize inek sütü ekstraktlarının insan meme kanseri hücreleri (MCF-7) ve normal insan epitel hücreleri (HMECs) üzerine etkisini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada, ekstraktları % 0,31; % 0,63; % 1,25; % 2,5; % 5 ve %10'luk (v/v) konsantrasyonlarda söz konusu hücrelerin olduğu ortama koymuşlar ve 37°C'de 6 gün süreyle inkübasyona bırakmışlardır. MCF-7 hücre gelişimleri kefir ekstraktlarının % 0,63, yoğurt ekstraktlarının ise % 2,5'lik konsantrasyonlarında baskılandığı; kefir ekstraktlarının % 2,5'lik konsantrasyonlarında MCF-7 hücre sayısında % 56'luk, aynı konsantrasyonda yoğurt ekstraktlarının ise MCF-7 hücre sayısında % 14'lük bir azalış sağladığı tespit edilmiştir. Kefir ekstraktları HMECs üzerinde antiproliferatif etki göstermezken, yoğurt ekstraktları % 5 ve % 10'luk konsantrasyonlarda HMECs üzerinde antiproliferatif etki göstermiştir. Pastörize süt ekstraktlarının % 2,5 ve üzerindeki konsantrasyonlarında HMECs ve MCF-7 hücrelerinin çoğalmasını stimüle ettiği belirlenmiştir.

Kefirin *Salmonella*, *Helicobacter*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* ve *Listeria monocytogenes* gibi çeşitli patojen bakterilere karşı antibakteriyel etkisi yapılan çalışmalarla desteklenmiştir (Kwon et al., 2003; Rodrigues et al., 2005). Kefirin sahip olduğu antimikrobiyal etkinin, genel olarak metabolik aktiviteler sonucu ortaya çıkan hidrojen proksit (H_2O_2), etanol, karbondioksit (CO_2), diasetil, peptidler (bakteriyosinler) ve organik asitlerden (laktik asit ve asetik asit) kaynaklandığı düşünülmektedir (Ahmed et al., 2013). Kefirin temel bileşeni olan laktik asitin *E. coli* ve *B. cereus*'a karşı, asetaldehit ve diasetilin *S. aureus*, *E. coli*, *S. Typhimurium* ve bazı mayalara karşı antimikrobiyal etkisi olduğu bildirilmiştir (El-Hayek, 2011).

Gulmez and Guven (2003b) kefirde patojenlerin yaşamsal aktivitelerini incelemek üzere yaptıkları çalışmada; kefire fermantasyon işleminden önce ve sonra *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* 4b ve *Yersinia enterocolitica* O3 suşlarını inoküle etmişler ve 21 günlük soğuk depolama koşullarında davranışlarını incelemişlerdir. Elde edilen verilere göre *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* 4b fermantasyon boyunca gelişme göstermiş ve 21 günlük depolama boyunca canlılıklarını korumuşlardır. *Y. enterocolitica* O3 ise soğuk depolama koşullarında 14 gün canlı kalabilmiştir. Aynı araştırmacılar yaptıkları bir diğer çalışmada *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* 4b ve *Yersinia enterocolitica* O3 türlerini pastörize edilen kefir örneklerine inoküle etmişler ve 21 günlük soğuk depolama boyunca canlılıklarını izlemişlerdir. Pastörize edilen kefirlerde fermantasyon süresince gelişme gösteren patojen mikroorganizmaların depolama boyunca da canlılıklarını korudukları belirlenmiştir. Pastörize edilmiş kefirlerde en dirençli mikroorganizmanın *L. monocytogenes* 4b, pastörize edilmemiş kefir örneklerinde ise en dirençli mikroorganizmanın *E. coli* O157:H7 olduğu tespit edilmiştir (Gulmez and Guven, 2003a).

Karagözlü et al. (2007) yaptıkları çalışmada %5 (w/v) oranında kefir taneleri kullanarak $23\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta 24 saat fermantasyonla ürettikleri kefir örneklerine fermantasyon öncesinde yaklaşık olarak 2 ve 3 log kob/ml seviyelerinde *E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium* ve *S. aureus* bakterilerini inoküle etmişler ve fermantasyon süresince davranışlarını incelemişlerdir. Elde edilen veriler neticesinde inoküle edilen patojen kültürlerin hepsinin asidik ortamlara karşı dirençli oldukları, özellikle *E. coli* O157:H7 ve *S. Typhimurium*'un fermantasyon sonundaki sayılarının başlangıç inokulum miktarına göre logaritmik olarak yaklaşık iki katına çıktığı görülmüştür. Örneklerle inoküle edilen patojenlerden kefire karşı en hassas olan türün *S. aureus* olduğu belirlenmiştir.

Chifiriuc et al. (2011) 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonucu ürettikleri kefirleri $4 - 8^{\circ}\text{C}$ 'de 7 gün boyunca depolamışlar ve örneklerin *B. subtilis* subsp. *spizizenii* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 6538, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 8739, *S. enteritidis* ATCC 13076, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 bakterileri ve *Candida albicans* ATCC 10231 mayası üzerine antimikrobiyal etkisini incelemişlerdir. 24 ve 48 saatlik fermantasyon süresinde üretilen kefir

örneklerinin *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *E. faecalis* ve *S. enteritidis* bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin benzer olduğu ve depolama süresince bu etkinin değişmediği; ancak üretilen kefir örneklerinin *P. aeruginosa* ve *C. albicans* suşlarına karşı herhangi bir inhibe edici aktiviteleri olmadığı belirtilmiştir.

Huseini et al. (2012) kefirin antibakteriyel ve antiinflamatuvar özelliklerini incelemek için sıçanların sırt bölgelerinde 3. derece yanık oluşturmuşlar ve 24 saat sonra yanık yaralarına *P. aeruginosa* ATCC 27853 inoküle etmişlerdir. Daha sonra, oluşturulan yaralar içerisine 24, 48 ve 96 saat boyunca kefir taneleriyle inkübe edilen MRS sıvı kültür ekstraktlarından elde edilen jel ve gümüş sülfadiazin merhemi günde 2 kez olacak şekilde 2 hafta süreyle uygulanmıştır. 96 saatlik kefir jeli ve gümüş sülfadiazin merheminin antimikrobiyal etkilerinin benzer olduğu; ancak 96 saatlik kefir jeli uygulanan yaraların iyileşme süresinin (14 gün) gümüş sülfadiazin merhemine (24 gün) göre daha kısa olduğu tespit edilmiştir.

2.2 Mikrobiyal Polisakkaritler

Pek çok mikroorganizma tarafından sentezlenebilen mikrobiyal polisakkaritler, üreticileri olan mikroorganizmalar tarafından hücre savunması, virülans ekspresyonu, yüzeylere veya diğer hücrelere bağlanma ve enerji rezervleri gibi farklı amaçlarla kullanılmaktadırlar. Mikrobiyal polisakkaritlerin çoğu insan diyetinde ve gıda endüstrilerinde, gıdalarda doğal olarak bulunan bir bileşen olarak kullanılırken; mikrobiyal fermantasyon işlemi sonucu elde edilen mikrobiyal polisakkaritler saflaştırılarak gıda sanayiinde, farmasötiklerde, kozmetik ürünlerde ve diğer endüstriyel alanlarda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Sutherland, 1998).

Mikrobiyal polisakkaritler; hücre duvarının bir parçası olarak (fungal β -glukanlar), enerji rezervi (polihidroksibutirat) olarak, koruyucu kapsül veya diğer yüzeylere yapışmayı kolaylaştırıcı (ksantan ve gellan gibi) olarak çoğu mikroorganizmada bulunmaktadır (Giavasis et al., 2000). Hücre dışına çıkan mikrobiyal ekzopolisakkaritler (EPS, hücre dışı polisakkaritler) çöktürme işlemi

ardından filtrasyon veya santrifüjleme ile kolaylıkla ayrılabilirlerken, hücre duvarı polisakkaritlerinin izole edilmesi ve saflaştırması zordur. Bunun nedeni, alkolle çöktürme işleminden önce hücre safsızlıklarının giderilmesi için ekstra bir işlem gerekmesidir (Giavasis and Biliaderis, 2006).

2.2.1 Levan

Doğada bitkilerde, mayalarda, küflerde ve bakterilerde belli miktarlarda bulunan levan, D-fruktofuranosillerin β -2,6 bağlarıyla bağlı ve β -2,1 bağlarında dallanma yapan bir homopolisakkarittir (Şekil 2.3). Bitkisel levanlar 8 – 10 fruktoz zincirinden oluşurken, mikrobiyal levanlar 1000 – 2000 moleküle kadar zincir uzunluğuna sahip olabilmektedir. Bu durum da levanın moleküler ağırlığını önemli ölçüde etkilemektedir; bitkisel levanların ortalama molekül ağırlığının 2000 – 33000 Da, mikrobiyal levanların ise 2×10^6 – 100×10^6 Da aralığında olduğu belirtilmiştir (Han, 1990; Arvidson et al., 2006; Sturzoiu et al., 2012).

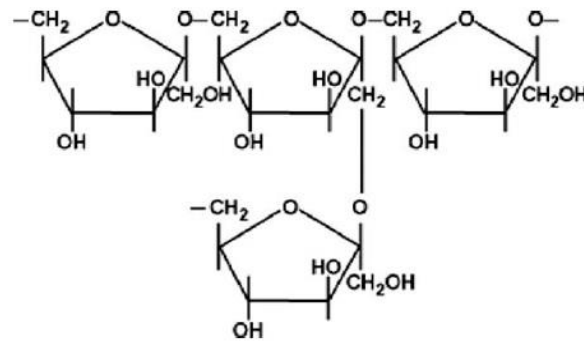
Mikrobiyal levan sakkaroz içeren ortamlarda pek çok mikroorganizma tarafından üretilmektedir. Bunlardan bazıları; *Acetobacter pasteurianus*, *Actinomyces viscosus*, *Achromobacter* ssp., *Aerobacter aerogenes*, *Aerobacter levanicum*, *Arthrobacter ureafaciens*, *Azotobacter chroococum*, *Bacillus asterosporus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. megaterium*, *B. mesentericus*, *B. polymyxa*, *B. subtilis*, *Corynebacterium levaniformans*, *Corynebacterium beticola*, *Gluconobacter oxydans*, *Leu. mesenteroides*, *Micobacterium laevaniformans*, *Odontomyces viscosus*, *Phytomonas pruni*, *Pseudomonas aureofaciens*, *P. chlororaphis*, *P. fluorescens*, *Rothia dentocariosa*, *Streptococcus* ssp., *Streptococcus salivarius*, *Xanthomonas* ssp., *Zymomonas mobilis*, *Aspergillus sydawi* ve *Aspergillus versicolor* olarak belirtilmektedir (Ghaly et al., 2007).

Uzun fruktan zincirlerinden oluşmasından dolayı nötr bir tada sahip olan levan, suda ve yağda çözünebilen, aside, alkaliye ve ısıya dirençli ve stabildir. Ayrıca tuzlar ve yüzey aktif maddelerle uyumlu, su ve kimyasal tutma kapasitesine sahiptir ve film oluşturabilmektedir (Bekers et al., 2005).

Bello et al. (2001) yaptıkları çalışmada *Lactobacillus sanfranciscensis* suşları tarafından üretilen levan-tipi ekzopolisakkaritlerin prebiyotik özelliklerini *in vitro* olarak incelemişler ve ticari olarak üretilen levan, inülin ve fruktooligosakkarit (FOS) ile karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar, *Bifidobacterium* ssp. sayılarının levan-tipi ekzopolisakkaritler ve inülin içeren ortamda arttığını; ancak levan ve FOS ilavesinin herhangi bir etkisi olmadığını belirtmişlerdir.

Jang et al. (2003) sıçan diyetlerine levan ilavesinin çekum ağırlığı, çekum ve kolon kısa zincirli yağ asitleri konsantrasyonu, pH ve bağırsak mikroflorası üzerine etkilerini *in vivo* olarak incelemişler ve levan kullanımının çekum ve duvar ağırlığını önemli ölçüde arttırdığını, dışkıdaki toplam mikroorganizma sayısını 5 kat, laktik asit üreten bakteri sayısını ise 30 kat arttırdığını rapor etmişlerdir.

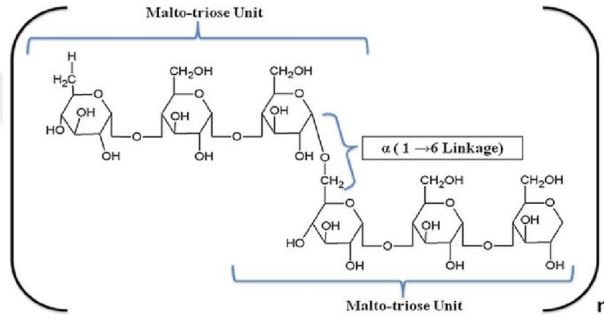
Aldelhamid et al. (2018) daha önce probiyotik karakteristikleri doğrulanmış olan *B. subtilis* türüne ait iki suşun ürettikleri levanlar ile birlikte kullanılması durumunda bağırsak mikrobiyotası, bağışıklık sistemi ve *S. Typhimurium* enfeksiyonuna karşı etkilerini *in vivo* olarak incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmalar sonucunda simbiyotik suşların bağırsaktaki koliform sayılarının 1,5 logaritmik birim azaldığını, *Lactobacillus* cinsi bakteri sayılarının ise yaklaşık olarak 0,8 logaritmik birim arttığını rapor etmişlerdir. Ayrıca elde edilen sonuçların, probiyotik suşlar ile levanlar arasındaki etkileşimin patojen komplikasyonlarına karşı optimal karaciğer koruması sağlayan sinbiyotikler olarak kullanılabileceğini gösterdiği belirtilmiştir.



Şekil 2.3 Levanın moleküler yapısı (Manandhar et al., 2009)

2.2.2 Pullulan

İlk olarak *Aureobasidium pullulans*'ın fermantasyon sıvısından elde edilen suda çözünebilir ve nötral bir mikrobiyal ekzopolisakkarit olan pullulan Bauer tarafından 1938 yılında rapor edilmiştir. Kimyasal olarak başlıca α -1,6 glikozidik bağlarıyla bağlı maltotrioz ünitelerinden ve az sayıda maltotetroaz ünitelerinden oluşan ve kimyasal formülü $C_6H_{10}O_5$ olan pullulanın moleküler ağırlığı üretim parametrelerinden büyük ölçüde etkilenmekte ve $4,5 \times 10^4 - 6 \times 10^5$ Da aralığında değişmektedir (Ueda et al., 1963; Seviour et al., 1992; Lee and Yoo, 1993). Pullulanın moleküler yapısı Şekil 2.4'te sunulmuştur.



Şekil 2.4 Pullulanın moleküler yapısı (Mishra et al., 2018)

Literatürde çoğu mikroorganizmanın pullulan üretebildiği raporlanmıştır; bunlardan bazıları *Aureobasidium ssp.*, *Tremella mesenterica*, *Cytaria ssp.*, *Cryphonectria parasitica*, *Teloschistes flavicans* ve *Rhodotorula bacarum* olarak belirtilmektedir (Cheng et al., 2011).

Pullulan genellikle soslarda ve içeceklerde dengeleyici ve viskozite artırıcı olarak, pH ve sıcaklık değişimlerinde düşük ama stabil bir viskozite sunan ve yapışkan özellikleri sayesinde şekerleme gibi ürünlerde bağlayıcı olarak, katı ve sıvı gıdalarda ise kıvam, nem ve gaz tutulmasını kuvvetlendirdiği için nişasta yerine alternatif olarak kullanılabilir (Okada et al., 1990; Singh et al., 2008). Tiwari et al. (2019) pullulanın farmasötik yardımcı ajan, doku mühendisliği, hedef ilaç teslimi, gen teslimi, atık dönüşümü, gıda ve kozmetik gibi çeşitli uygulama alanlarına sahip olduğunu derlemişlerdir.

Pullulanın potansiyel prebiyotik özelliklerinin varlığı memeli amilazlarına karşı hidrolitik direnci, sindirilmeyen ve düşük kalorili bir gıda katkı maddesi olmasıyla pullulanın bağırsaktaki probiyotik aktiviteleri uyardığı yapılan çalışmalarla desteklenmiştir (Tiwari et al., 2019). Yapılan başka bir çalışmada ise pullulan, insan tükürüğündeki α -amilaz enzimi tarafından sindirilemeyen kısa zincirli oligomerlere kısmi bozunmalarıyla *Bifidobacterium* ssp. türlerinin üremesini desteklemek için diyet lifi ve prebiyotik olarak kullanılmıştır (Cheng et al., 2011).



3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Bu tez çalışması kapsamında kullanılan kefir taneleri Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü'nden, liyofilize kefir kültürü ise Chr. Hansen Şirketinin Polonya Varşova'da faaliyet göstermekte olan fabrikasından temin edilmiştir. Liyofilize kefir kültürünün içerdiği mikroflora bilgileri Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 Liyofilize kefir kültürü mikroflora içeriği (Anon, 2019b)

Ürün adı	Exact® Kefir 1
Kültür içeriği	• <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> • <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i> • <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> • <i>Leuconostoc</i> • <i>Streptococcus thermophilus</i> • <i>Debaryomyces hansenii</i>

Çalışmada kefir örneklerine inoküle edilmek üzere *E. coli* (ATCC 35401, ATCC 53498), *S. Enteritidis* (ATCC 13076), *L. monocytogenes* (ATCC 15313, ATCC 7644) referans kültürleri ve suşiden izole edilen *S. aureus* (SUS 2, SUS 6) kültürü kullanılmıştır. Kültürler, Olstyn Warmia ve Mazury Üniversitesi (Polonya), Süt Ürünleri ve Kalite Yönetimi Bölümü ile Mikrobiyoloji Bölümü'nden temin edilmiştir.

Çalışmada kullanılan UHT süt Olstyn'de bulunan yerel bir marketten (Polonya); besiyerleri ve kimyasallar ise Olstyn Warmia ve Mazury Üniversitesi (Polonya), Süt Ürünleri ve Kalite Yönetimi Bölümü'nden temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan mikrobiyal levan Montana Polysaccharides Corp. (ABD) ve mikrobiyal pullulan ise Hayashibara Co. (Japonya) firmalarından temin edilmiştir.

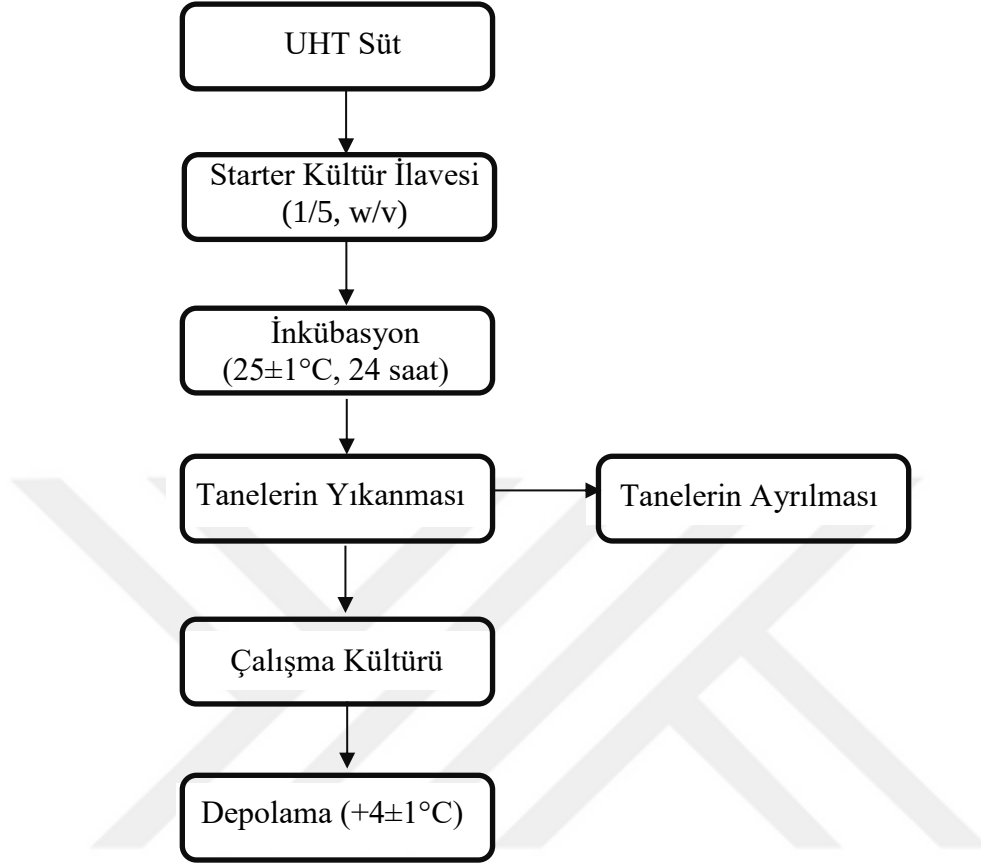
3.2 Metot

3.2.1 Kefir Taneleri ve Liyofilize Kefir Kültürlerinin Aktivasyonu ve Kefir  retimi

3.2.1.1 Kefir tanelerinin aktivasyonu ve çalışma kültürünün hazırlanması

Steril saf su içerisinde bekletilen kefir tanelerinin aktivasyonu için öncelikle tanelere 1/5 (w/v) oranında %2 yağ oranına sahip 25 C sıcaklığa ısıtılmış UHT süt (SM Mlekovita, Polonya) eklenerek 25 1 C sıcaklıkta 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonunda sütte gaz kabarcıklarının görülmesiyle kefir tanelerinin aktifleştiği kabul edilmiştir (Marshall and Cole, 1985; Kim et al., 2018). Inkübasyon sonunda kefir taneleri aseptik şartlar altında ayrılarak, steril saf su ile yıkanmış ve yine steril saf su içerisinde +4 1 C’de bir sonraki kullanıma kadar saklanmıştır. Tanelerin canlılıklarını kaybetmemeleri için haftada bir aktivasyon işlemi tekrarlanmıştır. şekil 3.1’de kefir tanelerinin aktivasyon işlemi akış şeması verilmiştir.

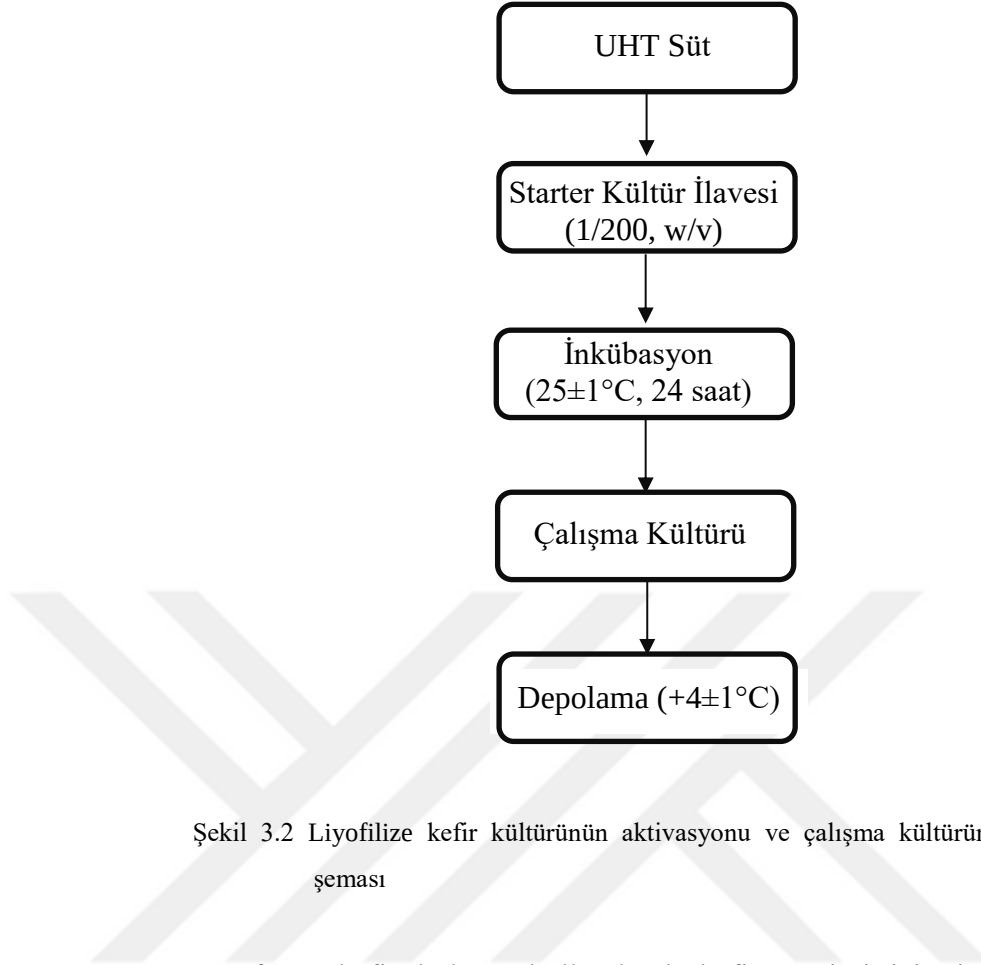
Kefir taneleri kullanılarak kefir üretimi için, taneler aktifleştirildikten sonra %5 (w/v) oranında UHT süt ile 25 1 C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon işlemi sonunda pıhtı karıştırılmış, taneler pıhtıdan aseptik olarak ayrılmış ve yukarıda anlatıldığı şekilde saklanmıştır. Elde edilen sıvı fazdaki ürün ise kefir üretimi için çalışma kültürü olarak kullanılmıştır. Deneysel çalışmada kullanılacak kefir örneklerinin üretimi için, %3 (v/v) oranında çalışma kültürü UHT süte ilave edilmiş ve belirlenen çalışma şartlarında inkübasyona bırakılmıştır (Kim et al., 2018).



Şekil 3.1 Kefir tanelerinin aktivasyonu ve çalışma kültürünün hazırlığı akış şeması

3.2.1.2 Liyofilize kefir kültürünün aktivasyonu ve çalışma kültürünün hazırlanması

Liyofilize kefir kültürünün aktivasyonu için UHT süt steril cam şişeye aktarılarak fermentasyon sıcaklığına (25°C) kadar ısıtılmıştır. Daha sonra Chr. Hansen şirketi tarafından belirtilen liyofilize kefir kültürü kullanım talimatları laboratuvar ölçeğine göre modifiye edilerek aseptik şartlar altında 1/200 (w/v) oranında süte ilave edilmiş, 25±1°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda elde edilen ürün, kefir üretimi için çalışma kültürü olarak kullanılmıştır (Kim et al., 2018; Anon, 2018). Liyofilize kefir kültürünün aktivasyonu Şekil 3.2’de gösterilmiştir.



Şekil 3.2 Liyofilize kefir kültürünün aktivasyonu ve çalışma kültürünün hazırlığı akış şeması

Liyofilize kefir kültürü kullanılarak kefir üretimi için ise Şekil 3.2’de anlatıldığı gibi çalışma kültürü hazırlanmış ve %3 (v/v) oranında UHT süte eklenerek belirlenen çalışma şartlarında inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.2 Gr(+) ve Gr(-) bakteri kültürlerinin hazırlığı

Gliserol stoklarda muhafaza edilen Gr(+) ve Gr(-) bakteri kültürleri (*E. coli*, *S. Enteritidis*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus*), Nutrient Broth (pH 7,0 ± 0,2, Merck KGaA, Almanya) besiyerine transfer edilmiştir. *S. Enteritidis* hariç birden fazla suş içeren kültürlerinin aktivasyonunda, her bir suştan eşit hacimdeki stok kültür, besiyerine transfer edilerek 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (Kowalik et al., 2018).

Örneklere Gr(+) ve Gr(-) bakteri inokülasyonu 24 saatlik taze kültürler kullanılarak yapılmıştır. Aktifleştirilen kültürler Maximum Recovery Diluent (MRD; pH 7,0 ± 0,2, Merck KGaA, Almanya) çözeltisi kullanılarak 1:100

oranında seyreltilmiş ve 100 µL alınarak örneklerle inoküle edilmiştir. Böylelikle örneklerdeki Gr(+) veya Gr(-) bakterilerin son konsantrasyonunun yaklaşık olarak 10^4 kob/ml olması sağlanmıştır.

3.2.3 Kefir üretiminde kontrol ve deneme grupları

Yapılan tez çalışmasında kefirin mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özellikleri ile birlikte depolama süresi boyunca bazı Gr(+) ve Gr(-) bakterilere karşı davranışlarının belirlenmesi amacıyla starter kültür çeşidi, fermantasyon sıcaklığı, mikrobiyal levan ve mikrobiyal pullulan ilavesi ile fermantasyondan önce ve sonra Gr(+) ve Gr(-) bakteri inokülasyonu gibi farklı parametreler kullanılarak kontrol ve deneme grupları oluşturulmuştur.

Çalışmada kullanılan kontrol grupları oluşturulurken, örneklerle herhangi bir Gr(+) ve Gr(-) bakteri inokülasyonu yapılmamış; sadece farklı mikrobiyal polisakkaritler (levan ve pullulan) ve farklı fermantasyon sıcaklıkları (22°C ve 30°C) kullanılarak üretim yapılmıştır. Fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal analizler depolama süresince (0, 7 ve 14. gün) gerçekleştirilmiştir. Her bir depolama süresi için 12 farklı örnek (T22, TL22, TP22, T30, TL30, TP30, L22, LL22, LP22, L30, LL30, LP30) olacak şekilde toplamda 36 adet kontrol grubu hazırlanmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2 Kontrol grupları üretim parametreleri ve örnek kodlamaları

Starter Kültür	Fermantasyon Sıcaklığı	Mikrobiyal polisakkarit	Örnek Kodu
Kefir Taneleri	22°C	İlave edilmemiş	T22
		Levan	TL22
		Pullulan	TP22
	30°C	İlave edilmemiş	T30
		Levan	TL30
		Pullulan	TP30
Liyofilize Kefir Kültürü	22°C	İlave edilmemiş	L22
		Levan	LL22
		Pullulan	LP22
	30°C	İlave edilmemiş	L30
		Levan	LL30
		Pullulan	LP30

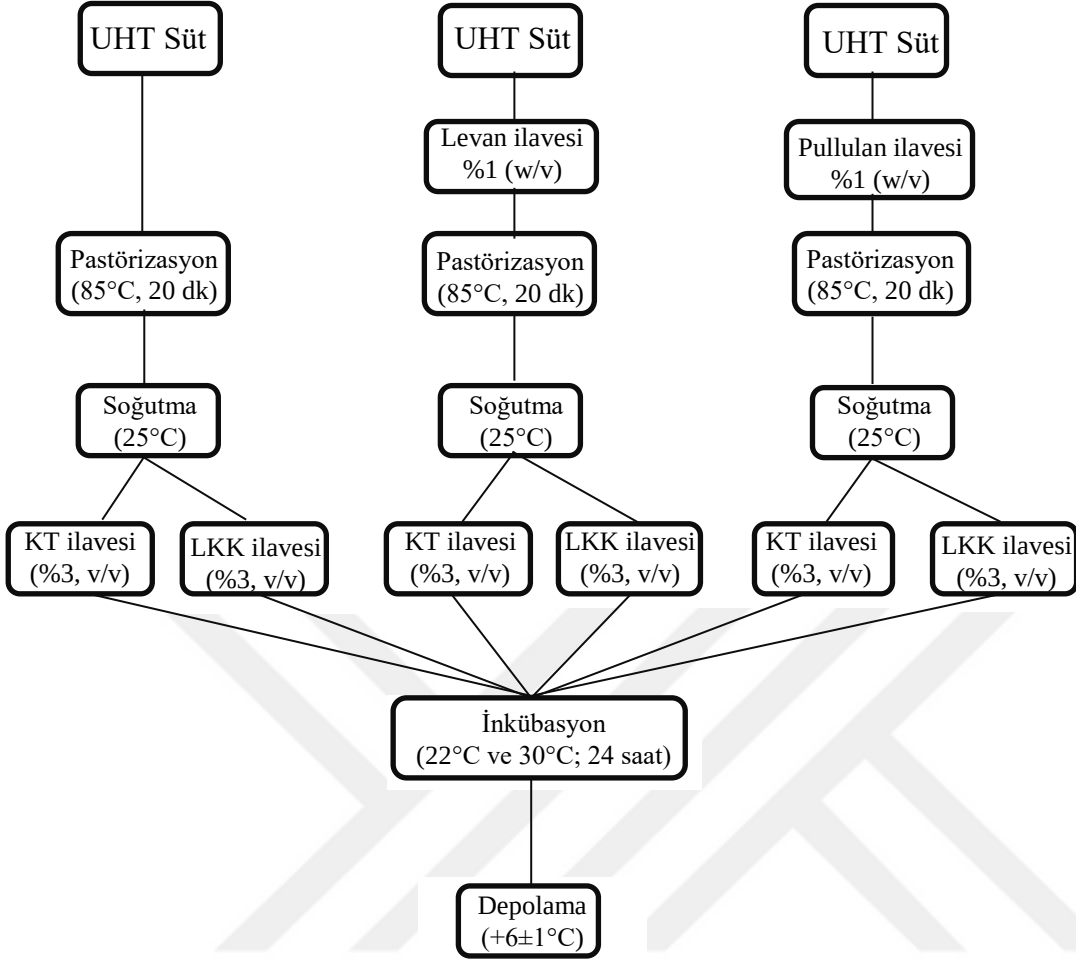
Deneme grupları oluşturulurken ise kontrol gruplarında kullanılan parametrelere ek olarak 2 adet Gr(+) ve 2 adet Gr(-) bakteri türü ile inokülasyonları yapılmış; ancak bunlar yapılırken bir grup fermantasyondan önce diğer grup ise fermantasyondan sonra inokülasyon yapılacak şekilde hazırlanmıştır. Deneme gruplarına uygulanan analizler depolamanın 0, 7 ve 14. günlerinde gerçekleştirilmiştir (Fermantasyondan sonra Gr(+) ve Gr(-) bakteri inokülasyonları yapılan örneklerin depolama başlangıcında Gr(+) ve Gr(-) bakteri sayıları $\sim 4 \log \text{ kob/ml}$ kabul edildiği için mikrobiyolojik analizleri yalnızca depolamanın 7 ve 14. günlerinde yapılmıştır.). Her bir depolama süresi için ve tek bir Gr(+) ve Gr(-) mikroorganizma inokülasyonu için 24 farklı örnek (TÖ22, TS22, TLÖ22, TLS22, TPÖ22, TPS22, TÖ30, TS30, TLÖ30, TLS30, TPÖ30, TPS30, LÖ22, LS22, LLÖ22, LLS22, LPÖ22, LPS22, LÖ30, LS30, LLÖ30, LLS30, LPÖ30, LPS30) olacak şekilde toplamda 240 adet deneme grubu hazırlanmıştır (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3 Deneme grupları üretim parametreleri ve örnek kodlamaları

Starter Kültür	Fermantasyon Sıcaklığı	Mikrobiyal polisakkarit	İnokülasyon Zamanı	Örnek Kodu
Kefir Tanesi	22°C	İlave edilmemiş	Fermantasyondan Önce	TÖ22
			Fermantasyondan Sonra	TS22
		Levan	Fermantasyondan Önce	TLÖ22
			Fermantasyondan Sonra	TLS22
		Pullulan	Fermantasyondan Önce	TPÖ22
			Fermantasyondan Sonra	TPÖ22
	30°C	İlave edilmemiş	Fermantasyondan Önce	TÖ30
			Fermantasyondan Sonra	TS30
		Levan	Fermantasyondan Önce	TLÖ30
			Fermantasyondan Sonra	TLS30
		Pullulan	Fermantasyondan Önce	TPÖ30
			Fermantasyondan Sonra	TPS30
Liyofilize Kefir Kültürü	22°C	İlave edilmemiş	Fermantasyondan Önce	LÖ22
			Fermantasyondan Sonra	LS22
		Levan	Fermantasyondan Önce	LLÖ22
			Fermantasyondan Sonra	LLS22
		Pullulan	Fermantasyondan Önce	LPÖ22
			Fermantasyondan Sonra	LPS22
	30°C	İlave edilmemiş	Fermantasyondan Önce	LÖ30
			Fermantasyondan Sonra	LS30
		Levan	Fermantasyondan Önce	LLÖ30
			Fermantasyondan Sonra	LLS30
		Pullulan	Fermantasyondan Önce	LPÖ30
			Fermantasyondan Sonra	LPS30

3.2.3.1 Kontrol gruplarının hazırlığı

250 ml hacme sahip steril cam şişelere 50'şer ml UHT süt dağıtılmış ve şişelerden ikişer tanesine %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilave edilmiştir. Sütlere 85°C'de 20 dakika ısıtılma işlemi uygulanmış ve hızlıca 25°C'ye soğutulmuştur (Dinç, 2008). Daha sonra ise kefir taneleri ve liyofilize kefir kültürü kullanılarak Bölüm 3.2.1'de anlatıldığı şekilde üretilen çalışma kültürlerinden %3 (v/v) oranında şişelerdeki süte aseptik olarak eklenmiştir. Her iki kefir grubu için şişeler kendi fermentasyon sıcaklıklarında (22°C veya 30°C) 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında ise örnekler +6±1°C'de depolanmıştır. Yapılan gözlemler sonucunda, İzmir (Türkiye) ve Olsztyn (Polonya) bölgelerinde bulunan yerel marketlerde satılan kefirlerin yaklaşık olarak +6±1°C koşullarında depolandığı tespit edilmiştir, bu nedenle tez çalışması kapsamında örneklerin depolama sıcaklığı olarak +6±1°C seçilmiştir. Kontrol grubu kefir örneklerinin hazırlığına ait akış şeması Şekil 3.3'te gösterilmiştir.

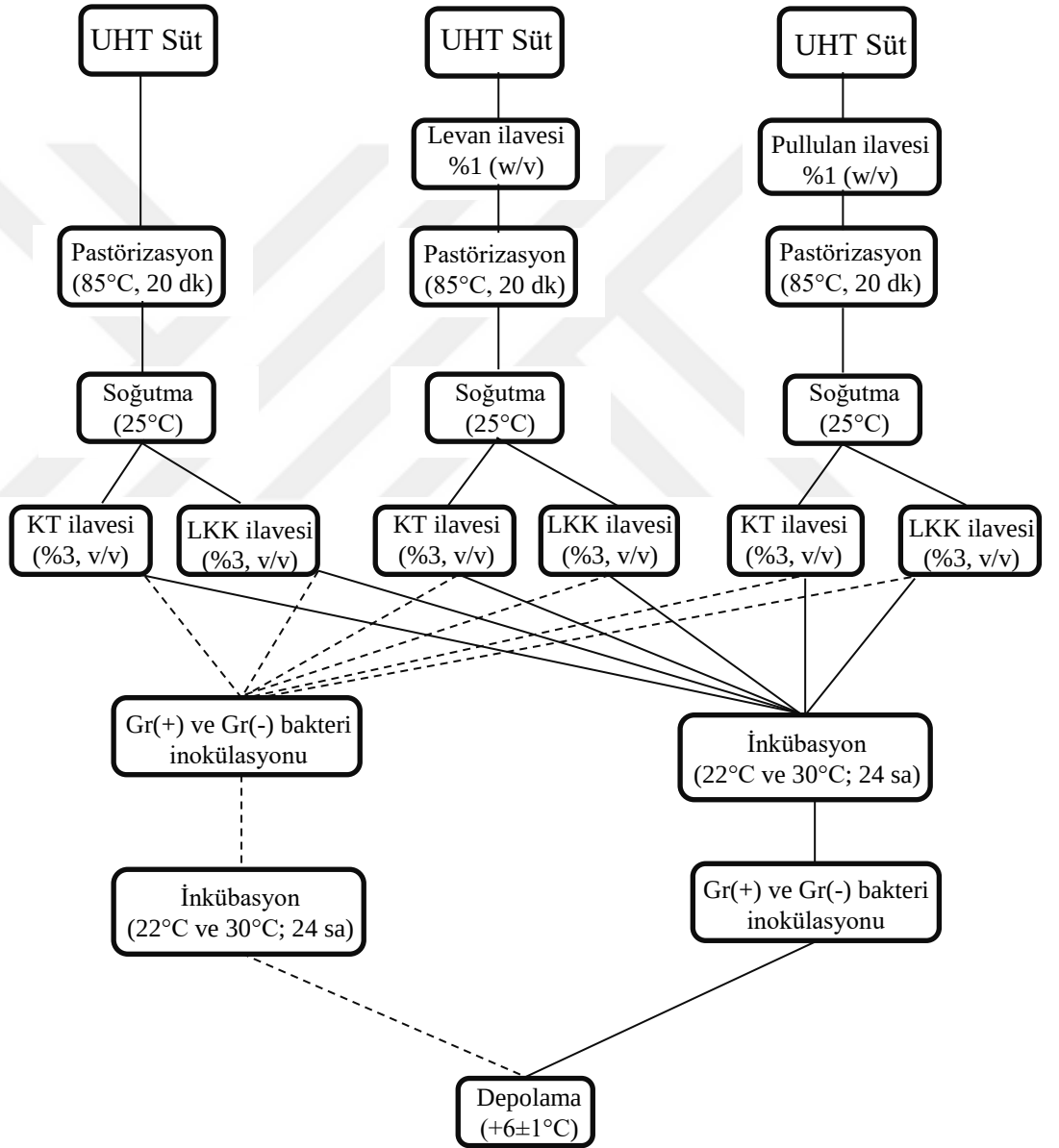


Şekil 3.3 Kontrol grubuna ait kefir örneklerinin hazırlığı akış şeması (KT: Kefir taneleri kullanılarak hazırlanan çalışma kültürü; LKK: Liyofilize kefir kültürü kullanılarak hazırlanan çalışma kültürü)

3.2.2.2 Deneme gruplarının hazırlığı

Deneme grupları hazırlanırken öncelikle 500 ml’lik şişelere UHT süt paylaştırılarak ve %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilave edilerek pastörize (85°C, 20 dakika) edilmiştir. Ardından hızlıca 25°C’ye soğutulan sütler, 100 ml hacme sahip steril plastik kaplara 20’şer ml olacak şekilde dağıtılmıştır. Daha sonra ise %3 (v/v) oranındaki çalışma kültürleri eklenmiş ve Gr(+) ve Gr(-) bakteri inokülasyonları yapılmıştır. Fermantasyondan önce yapılacak Gr(+) ve Gr(-) bakteri inokülasyonları için Bölüm 3.2.2’de anlatıldığı şekilde hazırlanan taze kültürlerden 100 µl’si doğrudan örnekler eklenmiş ve örnekler kendi sıcaklıklarında (22°C ve 30°C) 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Fermantasyondan sonra Gr(+) ve Gr(-) bakteri inokülasyonları yapılacak örnekler

ise yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlandıktan sonra kendi sıcaklıklarında 24 saat inkübasyona bırakılmış, inkübasyondan sonra Gr(+) ve Gr(-) bakteri inokülasyonları yapılmıştır. Hazırlanan bütün örnekler inoküle edilen Gr(+) ve Gr(-) bakterilerin son konsantrasyonlarının yaklaşık olarak 10^4 kob/ml olması sağlanmıştır. Son olarak örnekler vakit kaybetmeden $+6\pm1^\circ\text{C}$ 'de depolamaya alınmıştır. Deneme grubuna ait kefir örneklerinin hazırlığı akış şeması Şekil 3.4'te gösterilmiştir.



Şekil 3.4 Deneme grubuna ait kefir örneklerinin hazırlığı akış şeması (KT: Kefir taneleri kullanılarak hazırlanan çalışma kültürü; LKK: Liyofilize kefir kültürü kullanılarak hazırlanan çalışma kültürü)

3.3 Analiz Yöntemleri

3.3.1 Fiziksel ve kimyasal analizler

3.3.1.1 pH tayini

Kontrol gruplarına ait kefir örneklerinin pH değerleri, Adwa AD 110 marka pH metre ile belirlenmiştir (Kim et al., 2018).

3.3.1.2 Titrasyon asitliği tayini

Kontrol gruplarına ait kefir örneklerinden 10 ml alınarak üzerine 1 ml fenolftalein çözeltisi eklenmiş ve 0,1 N sodyum hidroksit çözeltisi damla damla ilave edilerek titre edilmiştir. Harcanan NaOH çözeltisinin miktarı belirlenerek titrasyon asitliği miktarı yüzde laktik asit cinsinden hesaplanmıştır (Subramanian and Rodriguez-Saona, 2010).

$$\%TA = [(a \times N \times meq \times F) / \ddot{O}] \times 100$$

TA: Titrasyon Asitliği (%)

a: Harcanan NaOH miktarı (ml)

N: NaOH'ın normalitesi

F: NaOH'ın faktörü

meq: Laktik asitin miliekivalent ağırlığı

Ö: örnek miktarı (ml)

3.3.1.3 Mikrobiyal ekzopolisakkarit (EPS) miktarı

Mikrobiyal ekzopolisakkarit (EPS) miktarının belirlenmesi için öncelikle 30 gram kontrol grubuna ait örnek tartılmış ve 11000 x g'de 4°C'de 4 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra süpernatanta 2 hacim %96'lık etanol eklenmiş ve 4°C'de 12 saat bekletilmiştir. Daha sonra karışım 2000 x g'de 4°C'de 15 dakika boyunca santrifüj edilmiş ve EPS içeren çökelti 10 ml saf su ile süspanse edilmiştir. Süspansiyona 250 µl %80'lik trikloroasetik asit (TCA; Aktyn, Polonya) çözeltisi ilave edilmiş ve 4°C'de 12 saat bekletilmesinin ardından 2000 x g'de 4°C'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant alındıktan

sonra saf su ile süspanse edilmiş ve TCA prosesi yukarda anlatıldığı şekilde bir kez daha tekrar edilmiştir. Son olarak mikrobiyal EPS içeren karışım 55°C’de kurutulmuş ve tartımları yapılmıştır (Purwandari et al., 2007).

3.3.2 Mikrobiyolojik analizler

Kefir örneklerinin mikrobiyolojik analizleri için, örneklerden 10 ml alınarak 90 ml steril MRD çözeltilisine aktarılmıştır. Daha sonra karışım vorteks ile karıştırılmış ve MRD çözeltilisi ile diğer seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Orijinal örnekten ve uygun dilüsyonlardan petrilere paralel ekimler yapılarak, depolamanın belirlenen analiz günlerinde sayımları alınmıştır.

3.3.2.1 Maya sayımı

Kefir örneklerinde maya sayımı yalnızca kontrol gruplarında yapılmıştır. Uygun dilüsyonlardan 1’er ml örnek alınmış ve dökme plak yöntemine göre Yeast Extract Glucose Chloramphenicol (YGC) Agar (pH 6,6 $\pm$ 0,2, Merck KGaA, Almanya) besiyeri kullanılarak ekimleri yapılmıştır. Ekimleri tamamlanan petriler 25 $\pm$ 1°C’de 5 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda gelişen koloniler sayılarak hesaplamaları yapılmıştır (Tournas et al., 2001).

3.3.2.2 Laktik asit bakterileri sayımı

Kefir örneklerinde laktik asit bakterileri sayımı yalnızca kontrol grupları üzerinde uygulanmıştır. *Lactobacillus* türü mikroorganizmaların sayımı için, uygun dilüsyonlardan alınan örneklerin dökme plak yöntemine göre 200 ppm cycloheximide (Sigma-Aldrich Co., ABD) eklenmiş de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) Agar (pH 5,7 $\pm$ 0,2, Merck KGaA, Almanya) besiyerine çift tabaka ekimleri yapılmıştır. Daha sonra petriler 30°C’de 5 – 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda gelişen koloniler sayılarak hesaplamaları yapılmıştır (Irigoyen et al., 2005).

Laktik streptokok türüne ait mikroorganizmaların sayımı için ise 200 ppm cycloheximide ilave edilmiş M17 agar (pH 7,2 $\pm$ 0,2, Merck KGaA, Almanya) besiyerine çift tabaka dökme plak yöntemine göre ekimler yapılmış, petriler

37°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda gelişen koloniler sayılarak hesaplamaları yapılmıştır (Flasarova et al., 2016).

3.3.2.3 Escherichia coli sayımı

E. coli inoküle edilen örneklerde sayının belirlenmesi amacıyla örneklerden Bölüm 3.3.1'de anlatıldığı şekilde seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan uygun dilüsyonlardan ve orijinal örnekten dökme plak yöntemine göre MacConkey Agar (MCA; pH 7,3±0,2, Merck KGaA, Almanya) besiyerine ekimler yapılmış ve petriler 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda kırmızı renkli koloniler sayılarak gerekli hesaplamalar yapılmıştır (Feng et al., 2002).

3.3.2.4. Salmonella Enteritidis sayımı

S. Enteritidis inoküle edilen örneklerde sayının belirlenmesi amacıyla, örneklerden Bölüm 3.3.1'de anlatıldığı şekilde seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan uygun dilüsyonlardan ve orijinal örnekten dökme plak yöntemine göre Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) Agar (pH 7,4±0,2, Merck KGaA, Almanya) besiyerine ekimler yapılmış ve petriler 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda siyah merkezli koloniler sayılarak gerekli hesaplamalar yapılmıştır (Abatemarco et al., 2018).

3.3.2.5 Staphylococcus aureus sayımı

S. aureus inoküle edilen örneklerde sayının belirlenmesi amacıyla, örneklerden Bölüm 3.3.1'de anlatıldığı şekilde seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan uygun dilüsyonlardan ve orijinal örnekten yayma plak yöntemine göre Baird Parker Agar (BPA; pH 6,8±0,2, Merck KGaA, Almanya) besiyerine ekimler yapılmış ve petriler 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda şeffaf haleli, siyah ve gri koloniler sayılarak gerekli hesaplamalar yapılmıştır (Tallent et al., 2001).

3.3.2.6 *Listeria monocytogenes* sayımı

L. monocytogenes inoküle edilen örneklerde sayının belirlenmesi amacıyla, örneklerden Bölüm 3.3.1’de anlatıldığı şekilde seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan uygun dilüsyonlardan ve orijinal örnekten dökme plak yöntemine göre Chromocult Listeria Agar Selective-Supplement (Merck KGaA, Almanya) ilave edilmiş Listeria Selective Agar (LSA; pH 7,2±0,2, Merck KGaA, Almanya) besiyerine ekimler yapılmış ve petriler 37°C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda yeşil renkli koloniler sayılmış ve hesaplamalar yapılmıştır (Hitchins et al., 2017).

3.3.3 Duyusal değerlendirme

Kontrol gruplarına ait kefir örneklerinin renk, lezzet, kıvam ve genel beğeni özellikleri hedonik test uygulanarak değerlendirilmiştir. Duyusal değerlendirme panelleri Olstyn Warmia ve Mazury Üniversitesi (Polonya), Süt Ürünleri ve Kalite Yönetimi Bölümü Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Olstyn Warmia ve Mazury Üniversitesi öğrencilerinden 8 kişilik bir panel grubu oluşturulmuş ve değerlendirilecek ürün çeşitleri ile ilgili olarak öncelikle bir eğitim verilmiştir. Mikrobiyal polisakkarit (levan ve pullulan) ilave edilerek ve herhangi bir mikrobiyal polisakkarit içermeyen örnekler, 22°C ve 30°C’de 24 saat fermentasyona bırakılmış, ardından +4±1°C’de 6 – 7 saat soğumaya bırakılmış, panelistlere sunulmuş ve panelistler sunulan örnekleri 10 puanlık hedonik test (10: Çok Beğendim, 1: Hiç Beğenmedim) uygulayarak değerlendirmiştir (Altuğ ve Elmacı, 2005).

Ad – Soyad:

Tarih:

Lütfen size sunulan ürünlerin aşağıdaki tabloda belirtilen özelliklerini beğeni durumunuza göre 1’den 10’a kadar puanlayınız (1: Hiç Beğenmedim 10: Çok Beğendim).

Örnek Kodu:	Renk	Lezzet	Kıvam	Genel Beğeni

Şekil 3.5 Duyusal değerlendirme formu

3.3.4 İstatistiksel değerlendirme

Tüm denemeler üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları SPSS 15 paket programı kullanılarak tek yönlü ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma metotları ile $p \leq 0,05$ önem seviyesinde değerlendirilmiştir (SPSS, 2004).



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu tez çalışması kapsamında kefir tanelerinden ve liyofilize kefir kültüründen farklı mikrobiyal polisakkaritler (levan ve pullulan) kullanılarak ve farklı fermantasyon sıcaklıklarında (22°C ve 30°C) üretilen kefir örnekleri, 4 farklı Gr(+) ve Gr(-) bakteri kültürleri (*E. coli* ATCC 35401, ATCC 53498; *S. Enteritidis* ATCC 13076; *S. aureus* SUS 2, SUS 6; *L. monocytogenes* ATCC 15313, ATCC 7644) ile inoküle edilmiştir. Gr(+) ve Gr(-) bakteri inokülasyonları fermantasyondan önce ve sonra olacak şekilde yapılmıştır. Kefir örneklerine inoküle edilen Gr(+) ve Gr(-) bakterilerin +6°C’de 14 günlük depolama süresi boyunca davranışlarını belirlemek için sayımları alınmıştır.

4.1 Fiziksel ve Kimyasal Analizler

4.1.1 pH analizi sonuçları

Çalışma kapsamında, kefir taneleri kullanılarak farklı mikrobiyal polisakkarit ilavesi ve farklı fermantasyon sıcaklıklarında üretilen kefir örneklerinin pH değerleri 14 günlük depolama süresi boyunca incelenmiştir (Çizelge 4.1).

22°C fermantasyon sıcaklığında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinin pH değerlerinde depolama boyunca istatistiksel olarak önemli bir değişiklik görülmezken ($p>0,05$); mikrobiyal levan ilave edilerek üretilen örneklerin pH değerlerinin depolama başlangıcından ($4,67\pm0,01$) depolamanın 7. gününe kadar ($4,64\pm0,01$) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düştüğü ($p<0,05$) sonrasında ise depolama sonuna kadar pH değerindeki değişimin istatistiksel açıdan önemli olmadığı ($p>0,05$) belirlenmiştir. Mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerin depolamanın 7. gününde ölçülen pH değerlerinin ($4,65\pm0,00$), örneklerin depolama başlangıcı ve depolamanın son günündeki pH değerlerinden (sırasıyla; $4,64\pm0,01$ ve $4,63\pm0,01$) istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 22°C’de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinin pH

değerleri ile herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinin pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı ($p>0,05$) belirlenmiştir.

30°C fermantasyon sıcaklığında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinin pH değerlerinin depolama başlangıcından ($4,47\pm0,01$) depolamanın 7. gününe kadar ($4,40\pm0,01$) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düştüğü ($p<0,05$) sonrasında ise depolama sonuna kadar pH değerindeki değişimin istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir. Mikrobiyal levan ve pullulan ilave edilerek üretilen kefirlerin pH değerlerinin depolama başlangıcından depolamanın son gününe kadar istatistiksel olarak önemli bir şekilde düştüğü ($p<0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C’de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin üretilen kefirlerin pH değerlerini istatistiksel olarak önemli bir şekilde etkilemediği ($p>0,05$) belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle kefir taneleri kullanılarak üretilen kefir örneklerinin herbir depolama süresi için pH değerleri karşılaştırıldığında, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin pH değerlerinin 22°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerin pH değerleri

Fermantasyon Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (T)	Levan (TL)	Pullulan (TP)
22°C	0	$4,66\pm0,01^{b, C}$	$4,67\pm0,01^{b, E}$	$4,64\pm0,01^{a, D}$
	7	$4,65\pm0,01^{b, C}$	$4,64\pm0,01^{a, D}$	$4,65\pm0,00^{b, E}$
	14	$4,66\pm0,01^{b, C}$	$4,63\pm0,01^{a, D}$	$4,63\pm0,01^{a, D}$
30°C	0	$4,47\pm0,01^{ab, B}$	$4,48\pm0,01^{b, C}$	$4,46\pm0,01^{a, C}$
	7	$4,40\pm0,01^{a, A}$	$4,43\pm0,01^{b, B}$	$4,41\pm0,01^{a, B}$
	14	$4,41\pm0,01^{a, A}$	$4,41\pm0,01^{a, A}$	$4,39\pm0,01^{b, A}$

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - b) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - E) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Çalışma kapsamında, liyofilize kefir kültürü kullanılarak farklı mikrobiyal polisakkarit ilavesi ve farklı fermantasyon sıcaklıklarında üretilen kefir örneklerinin pH değerleri 14 günlük depolama süresi boyunca incelenmiştir (Çizelge 4.2).

22°C fermantasyon sıcaklığında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinin pH değerlerinin depolama başlangıcından ($4,54 \pm 0,01$) depolamanın 7. gününe kadar ($4,51 \pm 0,01$) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düştüğü ($p < 0,05$) ve sonrasında depolama sonuna kadar bu değerde sabit kaldığı tespit edilmiştir. Mikrobiyal levan ilave edilerek üretilen örneklerin pH değerlerinin depolama başlangıcından ($4,54 \pm 0,01$) depolamanın 7. gününe ($4,41 \pm 0,01$) kadar istatistiksel olarak önemli bir şekilde düştüğü ($p < 0,05$), sonrasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artarak ($p < 0,05$) depolamanın son gününde $4,51 \pm 0,00$ değerine ulaştığı belirlenmiştir. Mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerin ise pH değerlerinin depolama başlangıcı ve depolamanın 7. günü (sırasıyla; $4,51 \pm 0,01$ ve $4,56 \pm 0,01$) aralığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği ($p < 0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar istatistiksel olarak önemli bir şekilde azalarak $4,50 \pm 0,01$ değerine ulaştığı tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Depolama süresine bakılmaksızın 22°C’de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinin pH değerleri ile herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinin pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı ($p > 0,05$) belirlenmiştir.

30°C fermantasyon sıcaklığında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerin pH değerlerinin depolama başlangıcı ve depolamanın 7. günü aralığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düştüğü ($p < 0,05$); sonrasında ise depolamanın son gününe kadar istatistiksel olarak önemli bir şekilde arttığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Depolamanın son gününde en düşük pH değerinin ($4,39 \pm 0,01$) mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinde olduğu saptanmıştır. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C’de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin üretilen kefirlerin pH

değerlerini istatistiksel olarak önemli bir şekilde etkilemediği ($p>0,05$) belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefir örneklerinin herbir depolama süresi için pH değerleri karşılaştırıldığında 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin pH değerlerinin 22°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin pH değerleri

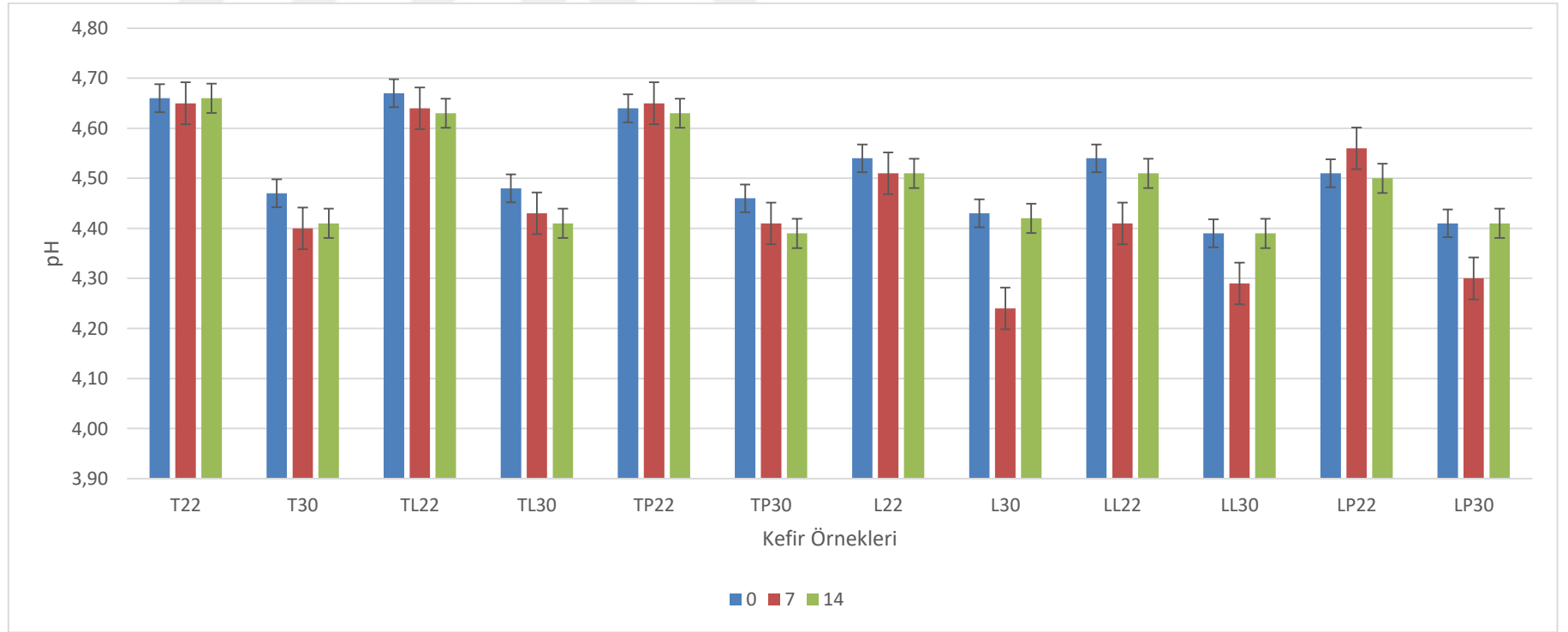
Fermantasyon Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (L)	Levan (LL)	Pullulan (LP)
22°C	0	4,54±0,01 ^{b, E}	4,54±0,01 ^{b, E}	4,51±0,01 ^{a, D}
	7	4,51±0,01 ^{b, D}	4,41±0,01 ^{a, C}	4,56±0,01 ^{c, E}
	14	4,51±0,01 ^{a, D}	4,51±0,00 ^{a, D}	4,50±0,01 ^{a, C}
30°C	0	4,43±0,01 ^{c, C}	4,39±0,01 ^{a, B}	4,41±0,01 ^{b, B}
	7	4,24±0,01 ^{a, A}	4,29±0,01 ^{b, A}	4,30±0,01 ^{b, A}
	14	4,42±0,01 ^{b, B}	4,39±0,01 ^{a, B}	4,41±0,01 ^{b, B}

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - E) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Kök-Taş et al. (2013) yaptıkları çalışmada kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerin pH değerlerinin 21 günlük depolama boyunca 4,47±0,02 – 4,29±0,00 arasında değişirken; starter kültür kullanılarak üretilen kefirlerin 4,49±0,00 – 4,35±0,01 aralığında değiştiğini bildirmişlerdir. Liyofilize kültür kullanılarak üretilen kefirlerin pH değerlerinin 4,30 – 4,70 aralığında olduğu pek çok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Irigoyen et al., 2005; Tratnik et al., 2006; Gronnevik et al., 2011). Chang et al. (2018) farklı oranlarda kefir taneleri ile ürettikleri yumuşak ve güçlü asitli kefirlerin 5 günlük depolama süresi boyunca pH değerlerini incelemişler, yumuşak asitli kefirlerin pH değerlerinin 4,49±0,01'den 4,41±0,01'e; güçlü asitli kefirlerinkinin ise 3,54±0,01'den 3,49±0,01 değerine düştüğünü belirtmişlerdir.

Delgado-Fernandez et al. (2019) ise yaptıkları çalışmada laktuloz türevi prebiyotik ilave ederek (%2 ve %4; w/v) ürettikleri kefir örneklerinde fermantasyonun ilk 6 saatlik süresinde pH değerlerinin önemli ölçüde azaldığını ve fermantasyonun sonunda pH değerinin 4,40 olarak tespit edildiğini bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, 28 günlük depolama süresi boyunca örneklerin pH değerlerinde önemli bir değişiklik olmadığını, depolamanın 3. haftasından itibaren pH'nın 4,30 olarak sabitlendiğini belirtmişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada da farklı sıcaklıklarda ve farklı mikrobiyal polisakkaritler ilave edilerek üretilen örneklerin fermantasyondan sonra ve iki haftalık depolama süresi boyunca sahip oldukları pH değerlerinin literatürdeki diğer çalışmalarla tutarlılık gösterdiği görülmektedir.

Kefir taneleri ve liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefir örneklerinin depolama başlangıcında ve devamında pH değerleri karşılaştırıldığında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerin pH değerlerinin liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilenlerde istatistiksel olarak daha düşük olduğu ($p<0,05$) belirlenmiştir (14. günde ve 30°C'de üretilen örnekler hariç) (Şekil 4.1). Bu durumun depolama başlangıcı için, kefir tanelerindeki mikroorganizmaların tanelerdeki polisakkarit matriksten süte geçmelerinin ve fermantasyon süresi boyunca gelişimlerinin zaman almasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Depolama boyunca genel olarak liyofilize kefir kültürü ile üretilen örneklerin pH değerlerinin daha düşük olması ise kefir taneleriyle hazırlanan çalışma kültürünün liyofilize kültüre göre daha yüksek maya içeriğine sahip olmasıyla açıklanmıştır. Collar (1996), laktik asit bakterilerinin mayalarla birlikte olduğu durumlarda, saf kültüre göre daha yavaş çoğaldığını ve daha az laktik ve asetik asit ürettiğini belirtmiştir.



Şekil 4.1 Farklı parametrelerde üretilen kefirlerin depolamanın 0, 7 ve 14. gününde pH değerleri

4.1.2 Titrasyon asitliği sonuçları

Çalışma kapsamında, kefir taneleri kullanılarak farklı mikrobiyal polisakkarit ilavesi ve farklı fermantasyon sıcaklıklarında üretilen kefir örneklerinin % titrasyon asitliği değeri 14 günlük depolama süresi boyunca incelenmiştir (Çizelge 4.3).

22°C fermantasyon sıcaklığında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinin % titrasyon asitliği değeri depolama başlangıcından depolamanın 7. gününe kadar istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0,05$), sonrasında ise depolamanın sonuna kadar istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,05$). Mikrobiyal levan ilave edilerek üretilen örneklerin % titrasyon asitliği değeri depolamanın başlangıcı ve 7. günü aralığında istatistiksel olarak anlamlı bir değışiklik göstermediği ($p>0,05$), sonrasında depolamanın son gününe kadar istatistiksel olarak önemli bir şekilde arttığı belirlenmiştir ($p<0,05$). Depolama süresine bakılmaksızın 22°C’de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen kefir örnekleri ile herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinin % titrasyon asitliği değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı ($p>0,05$) belirlenmiştir.

30°C’de herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinin % titrasyon asitliği değeri depolama başlangıcından depolamanın 7. gününe kadar istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0,05$), sonrasında ise depolamanın sonuna kadar istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0,05$). Mikrobiyal levan ilave edilerek üretilen örneklerinin ise % titrasyon asitliği değeri depolamanın başlangıcından sonuna kadar istatistiksel olarak anlamlı bir değışiklik olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). Depolama süresine bakılmaksızın 30°C’de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen kefir örnekleri ile herhangi bir mikrobiyal polisakkarit

ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinin % titrasyon asitliği değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı ($p>0,05$) belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle kefir taneleri kullanılarak üretilen kefir örneklerinin herbir depolama süresi için % titrasyon asitliği değerleri karşılaştırıldığında 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin % titrasyon asitliği değerlerinin 22°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir (depolama başlangıcında, TP örnekleri hariç).

Çizelge 4.3 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerin titrasyon asitliği sonuçları

Fermantasyon Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (T) (%)	Levan (TL) (%)	Pullulan (TP) (%)
22°C	0	0,93±0,01 ^{b, B}	0,88±0,01 ^{a, A}	1,06±0,01 ^{c, D}
	7	0,88±0,01 ^{a, A}	0,87±0,01 ^{a, A}	0,88±0,01 ^{a, A}
	14	0,98±0,01 ^{c, C}	0,95±0,01 ^{b, BC}	0,92±0,01 ^{a, B}
30°C	0	1,08±0,08 ^{c, E}	1,00±0,01 ^{a, D}	1,05±0,01 ^{b, D}
	7	1,03±0,01 ^{b, D}	0,97±0,01 ^{a, CD}	0,98±0,01 ^{a, C}
	14	1,10±0,00 ^{a, F}	1,06±0,06 ^{a, D}	1,09±0,04 ^{a, D}

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - F) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Çalışma kapsamında, liyofilize kefir kültürü kullanılarak farklı mikrobiyal polisakkarit ilavesi ve farklı fermantasyon sıcaklıklarında üretilen kefir örneklerinin % titrasyon asitliği değerleri 14 günlük depolama süresi boyunca incelenmiştir (Çizelge 4.4).

22°C fermantasyon sıcaklığında mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinin % titrasyon asitliği değerlerinin depolama başlangıcından depolamanın 7. gününe kadar istatistiksel

olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0,05$) belirlenmiştir. Sonrasında ise depolamanın 7 ve 14. günleri aralığında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmemiş kefir örneklerinin % titrasyon asitliği değerleri istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterirken ($p<0,05$); mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerin % titrasyon asitliği değerlerindeki değişimin istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Mikrobiyal pullulan ilave edilerek üretilen örneklerin % titrasyon asitliği değerlerinde ise depolamanın başlangıcından sonuna kadar istatistiksel olarak önemli bir değişiklik görülmemiştir ($p>0,05$). Depolama süresine bakılmaksızın 22°C 'de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen kefir örnekleri ile mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinin % titrasyon asitliği değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı ($p>0,05$); ancak mikrobiyal pullulan ilavesinin örneklerin % titrasyon asitliği değerlerini herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırdığı ($p<0,05$) belirlenmiştir.

30°C 'de herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinin % titrasyon asitliği değerlerinin depolamanın 7. gününe kadar istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermediği ($p>0,05$), sonrasında depolama sonuna kadar istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0,05$) belirlenmiştir. Mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinin % titrasyon asitliği değerlerinin ise depolama başlangıcından depolamanın 7. gününe kadar istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0,05$); sonrasında ise depolama sonuna kadar mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerin % titrasyon asitliği değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı ($p>0,05$); ancak mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerin % titrasyon asitliği değerlerinin depolama sonuna kadar istatistiksel olarak önemli bir artış gösterdiği ($p<0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C 'de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen kefir örnekleri ile herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinin % titrasyon asitliği değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı ($p>0,05$) belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefir örneklerinin herbir depolama süresi için % titrasyon asitliği değerleri karşılaştırıldığında 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin % titrasyon asitliği değerlerinin 22°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir (depolamanın 7 ve 14. gününde, LL ve LP örnekleri hariç).

Çizelge 4.4 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin titrasyon asitliği sonuçları

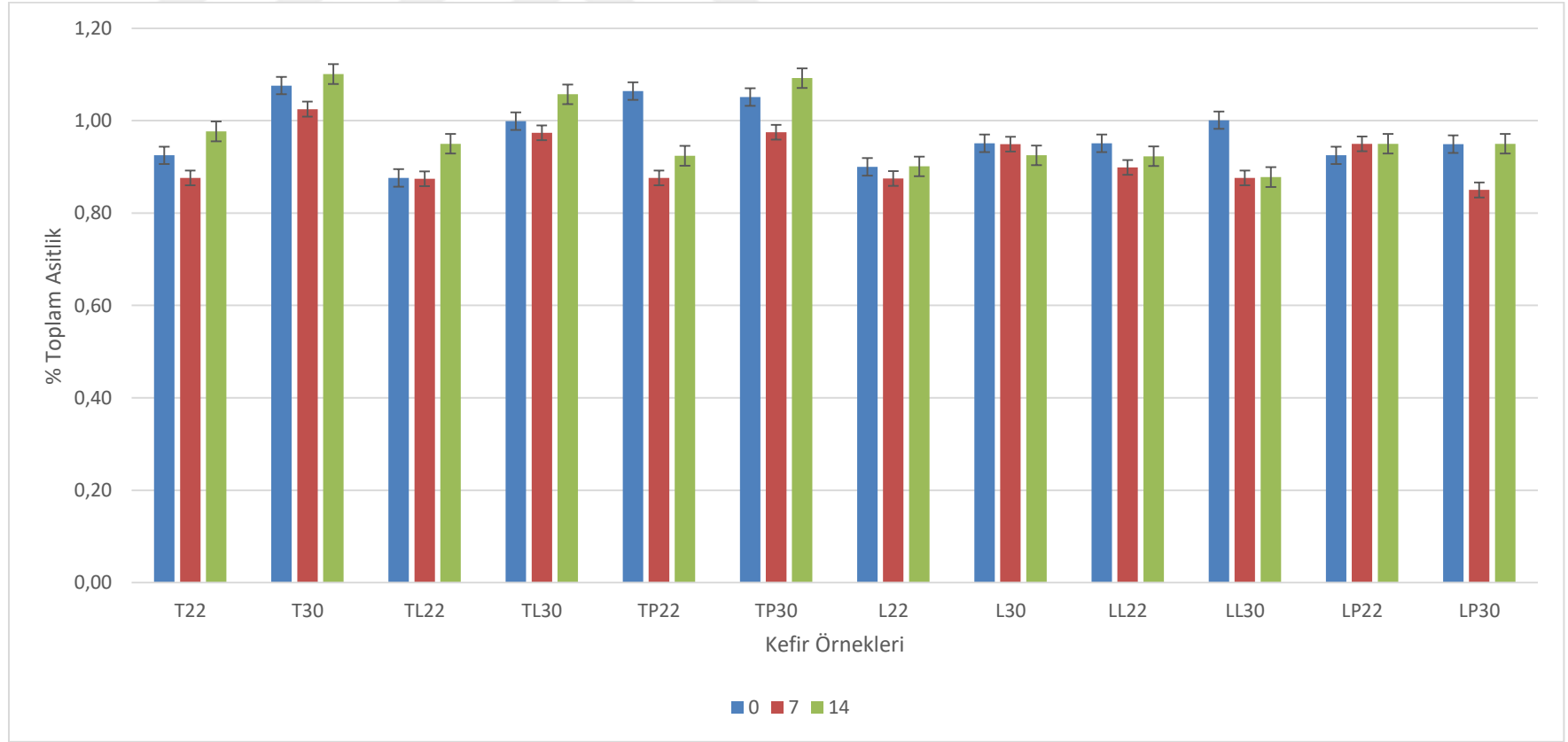
Fermantasyon Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (L) (%)	Levan (LL) (%)	Pullulan (LP) (%)
22°C	0	0,90±0,01 ^{a, B}	0,95±0,01 ^{c, CD}	0,93±0,02 ^{b, B}
	7	0,88±0,01 ^{a, A}	0,90±0,01 ^{b, AB}	0,95±0,01 ^{c, B}
	14	0,90±0,01 ^{a, B}	0,92±0,01 ^{b, BC}	0,95±0,01 ^{c, B}
30°C	0	0,95±0,00 ^{a, D}	1,00±0,01 ^{b, E}	0,95±0,01 ^{a, B}
	7	0,95±0,01 ^{c, D}	0,88±0,01 ^{b, A}	0,85±0,01 ^{a, A}
	14	0,93±0,01 ^{b, C}	0,88±0,01 ^{a, A}	0,95±0,01 ^{c, B}

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - E) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Yapılan bir çalışmada, kefir taneleri ve kefir starter kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin 21 günlük depolama süresi boyunca % laktik asit değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı ($p>0,05$) ve 0,81±0,01 – 0,93±0,02 aralığında değiştiği bildirilmiştir (Kök-Taş et al., 2013). Yapılan başka bir çalışmada kefir taneleri kullanılarak üretilen güçlü ve zayıf asitli kefirlerde 5 günlük depolama süresince titrasyon asitliği değerlerinin sırasıyla 1,54±0,01 – 1,70±0,02 ve 0,69±0,01 – 0,80±0,01 aralığında olduğu belirlenmiştir (Chang et al., 2018). Delgado-Fernandez et al. (2019) %2 ve %4 (w/v) oranlarında laktuloz türevi prebiyotik ilave ederek ürettikleri kefir örneklerinde % laktik asit miktarının fermantasyonun 6 ve 24. saatleri arasında hızlı bir şekilde artarak 0,60

– 0,64 seviyelerine ulaştığını, üç haftalık soğuk depolama sürecinin ise ilk haftasında önemli bir artış göstererek 0,68 değerinde sabitlendiğini belirtmişlerdir.

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde ise kefirin % titrasyon asitliği değerinin laktik asit cinsinden en az 0,6 olması gerektiği belirtilmiştir (Anon, 2019a). Çalışmada üretilen bütün kefir örneklerinin 14 günlük depolama süresi boyunca titrasyon asitliği değerlerinin tebliğde belirtilen limitlere uygun olduğu görülmektedir. Şekil 4.2'de de görülebileceği gibi depolama başlangıcında kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerin % titrasyon asitliği değerlerinin liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) belirlenmiştir (TL örnekleri hariç). Depolama süresince de kefir taneleri ile üretilen örneklerin % titrasyon asitliği değerlerinin liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen örneklerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (22°C 'de; T ve TL örneklerinin 7. günleri, TP örneklerinin 7 ve 14. günleri hariç). Bu durumun ise kefir taneleri ile liyofilize kefir kültürünün mikrobiyal kompozisyonundaki farklılıktan ve kefir taneleri içeriğinde bulunan laktik asit bakterilerinin laktik ve asetik asit üretme kabiliyetlerinin daha yüksek olabileceğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 4.2 Farklı parametrelerde üretilen kefirlerin depolamanın 0, 7 ve 14. gününde % titrasyon asitliği değerleri

4.1.3 Kefir örneklerinin mikrobiyal ekzopolisakkarit (EPS) içerikleri

Çalışma kapsamında, kefir taneleri kullanılarak farklı mikrobiyal polisakkarit ilavesi ve farklı fermantasyon sıcaklıklarında üretilen kefir örneklerinin EPS içerikleri 14 günlük depolama süresi boyunca incelenmiştir (Çizelge 4.5).

22°C fermantasyon sıcaklığında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinin EPS içeriklerinin depolama başlangıcından depolamanın 7. gününe kadar istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0,05$), sonrasında ise depolamanın sonuna kadar örneklerin EPS içerikleride istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Mikrobiyal levan ilave edilerek üretilen örneklerin EPS içeriklerinde ise depolama başlangıcından sonuna kadar istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). Depolama süresine bakılmaksızın 22°C’de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin EPS içeriklerini herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırdığı ($p<0,05$) tespit edilmiştir.

30°C’de herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinin EPS içerikleri depolamanın ilk 7 günü boyunca istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) bir şekilde azalma gösterse de depolama boyunca örneklerin EPS miktarlarında çok yüksek bir değişiklik görülmemiştir. Mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinin EPS içerikleri depolama başlangıcından depolamanın 7. gününe kadar istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artarken ($p<0,05$), mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerin EPS içeriklerinin depolama boyunca istatistiksel olarak önemli bir değişiklik göstermediği ($p>0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C’de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin EPS içeriklerini herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırdığı ($p<0,05$) belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde, mikrobiyal levan ilavesiyle kefir taneleri kullanılarak üretilen kefir örneklerinin herbir depolama süresi için EPS içerikleri karşılaştırıldığında 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin EPS içeriklerinin 22°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir. Aynı şartlarda mikrobiyal pullulan ilavesiyle elde edilen örneklerin EPS içerikleri karşılaştırıldığında ise 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin EPS içeriklerinin 22°C sıcaklıkta üretilenlerle arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı ($p>0,05$) belirlenmiştir.

Çizelge 4.5 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerin EPS değerleri

Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (T) (mg/kg)	Levan (TL) (mg/kg)	Pullulan (TP) (mg/kg)
22°C	0	303,8±1,00 ^{a, A}	380,3±7,00 ^{b, A}	379,7±2,00 ^{b, A}
	7	312,2±5,00 ^{a, C}	389,1±2,00 ^{b, A}	387,3±2,00 ^{b, A}
	14	316,8±4,00 ^{a, C}	386,7±2,00 ^{b, A}	386,7±1,00 ^{b, A}
30°C	0	307,4±1,00 ^{a, B}	458,3±1,00 ^{c, B}	383,7±4,00 ^{b, A}
	7	301,7±2,00 ^{a, A}	463,6±2,00 ^{c, C}	385,6±2,00 ^{b, A}
	14	304,1±1,00 ^{a, A}	465,3±2,00 ^{c, C}	387,0±2,00 ^{b, A}

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - D) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Çalışma kapsamında, liyofilize kefir kültürü kullanılarak farklı mikrobiyal polisakkarit ilavesi ve farklı fermantasyon sıcaklıklarında üretilen kefir örneklerinin EPS içerikleri 14 günlük depolama süresi boyunca incelenmiştir (Çizelge 4.6).

22°C fermantasyon sıcaklığında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinin EPS içeriklerinde depolama süresi boyunca istatistiksel olarak önemli bir değişiklik görülmemiştir ($p>0,05$). Mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinin EPS içeriklerinin depolama başlangıcından depolamanın 7. gününe kadar istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0,05$), sonrasında ise depolamanın sonuna kadar örneklerin EPS içeriklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Mikrobiyal pullulan ilave edilerek üretilen örneklerin EPS içeriklerinde ise depolamanın ilk 7 gününde anlamlı bir değişiklik görülmezken ($p>0,05$), sonrasında örneklerin EPS içeriklerinin depolama sonuna kadar istatistiksel olarak önemli bir şekilde azaldığı ($p<0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 22°C’de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin EPS içeriklerini herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırdığı ($p<0,05$) tespit edilmiştir.

30°C’de mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinin EPS içeriklerinin depolama başlangıcından depolamanın 7. gününe kadar istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0,05$), sonrasında ise depolamanın sonuna kadar istatistiksel olarak önemli bir değişiklik olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir. Mikrobiyal levan ilave edilerek üretilen örneklerin EPS içeriklerinin ise depolama başlangıcından ($363,4\pm1,00$ mg/kg) depolamanın 7. gününe kadar ($387,2\pm1,00$ mg/kg) istatistiksel olarak önemli bir şekilde arttığı ($p<0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar önemli bir şekilde azaldığı ($p<0,05$) belirlenmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C’de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin EPS içeriklerini herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırdığı ($p<0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal pullulan ilavesiyle liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefir örneklerinin herbir depolama süresi için EPS içerikleri karşılaştırıldığında 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin EPS içerikleri 22°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir. Aynı şartlarda mikrobiyal levan ilavesiyle elde edilen örneklerin EPS içerikleri karşılaştırıldığında ise 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin EPS içeriklerinin 22°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu ($p<0,05$) belirlenmiştir.

Çizelge 4.6 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin EPS değerleri

Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (L) (mg/kg)	Levan (LL) (mg/kg)	Pullulan (LP) (mg/kg)
22°C	0	230,6±2,00 ^{a, A}	435,0±1,00 ^{c, D}	298,8±1,00 ^{b, B}
	7	226,5±2,00 ^{a, A}	446,3±1,00 ^{c, E}	298,4±1,00 ^{b, B}
	14	228,1±1,00 ^{a, A}	446,2±1,00 ^{c, E}	296,1±1,00 ^{b, A}
30°C	0	307,3±1,00 ^{a, C}	363,4±1,00 ^{b, A}	372,6±1,00 ^{c, D}
	7	302,5±2,00 ^{a, B}	387,2±1,00 ^{c, C}	368,2±1,00 ^{b, C}
	14	299,4±1,00 ^{a, B}	376,7±1,00 ^{c, B}	367,7±1,00 ^{b, C}

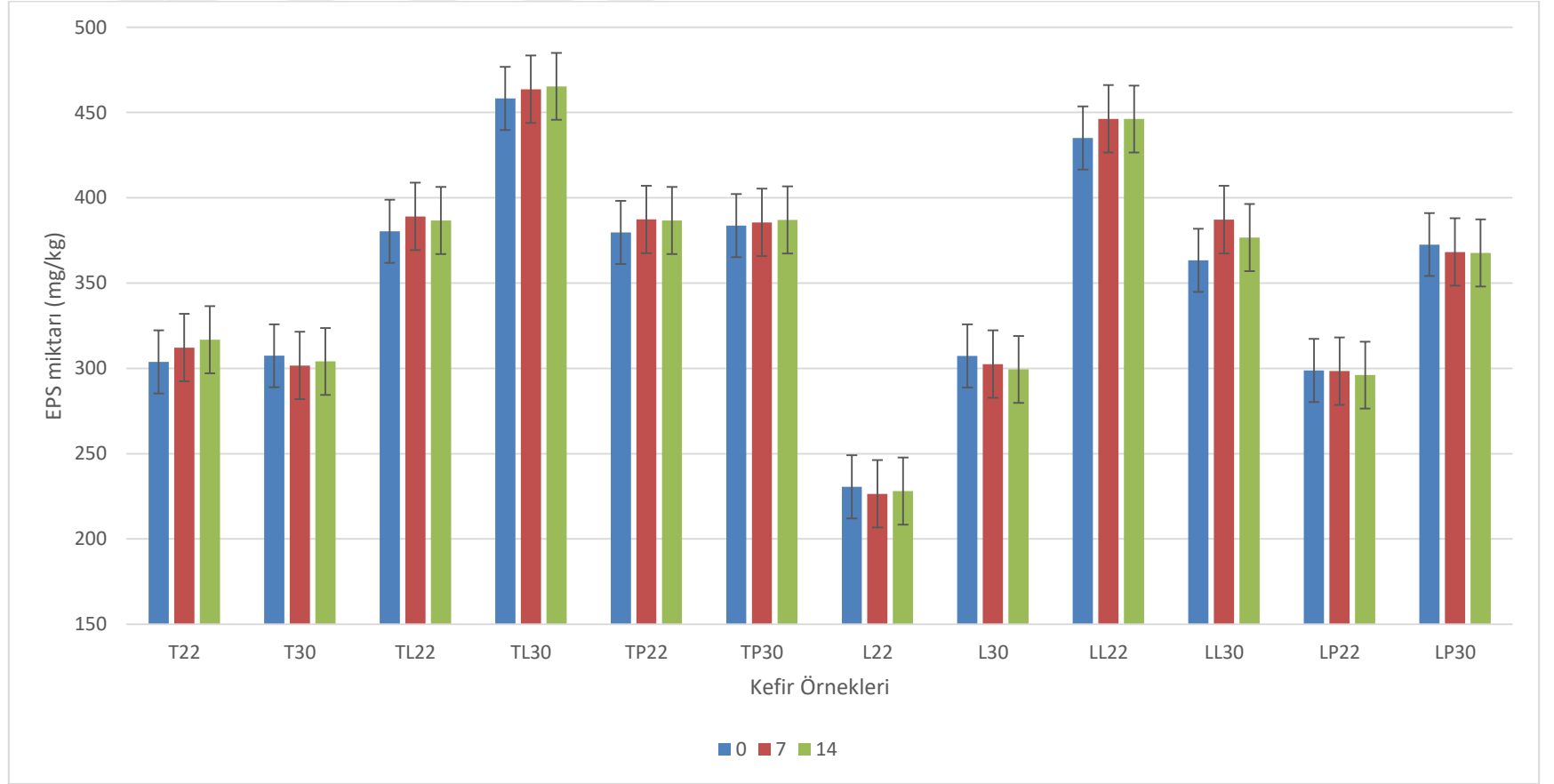
*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - E) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Yokoi et al. (1990) yaptıkları çalışmada kefir tanelerinden polisakkarit üretebilen 5 farklı bakteri izole etmişler ve bunların ayrı ayrı üretebildikleri polisakkarit miktarının 273,8 – 406,8 mg/L aralığında değiştiğini tespit etmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada ise kefir tanelerinden izole edilen laktik asit bakterilerinden en yüksek miktarda EPS üreten suş *Lb. bulgaricus* HP1 (460,27±7,02 mg/L), en düşük miktarda EPS üreten suş ise *Lb. helveticus* MP13 (10,40±1,55 mg/L) olarak belirlenmiştir (Frengova et al., 2002). Rimada and Abraham (2003) yaptıkları çalışmada ısıl işlemin de yer aldığı 16 farklı yöntemle kefir örneklerinin içerdiği EPS miktarını incelemişler ve çalışmalarını sonucunda kefirin EPS içeriğinin ısıl işlemlerle ve EPS izolasyon yöntemine göre değiştiğini

açıklamışlardır. Yapılan başka bir çalışmada ise Tibet kefir taneleri (%5, w/v) kullanılarak 25°C’de 24 saat fermantasyonla üretilen kefir örneklerinin en yüksek EPS içeriğine (223,3 mg/L) inkübasyonun 16. saatinde ulaşıldığı bildirilmiştir (Chen et al., 2005).

Caggianiello et al. (2016) yaptığı derleme çalışmasında EPS üretebilen bazı laktik asit bakterilerinden; *Lb. rhamnosus* RW-9595M’nin 2775 mg/L, *Lc. lactis* subsp. *cremoris*’in 80 – 600 mg/L, *Streptococcus thermophilus*’un 50 – 350 mg/L, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*’un 60 – 150 mg/L, *Lb. casei*’nin 50 – 60 mg/L ve *Lb. plantarum*’un 140 mg/L EPS ürettiklerini belirtmişlerdir. Bengoa et al. (2018) yaptıkları çalışmada kefir tanelerinden izole ettikleri *Lb. paracasei* türüne ait 3 farklı suşun farklı gelişme sıcaklıklarındaki (20°C, 30°C ve 37°C) probiyotik özelliklerini ve ürettikleri EPS miktarlarını incelemişlerdir. Kullanılan suşların probiyotik özelliklerinin sıcaklık değişimlerinden etkilenmediği; ancak düşük sıcaklıklarda geliştirilen *Lb. paracasei* suşlarının EPS verimlerinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Lim et al. (2017) ise kefir taneleri (1:10, w/w) kullanarak ve 30°C fermantasyon sıcaklığında ürettikleri kefir örneklerinin EPS içeriklerinin $569,1 \pm 25,3$ mg/L olduğunu tespit etmişlerdir.

Şekil 4.3’te de açıkça görüldüğü gibi en yüksek EPS içerikleri 30°C’de üretilen TL örneklerinde, en düşük EPS içerikleri ise 22°C’de üretilen L örneklerinde saptanmıştır. Yaptığımız çalışmada farklı üretim parametrelerine bağlı olarak kefir örneklerinin EPS içeriklerinin değiştiği belirlenmiştir. Ayrıca çalışma kapsamında üretilen kefirlerin EPS içeriklerinin literatürdeki çalışmalarla uyumlu olduğu görülmüştür.



Şekil 4.3 Farklı parametrelerde üretilen kefirlerin depolamanın 0, 7 ve 14. gününde EPS içerikleri

4.2 Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

4.2.1 Maya sayım sonuçları

Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefir örneklerinde yapılan maya sayımlarına ait analiz sonuçları Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek maya sayısı ($6,73 \pm 0,04$ log kob/ml) herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmemiş kefir örneklerinde görülmüştür. Mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinin maya sayıları depolama boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p < 0,05$). Mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerin maya sayıları ise depolamanın başlangıcından 7. gününe kadar önemli bir artış gösterirken ($p < 0,05$), sonrasında depolama sonuna kadar örneklerin maya sayılarındaki değişimin istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$). Depolama süresine bakılmaksızın 22°C’de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin maya sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek maya sayısı ($5,98 \pm 0,04$ log kob/ml) mikrobiyal polisakkarit ilave edilmemiş kefir örneklerinde görülmüştür. Herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinin maya sayıları depolama boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir azalış göstermiştir ($p < 0,05$). Mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerin maya sayıları ise depolamanın başlangıcından 7. gününe kadar istatistiksel olarak anlamlı bir azalış gösterirken ($p < 0,05$), sonrasında levan ilavesiyle üretilen örneklerin maya sayıları depolama sonuna kadar istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermemiş ($p > 0,05$), pullulan ilavesiyle üretilen örnekler ise istatistiksel olarak önemli ölçüde azalmaya devam etmiştir ($p < 0,05$). Depolama süresine bakılmaksızın 30°C’de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin maya sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave

edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle kefir taneleri kullanılarak üretilen kefir örneklerinin depolamanın 7 ve 14. günleri için maya sayıları karşılaştırıldığında 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin maya sayılarının 30°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir. 14 günlük depolama sonunda en yüksek maya sayısının ($6,73\pm 0,04$ log kob/ml) 22°C 'de herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilenlerde, en düşük maya sayısının ($5,27\pm 0,02$ log kob/ml) ise 30°C 'de mikrobiyal pullulan ilave edilerek üretilen kefir örneklerinde olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.7 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerin maya sayımı sonuçları

Ferm. Sıcaklığı ($^{\circ}\text{C}$)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (T) (log kob/ml)	Levan (TL) (log kob/ml)	Pullulan (TP) (log kob/ml)
22°C	0	$5,11\pm 0,09^{a, A}$	$5,26\pm 0,00^{b, A}$	$5,73\pm 0,09^{c, C}$
	7	$6,37\pm 0,03^{a, E}$	$6,41\pm 0,02^{b, C}$	$6,32\pm 0,01^{c, D}$
	14	$6,73\pm 0,04^{a, F}$	$6,36\pm 0,04^{b, C}$	$5,93\pm 0,02^{c, D}$
30°C	0	$5,98\pm 0,04^{a, D}$	$5,66\pm 0,12^{b, B}$	$5,72\pm 0,04^{b, C}$
	7	$5,70\pm 0,03^{a, C}$	$5,30\pm 0,01^{b, A}$	$5,58\pm 0,06^{c, B}$
	14	$5,60\pm 0,02^{a, B}$	$5,33\pm 0,05^{b, A}$	$5,27\pm 0,02^{b, A}$

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - F) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerde yapılan maya sayımlarına ait analiz sonuçları Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek maya sayısı ($3,08 \pm 0,02$ log kob/ml) mikrobiyal pullulan ilave edilerek üretilen örneklerde görülmüştür. Herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinin maya sayıları depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterirken ($p < 0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar örneklerin maya sayılarındaki değişimin istatistiksel açıdan önemli olmadığı görülmüştür ($p > 0,05$). Mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerin depolamanın başlangıcı ve son günündeki maya sayıları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bir artış olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Depolama süresine bakılmaksızın 22°C’de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin maya sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak önemli bir artışa neden olduğu ($p < 0,05$) tespit edilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek maya sayısı ($4,81 \pm 0,01$ log kob/ml) mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinde görülmüştür. Mikrobiyal polisakkarit ilave edilmemiş kefir örneklerinin maya sayılarının depolama boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir azalış gösterdiği ($p < 0,05$) belirlenmiştir. Mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerin maya sayıları ise depolama boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p < 0,05$). Depolama süresine bakılmaksızın 30°C’de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin maya sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak önemli bir artışa neden olduğu ($p < 0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefir örneklerinin herbir depolama süresi için maya sayıları karşılaştırıldığında 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin maya sayılarının 22°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak

daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir. 14 günlük depolama süresi sonunda en yüksek maya sayısının ($4,81\pm0,01$ log kob/ml) 30°C 'de mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde, en düşük maya sayısının ($2,42\pm0,02$ log kob/ml) ise 22°C 'de herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinde olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.8 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin maya sayımı sonuçları

Ferm. Sıcaklığı ($^{\circ}\text{C}$)	Depolama Süresi(Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (L) (log kob/ml)	Levan (LL) (log kob/ml)	Pullulan (LP) (log kob/ml)
22°C	0	$2,42\pm0,02^{\text{a}, \text{A}}$	$2,64\pm0,03^{\text{b}, \text{A}}$	$2,96\pm0,04^{\text{c}, \text{A}}$
	7	$2,48\pm0,03^{\text{a}, \text{B}}$	$2,69\pm0,03^{\text{b}, \text{AB}}$	$3,01\pm0,05^{\text{c}, \text{AB}}$
	14	$2,51\pm0,02^{\text{a}, \text{B}}$	$2,76\pm0,08^{\text{b}, \text{B}}$	$3,08\pm0,02^{\text{c}, \text{B}}$
30°C	0	$3,25\pm0,02^{\text{a}, \text{E}}$	$4,24\pm0,02^{\text{b}, \text{C}}$	$4,58\pm0,03^{\text{c}, \text{C}}$
	7	$3,21\pm0,01^{\text{a}, \text{D}}$	$4,27\pm0,01^{\text{b}, \text{D}}$	$4,71\pm0,04^{\text{c}, \text{D}}$
	14	$3,16\pm0,03^{\text{a}, \text{C}}$	$4,35\pm0,02^{\text{b}, \text{E}}$	$4,81\pm0,01^{\text{c}, \text{E}}$

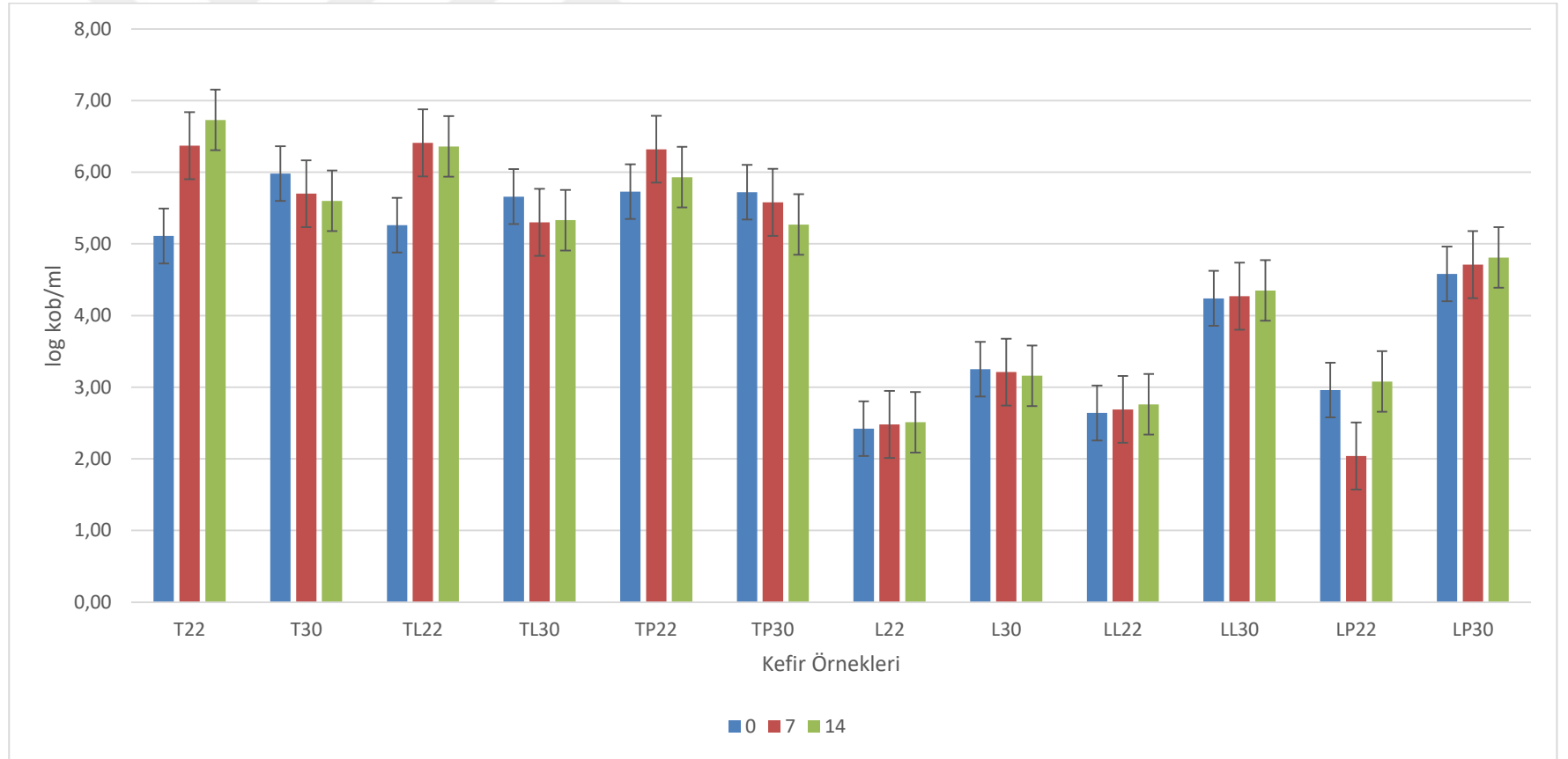
*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - F) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Kim et al. (2018) geleneksel ve geri ekleme (back-slopping) yöntemi ile iki farklı kefir üretmişler, geri ekleme yönteminde inokülasyon kültürü olarak geleneksel yöntemle üretilen kefiri kullanmışlardır. Araştırmacılar, maya içeriklerinin geleneksel yöntemle üretilen kefirde $7,10\pm0,51$ log kob/ml, geri ekleme yöntemiyle üretilen kefirlerde ise $5,22\pm0,23$ log kob/ml olduğunu rapor etmişlerdir. Erdogan et al. (2019) yaptıkları çalışmada kefir taneleri ve starter kültür kullanarak ürettikleri kefir örneklerinin maya içeriğini sırasıyla $5,69\pm0,27$ ve $2,50\pm0,62$ log kob/ml olarak bulmuşlardır.

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde ise kefirdeki maya içeriğinin en az 10^4 kob/ml düzeyinde olması gerektiği bildirilmektedir (Anon, 2009). Yaptığımız çalışmada kefir taneleri kullanılarak üretilen örneklerin tamamının maya sayılarının 14 günlük depolama süresi boyunca tebliğde

belirtilen limitlere uygun olduğu; ancak liyofilize kefir kùltürü kullanılarak üretilen örneklerden yalnızca mikrobiyal levan ve pullulan ilave edilerek 30°C’de üretilenlerin tebliğe uygun maya içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Öte yandan çalışmamızda kefir taneleri ve liyofilize kefir kùltürü kullanılarak üretilen kefir örneklerinin depolama süresi boyunca maya sayılarının literatürdeki çalışmalarla benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

şekil 4.4’te de gösterildiği gibi kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerin maya sayılarının diğer parametrelerden bağımsız olarak (fermantasyon sıcaklığı, depolama süresi ve mikrobiyal polisakkarit ilavesi) liyofilize kefir kùltürü kullanılarak üretilen kefirlerden istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) bulunmuştur. Bu durumun, liyofilize kefir kùltürü kullanılarak üretilen kefirlerde mayaların metabolik faaliyetleri sonucu yüksek miktarda CO₂ üretimini engelleyerek ürünün tat ve aromasını korumak amacıyla liyofilize kefir kùltürü içeriğindeki maya sayısının sınırlandırılmasından kaynaklandığı düşünölmektedir (Otles ve Çağındı, 2003).



Şekil 4.4 Farklı parametrelerde üretilen kefirlerin depolamanın 0, 7 ve 14. günlerinde maya sayımı sonuçları

4.2.2 Laktik asit bakterileri sayım sonuçları

Lactobacillus cinsi mikroorganizmaların sayımı

Çalışma kapsamında kefir taneleri kullanılarak üretilen kefir örneklerinde yapılan *Lactobacillus* cinsi mikroorganizma sayımlarına ait analiz sonuçları Çizelge 4.9’da verilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek laktobasil sayısı ($9,64 \pm 0,06$ log kob/ml) mikrobiyal polisakkarit ilave edilmemiş kefir örneklerinde görülmüştür. Herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinin laktobasil sayıları depolama boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir azalış göstermiştir ($p < 0,05$). Mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerin laktobasil sayıları ise depolamanın başlangıcından 7. gününe kadar istatistiksel açıdan anlamlı bir azalış gösterirken ($p < 0,05$), sonrasında ise depolamanın sonuna kadar örneklerdeki laktobasil sayısındaki değişimin istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$). Depolama süresine bakılmaksızın 22°C’de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin laktobasil sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek laktobasil sayısı ($9,32 \pm 0,03$ log kob/ml) mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinin laktobasil sayılarının depolama süresi boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C’de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin laktobasil sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle kefir taneleri kullanılarak üretilen kefir örneklerinin herbir depolama süresi için laktobasil sayıları karşılaştırıldığında 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin laktobasil sayılarının 22°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir. 14 günlük depolama sonunda en yüksek laktobasil sayısının ($9,45\pm0,02$ log kob/ml) 22°C’de mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde, en düşük laktobasil sayısının ($7,91\pm0,02$ log kob/ml) ise 30°C’de herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinde olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.9 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerin *Lactobacillus* cinsi mikroorganizma sayımı sonuçları

Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (T) (log kob/ml)	Levan (TL) (log kob/ml)	Pullulan (TP) (log kob/ml)
22°C	0	$9,64\pm0,06^{b, A}$	$9,53\pm0,00^{a, A}$	$9,59\pm0,01^{ab, A}$
	7	$9,47\pm0,02^{b, B}$	$9,44\pm0,01^{a, B}$	$9,44\pm0,01^{a, B}$
	14	$9,21\pm0,01^{a, C}$	$9,29\pm0,04^{b, C}$	$9,45\pm0,02^{c, B}$
30°C	0	$9,31\pm0,04^{a, D}$	$9,31\pm0,00^{a, C}$	$9,32\pm0,03^{a, C}$
	7	$9,09\pm0,01^{a, E}$	$9,20\pm0,02^{c, D}$	$9,15\pm0,02^{b, D}$
	14	$7,91\pm0,02^{a, F}$	$8,48\pm0,03^{b, E}$	$7,95\pm0,04^{a, E}$

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - F) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Çalışma kapsamında liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefir örneklerinde yapılan *Lactobacillus* cinsi mikroorganizma sayımlarına ait analiz sonuçları Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek laktobasil sayısı ($8,37 \pm 0,03$ log kob/ml) mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinin laktobasil sayıları depolamanın ilk 7 günü boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir azalış gösterirken ($p < 0,05$), sonrasında depolamanın sonuna kadar istatistiksel olarak önemli ölçüde ($p < 0,05$) artarak $8,06 \pm 0,04$ log kob/ml değerine ulaşmıştır. Mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerin laktobasil sayıları ise depolama boyunca istatistiksel açıdan anlamlı bir azalış göstermiştir ($p < 0,05$). Depolama süresine bakılmaksızın 22°C'de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin laktobasil sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek laktobasil sayısı ($8,18 \pm 0,02$ log kob/ml) mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinin laktobasil sayılarının depolama süresi boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C'de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin laktobasil sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; mikrobiyal levan ve mikrobiyal pullulan ilavesiyle liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefir örneklerinin her bir depolama süresi için laktobasil sayıları karşılaştırıldığında 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin laktobasil sayılarının 30°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p < 0,05$) tespit

edilmiştir. Aynı şartlarda herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinin 30°C ve 22°C'deki laktobasil sayıları karşılaştırıldığında ise her bir depolama süresi için istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı ($p>0,05$) belirlenmiştir. 14 günlük depolama sonunda en yüksek laktobasil sayısı ($8,08\pm0,05$ log kob/ml) 22°C'de mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde, en düşük laktobasil sayısı ($7,67\pm0,04$ log kob/ml) ise 30°C'de herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinde saptanmıştır.

Çizelge 4.10 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin *Lactobacillus* cinsi mikroorganizma sayımı sonuçları

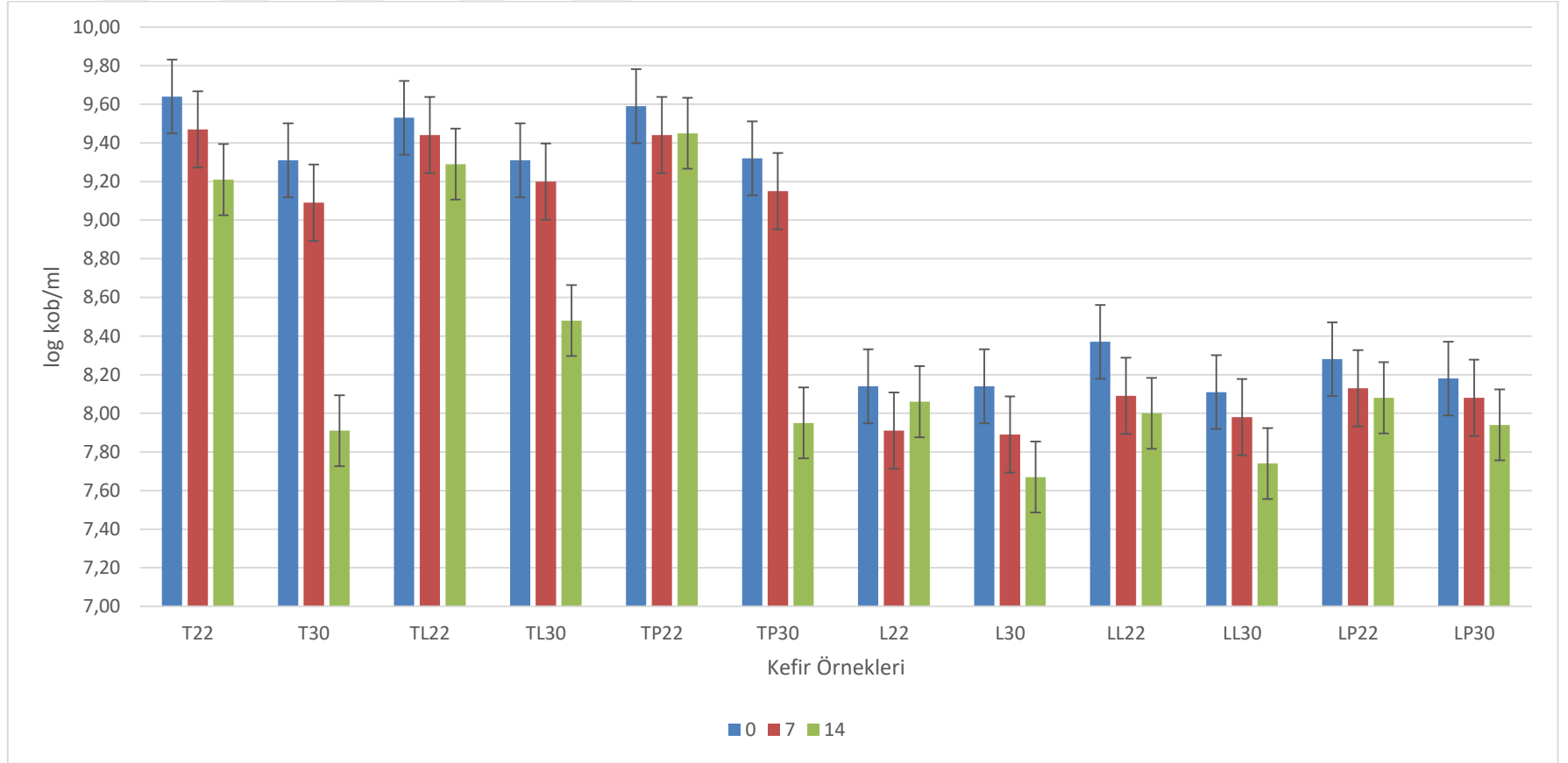
Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (L) (log kob/ml)	Levan (LL) (log kob/ml)	Pullulan (LP) (log kob/ml)
22°C	0	$8,14\pm0,07^{a, B}$	$8,37\pm0,03^{c, A}$	$8,28\pm0,02^{b, B}$
	7	$7,91\pm0,05^{a, A}$	$8,09\pm0,01^{b, B}$	$8,13\pm0,01^{b, C}$
	14	$8,06\pm0,04^{a, C}$	$8,00\pm0,02^{a, C}$	$8,08\pm0,05^{a, D}$
30°C	0	$8,14\pm0,05^{a, B}$	$8,11\pm0,01^{a, B}$	$8,18\pm0,02^{a, E}$
	7	$7,89\pm0,04^{a, A}$	$7,98\pm0,01^{b, C}$	$8,08\pm0,01^{c, D}$
	14	$7,67\pm0,04^{a, C}$	$7,74\pm0,05^{a, D}$	$7,94\pm0,02^{b, A}$

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - E) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Yapılan bir çalışmada geleneksel ve geri ekleme yöntemiyle üretilen kefir örneklerinin laktik asit bakteri sayıları sırasıyla $9,73\pm0,36$ ve $9,02\pm0,17$ log kob/ml olarak bulunmuştur (Kim et al., 2018). Erdogan et al. (2019) kefir taneleri ve kefir starter kültürü kullanarak ürettikleri örneklerin *Lactobacillus* ssp. sayılarının sırasıyla $10,54\pm0,25$ ve $8,40\pm0,25$ log kob/ml olduğunu belirtmişlerdir. Delgado-Fernandez et al. (2019) yaptıkları çalışmada starter kültür kullanarak ürettikleri kefiirlere laktuloz türevi prebiyotik ilavesinin fermentasyonun 6, 12 ve 24. saatlerinde *Lactobacillus* ssp. türlerini önemli bir şekilde arttırdığını, prebiyotik tipi ve dozunun sayımlar üzerinde önemli bir etkisi olmadığını açıklamışlardır. Kefir taneleri ve kefir starter kültürü kullanılarak üretilen

kefirlerin farklı depolama süreleri boyunca laktobasil sayılarının 6,4 – 12,8 log kob/ml aralığında değiştiği yapılan farklı çalışmalarla da desteklenmiştir (Ender, 2009; Yıldız, 2009; Montanuci et al., 2012; Kök-Taş et al., 2013). Bizim çalışmamızda da kefir taneleri ve liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen örneklerin laktobasil sayılarının literatürdeki çalışmalarla uyumlu olduğu görülmektedir.

Şekil 4.5'te de açıkça görüldüğü gibi diğer parametrelere bakılmaksızın (fermantasyon sıcaklığı, mikrobiyal polisakkarit ilavesi ve depolama süresi) kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerin laktobasil sayılarının liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilenlerden istatistiksel olarak önemli ölçüde daha fazla olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Bu farklılığın temel sebebinin kullanılan inokülasyon kültürlerinin mikrobiyal kompozisyonlarındaki farklılıktan kaynaklandığı düşünülmektedir. Öte yandan, örneklerdeki laktobasil sayılarının depolama süresi boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde ($p<0,05$) azaldığı tespit edilmiştir (TP22 ve L22 örneklerinin depolamanın 7 – 14. gün aralığı hariç). Montanuci et al. (2012) tarafından laktik asit bakterilerinin optimum gelişmelerinin pH 5,0 – 9,0 aralığında olduğu ve pH 4,5 altındaki değerlerde laktik asit bakteri gelişimlerinin olumsuz olarak etkilendiği belirtilmiştir. Çalışmamızda da ilerleyen depolama süreleriyle pH değerlerinin laktik asit bakterileri için belirtilen optimum gelişim değerlerinin altına düştüğü tespit edilmiştir.



Şekil 4.5 Farklı parametrelerde üretilen kefirlerin 0, 7 ve 14. günlerinde *Laktobacillus* cinsi mikroorganizma sayım sonuçları

Laktik streptokokların sayımı

Çalışma kapsamında kefir taneleri kullanılarak üretilen kefir örneklerinde yapılan laktik streptokokların sayımlarına ait analiz sonuçları Çizelge 4.11’de verilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek laktik streptokok sayısı ($9,64 \pm 0,04$ log kob/ml) mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinin laktik streptokok sayıları depolama boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir azalış göstermiştir ($p < 0,05$). Mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerin laktik streptokok sayılarında ise depolama boyunca istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik görülmemiştir ($p > 0,05$). Depolama süresine bakılmaksızın 22°C’de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin laktik streptokok sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek laktik streptokok sayısı ($9,61 \pm 0,03$ log kob/ml) mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinin laktik streptokok sayıları depolama boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir azalış göstermiştir ($p < 0,05$). Depolama süresine bakılmaksızın 30°C’de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin laktik streptokok sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle kefir taneleri kullanılarak üretilen kefir örneklerinin her bir depolama süresi için laktik streptokok sayıları karşılaştırıldığında 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen

örneklerin laktik streptokok sayılarının 22°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir. 14 günlük depolama sonunda en yüksek laktik streptokok sayısının ($9,45\pm0,03$ log kob/ml) 22°C’de mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde, en düşük laktik streptokok sayısının ($8,69\pm0,01$ log kob/ml) ise 30°C’de mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinde olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.11 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerin laktik streptokok sayımı sonuçları

Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (T) (log kob/ml)	Levan (TL) (log kob/ml)	Pullulan (TP) (log kob/ml)
22°C	0	$9,60\pm0,01^{ab, A}$	$9,51\pm0,06^{a, A}$	$9,64\pm0,04^{b, A}$
	7	$9,42\pm0,02^{a, B}$	$9,43\pm0,02^{a, A}$	$9,47\pm0,01^{b, B}$
	14	$9,35\pm0,04^{a, C}$	$9,45\pm0,03^{b, A}$	$9,31\pm0,04^{a, C}$
30°C	0	$9,35\pm0,07^{a, C}$	$9,42\pm0,16^{ab, A}$	$9,61\pm0,03^{b, A}$
	7	$9,22\pm0,03^{a, D}$	$9,28\pm0,02^{ab, B}$	$9,30\pm0,02^{b, C}$
	14	$8,69\pm0,01^{a, E}$	$8,82\pm0,05^{b, C}$	$8,74\pm0,03^{a, D}$

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - b) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - E) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Çalışma kapsamında liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefir örneklerinde yapılan laktik streptokok sayımlarına ait analiz sonuçları Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek laktik streptokok sayısı ($7,64 \pm 0,02$ log kob/ml) mikrobiyal polisakkarit ilave edilmemiş kefir örneklerinde görülmüştür. Herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerin laktik streptokok sayıları depolama boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir azalış göstermiştir ($p < 0,05$). Depolama süresine bakılmaksızın 22°C’de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin laktik streptokok sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek laktik streptokok sayısı ($8,40 \pm 0,01$ log kob/ml) mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinin laktik streptokok sayılarında depolama süresi boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir ($p > 0,05$). Mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerin ise laktik streptokok sayılarında depolamanın ilk 7 günü boyunca istatistiksel olarak önemli bir değişiklik görülmemiş ($p > 0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar örneklerdeki laktik streptokok sayılarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$) belirlenmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C’de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin laktik streptokok sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden olduğu ($p < 0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefir örneklerinin her bir depolama süresi için laktik streptokok sayıları karşılaştırıldığında 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen

örneklerin laktik streptokok sayılarının 22°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir. 14 günlük depolama sonunda en yüksek laktik streptokok sayısının ($8,32\pm0,01$ log kob/ml) 30°C’de mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde, en düşük laktik streptokok sayısının ($6,96\pm0,01$ log kob/ml) ise 22°C’de herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinde olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.12 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin laktik streptokok sayımı sonuçları

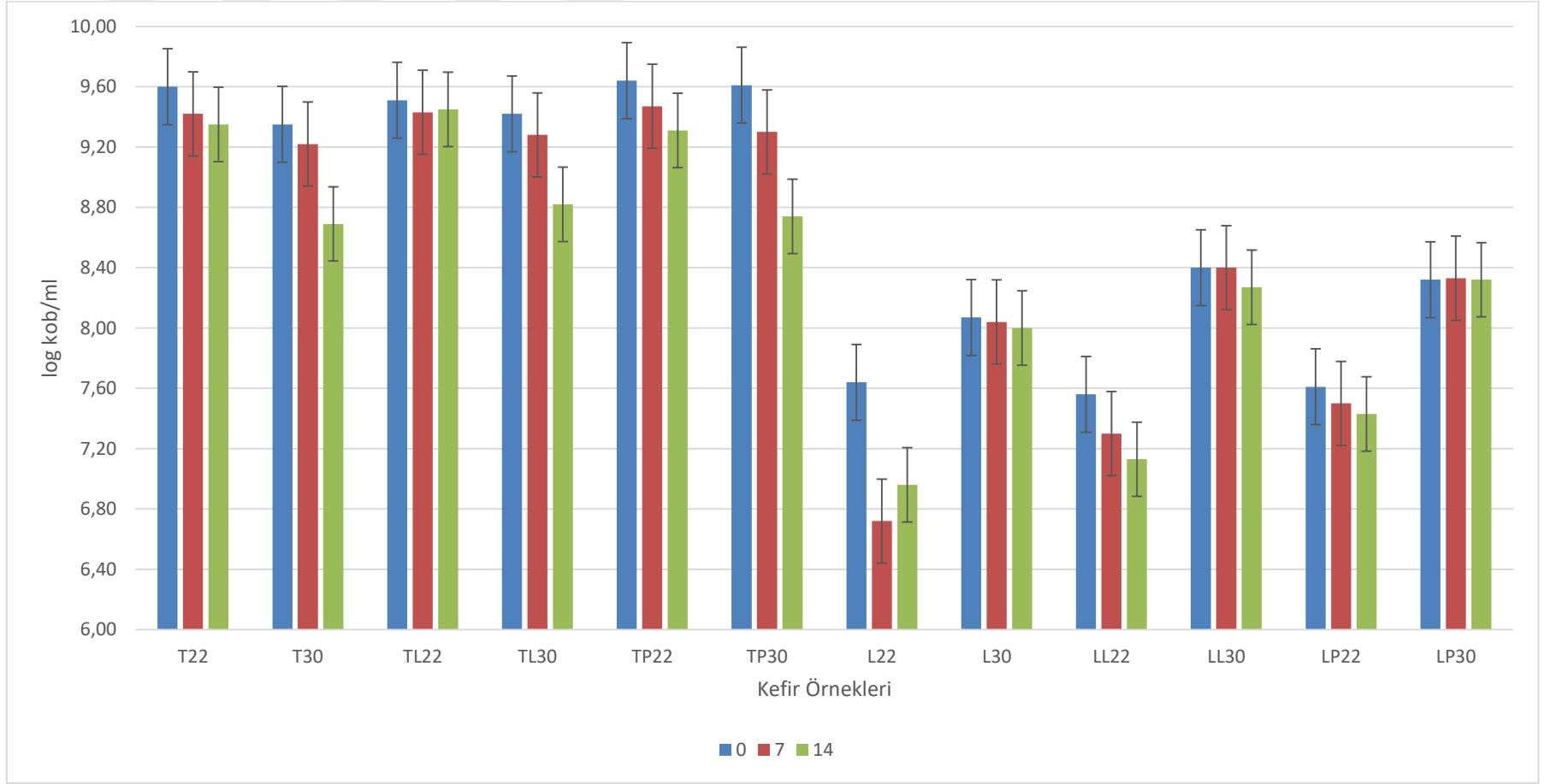
Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (L) (log kob/ml)	Levan (LL) (log kob/ml)	Pullulan (LP) (log kob/ml)
22°C	0	$7,64\pm0,02^{a, A}$	$7,56\pm0,06^{a, A}$	$7,61\pm0,06^{a, A}$
	7	$6,72\pm0,05^{a, B}$	$7,30\pm0,01^{b, B}$	$7,50\pm0,01^{c, B}$
	14	$6,96\pm0,01^{a, C}$	$7,13\pm0,02^{b, C}$	$7,43\pm0,03^{c, C}$
30°C	0	$8,07\pm0,01^{a, D}$	$8,40\pm0,01^{b, D}$	$8,32\pm0,01^{c, D}$
	7	$8,04\pm0,02^{a, DE}$	$8,40\pm0,01^{b, D}$	$8,33\pm0,01^{c, D}$
	14	$8,00\pm0,07^{a, E}$	$8,27\pm0,02^{b, E}$	$8,32\pm0,01^{b, D}$

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - E) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Yapılan bir çalışmada kefir taneleri ve kefir starter kültürü kullanılarak oligofruktoz ilaveli süttten üretilen kefir örneklerinin laktokok ve lökonostok bakteri sayılarının sırasıyla $0,4 - 3,1 \times 10^8$ ve $0,3 - 2,1 \times 10^8$ kob/ml aralığında değiştiği bildirilmiştir (Ender, 2009). Kefir taneleri ve kefir starter kültürü kullanılarak üretilen kefirlerle yapılan başka bir çalışmada ise örneklerin laktik streptokok sayılarının sırasıyla $10,62\pm0,17$ ve $8,76\pm0,27$ log kob/ml olduğu belirlenmiştir (Erdogan et al., 2019). Delgado-Fernandez et al. (2019) kefiirlere laktuloz türevi prebiyotik ilavesinin fermentasyonun ilk 12 saatinde örneklerin laktik streptokok sayılarını önemli ölçüde arttırdığını; ancak üç haftalık soğuk depolamanın ilk bir haftalık süresinde yine azaldığını ve devamında ise değişmediğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da üretilen kefir örneklerinin

14 günlük depolama süresi boyunca laktik streptokok sayılarının $6,72 \pm 0,05$ – $9,64 \pm 0,04$ log kob/ml aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçların literatürdeki çalışmalar ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışmamızda diğer parametrelere bakılmaksızın (fermantasyon sıcaklığı ve mikrobiyal polisakkarit ilavesi) depolama süresi boyunca kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerin laktik streptokok sayılarının liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilenlerden istatistiksel açıdan daha fazla olduğu ($p < 0,05$) bulunmuştur (Şekil 4.5). Ayrıca, depolama başlangıcı ve sonunda örneklerdeki laktik streptokok sayıları karşılaştırıldığında depolama süresi boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir azalış olduğu ($p < 0,05$) tespit edilmiştir (TL22, L30 ve LP30 örnekleri hariç). Bu durumların *Laktobacillus* cinsi mikroorganizmalarda olduğu gibi inokülasyon kültürlerinin mikrobiyal kompozisyonlarıyla ve depolama süresince değişen pH değerleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.6 Farklı parametrelerde üretilen kefirlerin depolamanın 0, 7 ve 14. günlerinde laktik streptokok sayıları

4.2.3 *Escherichia coli* sayım sonuçları

Kefir örneklerine fermantasyondan önce inoküle edilen *E. coli* sayılarının depolama boyunca değişimleri

Çalışma kapsamında, kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerle fermantasyondan önce ~ 4 log kob/ml düzeyinde inoküle edilen *E. coli* kültürlerinin 14 günlük depolama süresi boyunca davranışları Çizelge 4.13'te gösterilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *E. coli* sayısı ($9,20 \pm 0,07$ log kob/ml) mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde ve depolamanın 7. gününde görülmüştür. Herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinde *E. coli* sayılarının depolama boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde ise *E. coli* sayılarının depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak önemli ölçüde arttığı ($p < 0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar istatistiksel olarak anlamlı bir azalış gösterdiği ($p < 0,05$) belirlenmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 22°C'de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerdeki *E. coli* sayılarını herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre arttırdığı; ancak bu artışın istatistiksel açıdan önemli olmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *E. coli* sayısı ($8,67 \pm 0,13$ log kob/ml) mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde *E. coli* sayılarının depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak önemli bir şekilde arttığı ($p < 0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar istatistiksel olarak anlamlı bir azalış gösterdiği ($p < 0,05$) belirlenmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C'de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin *E. coli* sayılarında herhangi bir mikrobiyal

polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle kefir taneleri kullanılarak üretilen kefir örneklerinin herbir depolama süresi için *E. coli* sayıları karşılaştırıldığında 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin *E. coli* sayılarının 30°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir. 14 günlük depolama sonunda en yüksek *E. coli* sayısının ($7,94\pm0,03$ log kob/ml) 22°C’de mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde, en düşük *E. coli* sayısının ($7,53\pm0,02$ log kob/ml) ise 30°C’de mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.13 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon öncesinde inoküle edilen *E. coli* kültürünün davranışı

Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (T) (log kob/ml)	Levan (TL) (log kob/ml)	Pullulan (TP) (log kob/ml)
22°C	0	$8,16\pm0,01^{c, F}$	$7,70\pm0,02^{b, C}$	$7,28\pm0,01^{a, B}$
	7	$7,97\pm0,05^{a, E}$	$8,84\pm0,06^{b, F}$	$9,20\pm0,07^{c, F}$
	14	$7,68\pm0,02^{a, C}$	$7,91\pm0,06^{b, D}$	$7,94\pm0,03^{b, D}$
30°C	0	$7,24\pm0,04^{c, A}$	$6,83\pm0,00^{b, A}$	$6,38\pm0,02^{a, A}$
	7	$7,78\pm0,02^{a, D}$	$8,06\pm0,04^{b, E}$	$8,67\pm0,13^{c, E}$
	14	$7,55\pm0,02^{a, B}$	$7,61\pm0,07^{a, B}$	$7,53\pm0,02^{a, C}$

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - F) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Çalışma kapsamında liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerle fermantasyondan önce $\sim 4 \log$ kob/ml düzeyinde inoküle edilen *E. coli* kültürlerinin 14 günlük depolama süresi boyunca davranışları Çizelge 4.14'te gösterilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *E. coli* sayısı ($6,97 \pm 0,02 \log$ kob/ml) mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinde *E. coli* sayılarının depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak önemli ölçüde azaldığı ($p < 0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği ($p < 0,05$) belirlenmiştir. Mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde ise *E. coli* sayılarının depolama boyunca istatistiksel olarak anlamlı olarak azaldığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 22°C'de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerdeki *E. coli* sayılarını herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak önemli ölçüde arttırdığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *E. coli* sayısı ($7,03 \pm 0,01 \log$ kob/ml) mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinde *E. coli* sayılarının depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar *E. coli* sayılarındaki değişimin istatistiksel açıdan önemli olmadığı ($p > 0,05$) belirlenmiştir. Mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde *E. coli* sayılarının depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak önemli bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde ise *E. coli* sayılarının depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak önemli bir şekilde arttığı ($p < 0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar istatistiksel olarak anlamlı bir azalış gösterdiği ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C'de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin, örneklerin

E. coli sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefir örneklerinin herbir depolama süresi için *E. coli* sayıları karşılaştırıldığında 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin *E. coli* sayılarının 22°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir (depolama başlangıcı için LP örnekleri hariç). 14 günlük depolama sonunda en yüksek *E. coli* sayısının ($6,80\pm0,04$ log kob/ml) 30°C’de mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde, en düşük *E. coli* sayısının ($5,92\pm0,02$ log kob/ml) ise 22°C’de herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen örneklerde olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.14 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon öncesinde inoküle edilen *E. coli* kültürünün davranışı

Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (L) (log kob/ml)	Levan (LL) (log kob/ml)	Pullulan (LP) (log kob/ml)
22°C	0	$6,01\pm0,06^{a, C}$	$6,34\pm0,02^{b, C}$	$6,97\pm0,02^{c, D}$
	7	$5,75\pm0,01^{a, A}$	$6,10\pm0,05^{b, A}$	$6,73\pm0,01^{c, B}$
	14	$5,92\pm0,02^{a, B}$	$6,21\pm0,02^{b, B}$	$6,58\pm0,02^{c, A}$
30°C	0	$6,87\pm0,02^{a, E}$	$6,94\pm0,03^{b, E}$	$6,95\pm0,02^{b, D}$
	7	$6,29\pm0,01^{a, D}$	$6,33\pm0,02^{b, C}$	$7,03\pm0,01^{c, E}$
	14	$6,28\pm0,01^{a, D}$	$6,45\pm0,02^{b, D}$	$6,80\pm0,04^{c, C}$

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - E) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Gulmez and Guven (2003b) 30°C fermantasyon sıcaklığında ürettikleri kefir örneklerine fermantasyon öncesinde $4,68\pm0,9$ log kob/ml düzeyinde *E. coli* O157:H7 inoküle etmişler ve fermantasyon işlemi sonrası yaptıkları hücre

sayımlarında *E. coli* O157:H7 sayısının $7,7 \pm 0,6$ log kob/ml olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca 21 gün boyunca $5 - 7^{\circ}\text{C}$ 'de depoladıkları örneklerin tamamında *E. coli* O157:H7 suşunun canlılığının devam ettiğini tespit etmişlerdir. Karagözlü et al. (2007) yaptıkları çalışmada kefir taneleri kullanarak ürettikleri kefiirlere 2 log kob/ml ve 3 log kob/ml seviyelerinde *E. coli* O157:H7 inoküle etmişler ve 24 saatlik fermantasyon prosesi sonunda örneklerdeki patojen sayılarının sırasıyla $4,13 \pm 0,18$ ve $6,78 \pm 0,99$ log kob/ml olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada ise 4 farklı kefir tanesi kullanılarak 25°C sıcaklıkta 24, 36, 48 ve 72 saat fermantasyon süresiyle üretilen kefirlerin spotlama tekniğiyle antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Çalışmada kullanılan *E. coli* ATCC25922 suşuna karşı 24 saat fermantasyon süresinde üretilen örneklerin herhangi bir etkisi bulunamazken, 36, 48 ve 72 saat fermantasyon süresinde üretilen örneklerin ise kısmi inhibisyon etkisi olduğu görülmüştür (Kim et al., 2016).

Çalışmamızda üretilen kefiirlere fermantasyondan önce inoküle edilen *E. coli* suşlarının fermantasyon prosesi ve depolama süresi boyunca canlılıklarını korudukları belirlenmiştir. Çalışma kapsamında kefir taneleri kullanılarak 30°C 'de üretilen örneklerde ve liyofilize kefir kültürü kullanılarak 22°C 'de üretilen örneklerde (depolama başlangıcında LP örnekleri hariç) *E. coli* gelişiminin daha fazla baskılandığı belirlenmiştir. Bu durumun kullanılan kefir taneleri ve liyofilize kefir kültürü arasındaki mikrobiyal kompozisyonun farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca kefir taneleri ve liyofilize kefir kültürü kullanarak her iki fermantasyon sıcaklığında da üretilen örneklerde (depolama başlangıcında T22 ve T30, 14. günde T30 örnekleri hariç) mikrobiyal polisakkarit ilavesinin *E. coli* sayısını istatistiksel olarak arttırdığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Bu durumun da ortama eklenen mikrobiyal polisakkaritlerin *E. coli* kültürü tarafından besin kaynağı olarak kullanılmasıyla açıklanabileceği düşünülmektedir.

Kefir örneklerine fermantasyondan sonra inoküle edilen *E. coli* sayılarının depolama boyunca değişimleri

Çalışma kapsamında kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerle fermantasyondan sonra ~ 4 log kob/ml düzeyinde inoküle edilen *E. coli* kültürlerinin 14 günlük depolama süresi boyunca davranışları Çizelge 4.15'te gösterilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *E. coli* sayısı ($8,71 \pm 0,18$ log kob/ml) mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Depolamanın 7 ve 14. günleri aralığında mikrobiyal polisakkarit ilave edilmemiş kefir örneklerinde *E. coli* sayıları istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalırken ($p < 0,05$), mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde ise *E. coli* sayılarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 22°C'de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerdeki *E. coli* sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *E. coli* sayısının ($7,89 \pm 0,03$ log kob/ml) mikrobiyal polisakkarit ilave edilmemiş kefir örneklerinde olduğu görülmüştür. Depolamanın 7 ve 14. günleri aralığında; herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinde *E. coli* sayıları istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalırken ($p < 0,05$), mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde ise *E. coli* sayılarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C'de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin *E. coli* sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle kefir taneleri

kullanılarak üretilen kefir örneklerinin her bir depolama süresi için *E. coli* sayıları karşılaştırıldığında 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin *E. coli* sayılarının 30°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir. 14 günlük depolama sonunda en yüksek *E. coli* sayısının ($8,71\pm0,18$ log kob/ml) 22°C’de mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde, en düşük *E. coli* sayısının ($7,55\pm0,06$ log kob/ml) ise 30°C’de herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen örneklerde olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.15 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon sonrasında inoküle edilen *E. coli* kültürünün davranışı

Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (T) (log kob/ml)	Levan (TL) (log kob/ml)	Pullulan (TP) (log kob/ml)
22°C	7	$7,94\pm0,02^{b, C}$	$7,82\pm0,01^{a, B}$	$7,89\pm0,07^{ab, B}$
	14	$7,83\pm0,04^{a, B}$	$8,52\pm0,05^{b, C}$	$8,71\pm0,18^{b, C}$
30°C	7	$7,89\pm0,03^{c, BC}$	$7,67\pm0,05^{b, A}$	$7,53\pm0,01^{a, A}$
	14	$7,55\pm0,06^{a, A}$	$7,83\pm0,01^{b, B}$	$7,78\pm0,01^{b, B}$

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - C) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Çalışma kapsamında liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerle fermantasyondan sonra ~ 4 log kob/ml düzeyinde inoküle edilen *E. coli* kültürlerinin 14 günlük depolama süresi boyunca davranışları Çizelge 4.16'da gösterilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *E. coli* sayısı ($3,81 \pm 0,01$ log kob/ml) mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Depolamanın 7 ve 14. günleri aralığında; mikrobiyal polisakkarit ilave edilmemiş kefir örneklerinin *E. coli* sayılarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmezken ($p > 0,05$), mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde ise *E. coli* sayılarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 22°C'de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerdeki *E. coli* sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *E. coli* sayısının ($3,41 \pm 0,01$ log kob/ml) mikrobiyal polisakkarit ilave edilmemiş kefir örneklerinde olduğu görülmüştür. Depolamanın 7 ve 14. günleri aralığında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinde *E. coli* sayılarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C'de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ilavesinin örneklerin *E. coli* sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$); ancak mikrobiyal pullulan ilavesiyle örneklerdeki *E. coli* sayılarının istatistiksel açıdan önemli ölçüde azaldığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefir örneklerinin herbir depolama süresi için *E. coli* sayıları karşılaştırıldığında 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin *E. coli*

sayılarının 30°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir. 14 günlük depolama sonunda en yüksek *E. coli* sayısının ($3,62\pm0,04$ log kob/ml) 22°C’de üretilen herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden örneklerde, en düşük *E. coli* sayısının ($1,32\pm0,09$ log kob/ml) ise 30°C’de mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.16 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefiirlere fermentasyon sonrasında inoküle edilen *E. coli* kültürünün davranışı

Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (L) (log kob/ml)	Levan (LL) (log kob/ml)	Pullulan (LP) (log kob/ml)
22°C	7	$3,67\pm0,01^{b, C}$	$3,81\pm0,01^{c, D}$	$3,43\pm0,04^{a, D}$
	14	$3,62\pm0,04^{c, C}$	$3,51\pm0,03^{b, C}$	$2,35\pm0,04^{a, C}$
30°C	7	$3,41\pm0,01^{c, B}$	$3,15\pm0,02^{b, B}$	$1,99\pm0,04^{a, B}$
	14	$3,24\pm0,01^{c, A}$	$2,67\pm0,05^{b, A}$	$1,32\pm0,09^{a, A}$

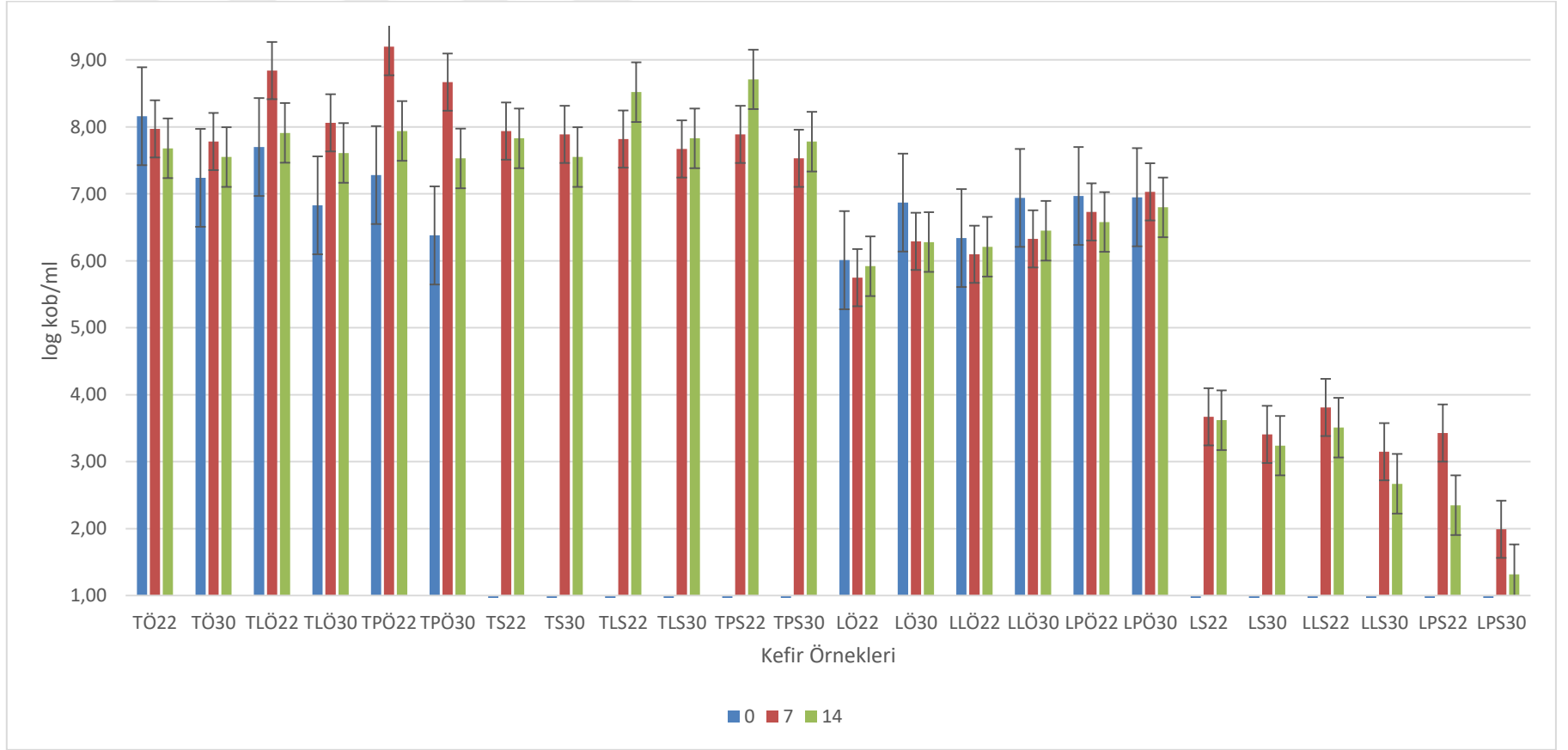
*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - D) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Gulmez et al. (2003) *E. coli* O157:H7’nin kefir fermentasyonu ve soğuk depolama süresi boyunca davranışını incelemek için yürüttükleri çalışmada, örneklerdeki *E. coli* O157:H7 sayısının fermentasyondan önce $4,68\pm0,90$ log kob/ml iken fermentasyon prosesi sonrası $7,70\pm0,60$ log kob/ml değerine ulaştığı ve depolama süresince de canlılıklarını koruduklarını tespit etmişlerdir. Coşansu (2018) yaptığı çalışmada kefir taneleri kullanarak ürettikleri kefirleri fermentasyon işlemi sonrasında ısıya adapte edilmiş (43°C 18 saat, 45°C 18 saat) ve ısı şoklu (45°C 2 saat) *E. coli* O157:H7 ile inoküle etmiş ve 4°C’de 14 gün boyunca gelişimlerini incelemiştir. Örneklerle inoküle edilen *E. coli* O157:H7 suşlarından, 240 saat depolama süresinde optimum gelişme sıcaklığında geliştirilenlerin 4,70 log kob/ml, 43°C sıcaklıkta geliştirilenlerin ise 4 log kob/ml azaldığını; 45°C’de 2 saat ve 18 saat geliştirilenlerin ise sırasıyla 288 ve 192 saatlik soğuk depolama süresi sonunda 5 log kob/ml azaldığını belirtmiştir.

Yaptığımız çalışmada ise kefir taneleri kullanılarak üretilen örneklerle fermantasyondan sonra inoküle edilen *E. coli* suşlarının depolama boyunca gelişimlerinin devam ettiği ve canlılıklarını korudukları görülmüştür.

Literatürde liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon sonrasında *E. coli* inoküle edilmesiyle ilgili herhangi bir çalışma bulunamamıştır. Buna rağmen, yaptığımız çalışmalar neticesinde fermantasyondan sonra meydana gelebilecek *E. coli* kontaminasyonlarında, liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen örneklerin, 30°C fermantasyon sıcaklığı ve mikrobiyal polisakkarit ilavesiyle üretilmesi durumunda *E. coli* gelişimlerinin büyük ölçüde baskılanabileceği görülmüştür. Kefir taneleri ve liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen örneklerde 30°C’de üretilenlerde (depolamanın 7. gününde T örnekleri hariç) *E. coli* gelişiminin daha fazla baskılandığı belirlenmiştir. Bu durumun liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen örneklerin pH değerinin inokülasyon anında daha düşük olmasından ve *E. coli* kültürü için ortam asitliğine adapte olmanın daha zor olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yapılan analizler sonucunda fermantasyondan önce ve/veya sonra meydana gelebilecek *E. coli* kontaminasyonlarında, bakteri gelişimini en fazla baskılandığı örneklerin liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerde ve fermantasyon sonrası uygulanan inokülasyonlarda olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.7). Bu durumun, kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerde fermantasyon boyunca pH düşüşünün zaman alması ve inoküle edilen *E. coli* kültürlerinin fermantasyon süresince değişen asitliğe ve diğer antimikrobiyal bileşenlere karşı direnç kazanmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir (Gulmez and Guven., 2003b).



Şekil 4.7 Farklı parmetrelerde üretilen kefir örneklerine fermantasyondan önce ve sonra inoküle edilen *E. coli* suşlarının 14 günlük depolama süresi boyunca sayım sonuçları

4.2.4 *Salmonella* Enteritidis sayım sonuçları

Kefir örneklerine fermantasyondan önce inoküle edilen *S. Enteritidis* sayılarının depolama boyunca değişimleri

Çalışma kapsamında kefir taneleri kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyondan önce ~ 4 log kob/ml düzeyinde inoküle edilen *S. Enteritidis* kültürlerinin 14 günlük depolama süresi boyunca davranışları Çizelge 4.17'de gösterilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *S. Enteritidis* sayısı ($7,95 \pm 0,03$ log kob/ml) herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmemiş kefir örneklerinde görülmüştür. Mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinde *S. Enteritidis* sayılarının depolama boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 22°C'de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerdeki *S. Enteritidis* sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *S. Enteritidis* sayısı ($7,04 \pm 0,10$ log kob/ml) herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinde görülmüştür. Mikrobiyal polisakkarit ilave edilmemiş kefir örneklerinde *S. Enteritidis* sayılarının depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak önemli bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$), sonrasında ise *S. Enteritidis* sayılarında depolama sonuna kadar istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı ($p < 0,05$) belirlenmiştir. Mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde *S. Enteritidis* sayılarının depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak önemli bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği ($p < 0,05$) belirlenmiştir. Mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinde *S. Enteritidis* sayılarının depolama boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C'de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal

levan ve pullulan ilavesinin örneklerin *S. Enteritidis* sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle kefir taneleri kullanılarak üretilen kefir örneklerinin her bir depolama süresi için *S. Enteritidis* sayıları karşılaştırıldığında 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin *S. Enteritidis* sayılarının 30°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir (TP örneklerinin 7 ve 14. gün analizleri hariç). 14 günlük depolama sonunda en yüksek *S. Enteritidis* sayısının ($5,88\pm0,06$ log kob/ml) 22°C’de herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen örneklerde, en düşük *S. Enteritidis* sayısının ($5,40\pm0,04$ log kob/ml) ise 22°C’de mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.17 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon öncesinde inoküle edilen *S. Enteritidis* kültürünün davranışı

Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (T) (log kob/ml)	Levan (TL) (log kob/ml)	Pullulan (TP) (log kob/ml)
22°C	0	$7,95\pm0,03^{c, E}$	$7,64\pm0,03^{b, F}$	$7,30\pm0,03^{a, D}$
	7	$6,63\pm0,02^{c, C}$	$5,96\pm0,02^{a, D}$	$6,17\pm0,04^{b, B}$
	14	$5,88\pm0,06^{c, B}$	$5,66\pm0,01^{b, C}$	$5,40\pm0,04^{a, C}$
30°C	0	$7,04\pm0,00^{c, D}$	$6,19\pm0,04^{a, E}$	$6,48\pm0,04^{b, E}$
	7	$5,77\pm0,03^{b, A}$	$5,25\pm0,02^{a, A}$	$6,15\pm0,02^{c, B}$
	14	$5,78\pm0,01^{c, A}$	$5,44\pm0,02^{a, B}$	$5,64\pm0,06^{b, A}$

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - F) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Çalışma kapsamında liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerle fermantasyondan önce ~ 4 log kob/ml düzeyinde inoküle edilen *S. Enteritidis* kültürlerinin 14 günlük depolama süresi boyunca davranışları Çizelge 4.18’de gösterilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *S. Enteritidis* sayısı ($5,66 \pm 0,04$ log kob/ml) mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde *S. Enteritidis* sayılarının depolama boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 22°C’de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ilavesinin örneklerdeki *S. Enteritidis* sayılarını herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$); ancak mikrobiyal pullulan ilavesiyle örneklerdeki *S. Enteritidis* sayılarının istatistiksel olarak önemli ölçüde arttığı ($p < 0,05$) belirlenmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *S. Enteritidis* sayısı ($6,13 \pm 0,02$ log kob/ml) mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinde *S. Enteritidis* sayılarının depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar istatistiksel olarak önemli ölçüde arttığı ($p < 0,05$) belirlenmiştir. Mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde *S. Enteritidis* sayılarının depolama boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde ise *S. Enteritidis* sayılarının depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar *S. Enteritidis* sayılarındaki değişimin istatistiksel açıdan önemli olmadığı ($p > 0,05$) belirlenmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C’de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ilavesinin örneklerdeki *S. Enteritidis* sayılarını herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$); ancak mikrobiyal

pullulan ilavesiyle örneklerdeki *S. Enteritidis* sayılarının istatistiksel olarak önemli ölçüde arttığı ($p<0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; 14 günlük depolama sonunda en yüksek *S. Enteritidis* sayısının ($5,87\pm0,06$ log kob/ml) 30°C 'de mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde, en düşük *S. Enteritidis* sayısının ($1,43\pm0,05$ log kob/ml) ise 22°C 'de herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen örneklerde olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.18 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon öncesinde inoküle edilen *S. Enteritidis* kültürünün davranışı

Ferm. Sıcaklığı ($^{\circ}\text{C}$)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (L) (log kob/ml)	Levan (LL) (log kob/ml)	Pullulan (LP) (log kob/ml)
22°C	0	$3,52\pm0,06^{a, D}$	$5,12\pm0,06^{b, F}$	$5,66\pm0,04^{c, C}$
	7	$2,62\pm0,02^{a, C}$	$4,00\pm0,03^{b, D}$	$5,31\pm0,02^{c, B}$
	14	$1,43\pm0,05^{a, A}$	$2,25\pm0,03^{b, A}$	$5,08\pm0,02^{c, A}$
30°C	0	$3,83\pm0,06^{a, E}$	$4,38\pm0,02^{b, E}$	$6,13\pm0,02^{c, E}$
	7	$2,51\pm0,02^{a, B}$	$3,62\pm0,02^{b, C}$	$5,85\pm0,03^{c, D}$
	14	$3,48\pm0,01^{b, D}$	$2,43\pm0,04^{a, B}$	$5,87\pm0,06^{c, D}$

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - F) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Yapılan bir çalışmada kefir taneleri kullanılarak üretilen kefir örnekleri 2 log kob/ml ve 3 log kob/ml *S. Typhimurium* ile inoküle edilmiş ve 24 saatlik fermantasyon işlemi sonrasında örneklerdeki bakteri sayımlarının sırasıyla $4,64\pm0,67$ ve $5,60\pm0,10$ log kob/ml olduğunu bildirmişlerdir (Karagözlü et al., 2007). Dias et al. (2012) kefir taneleri kullanarak ürettikleri kefiirlere fermantasyon öncesinde inoküle ettikleri *S. Enteritidis*'in fermantasyonun ilk 24 saati boyunca canlılığını koruduğunu; ancak 48 ve 72. saatlerde örneklerde *S. Enteritidis* varlığına rastlanmadığını belirtmişlerdir.

Kim et al. (2016) yaptıkları çalışmada 4 farklı kefir tanesi kullanarak ürettikleri kefirlerin tamamının fermentasyon öncesinde inoküle edilen *S. Enteritidis* suşuna karşı fermentasyonun 72. saatinde antimikrobiyal aktivite gösterdiklerini tespit etmişlerdir. Ev yapımı kefirde *S. Typhimurium*'un canlılığını incelemek için yapılan bir çalışmada liyofilize kefir kültürü kullanarak hem soğuk hem de oda sıcaklığındaki fermentasyon şartlarında üretilen kefir örneklerine, fermentasyon öncesinde 10^2 kob/ml seviyesinde patojen kültürü inoküle edilmiştir. 6 günlük depolama süresinin ilk gününde örneklerdeki *S. Typhimurium* sayıları soğuk fermentasyonla üretilen kefir için 2,87 log kob/ml iken, oda sıcaklığında fermente edilen kefir örnekleri için 5,60 log kob/ml olarak; depolamanın 6. günü sonunda ise sırasıyla 1,00 log kob/ml ve 1,98 log kob/ml olarak bulunmuştur (Aksu et al., 2016).

Yaptığımız çalışmada kefir taneleri kullanılarak 30°C'de üretilen örneklerde (depolamanın 7 ve 14. günlerinde TP örnekleri hariç) fermentasyondan önce inoküle edilen *S. Enteritidis* gelişiminin istatistiksel olarak daha fazla baskılandığı ($p<0,05$) tespit edilmiştir. Bu durumun 30°C'de üretilen örneklerin pH değerlerinin daha düşük olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen örneklerde (depolama başlangıcında LL22, 7. günde L22 ve LL22 hariç) ise 22°C'de üretilenlerin *S. Enteritidis* gelişimlerini istatistiksel açıdan daha fazla baskıladıkları ($p<0,05$) belirlenmiştir. Bu durumun ise liyofilize kefir kültürü içeriğindeki laktik asit bakterileri ve maya kültürlerinin 22°C'de aktivitelerinin daha yüksek olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca yapılan analizler sonucu elde edilen verilerin, literatürdeki çalışmalarla benzerlik gösterdiği görülmüştür.

Kefir örneklerine fermantasyondan sonra inoküle edilen *S. Enteritidis* sayılarının depolama boyunca değişimleri

Çalışma kapsamında kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerle fermantasyondan sonra ~ 4 log kob/ml düzeyinde inoküle edilen *S. Enteritidis* kültürlerinin 14 günlük depolama süresi boyunca davranışları Çizelge 4.19'da gösterilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *S. Enteritidis* sayısı ($6,34 \pm 0,18$ log kob/ml) mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen örneklerde görülmüştür. Depolamanın 7 ve 14. günleri aralığında mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinde *S. Enteritidis* sayılarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$) belirlenmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 22°C'de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerdeki *S. Enteritidis* sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *S. Enteritidis* sayısının ($5,52 \pm 0,00$ log kob/ml) herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinde olduğu görülmüştür. Depolamanın 7 ve 14. günleri aralığında mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinde *S. Enteritidis* sayılarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C'de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin *S. Enteritidis* sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle kefir taneleri kullanılarak üretilen kefir örneklerinin herbir depolama süresi için *S. Enteritidis*

sayıları karşılaştırıldığında 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin *S. Enteritidis* sayılarının 30°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir. 14 günlük depolama sonunda en yüksek *S. Enteritidis* sayısının ($5,04\pm0,03$ log kob/ml) 22°C’de herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen örneklerde, en düşük *S. Enteritidis* sayısının ($3,04\pm0,04$ log kob/ml) ise 30°C’de mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.19 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon sonrasında inoküle edilen *S. Enteritidis* kültürünün davranışı

Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (T) (log kob/ml)	Levan (TL) (log kob/ml)	Pullulan (TP) (log kob/ml)
22°C	7	$6,34\pm0,01^{c, C}$	$5,51\pm0,40^{a, C}$	$5,89\pm0,01^{b, D}$
	14	$5,04\pm0,03^{b, A}$	$4,49\pm0,43^{b, B}$	$4,59\pm0,06^{b, B}$
30°C	7	$5,52\pm0,00^{b, B}$	$5,21\pm0,01^{a, C}$	$5,22\pm0,02^{a, C}$
	14	$4,79\pm0,01^{c, A}$	$4,04\pm0,04^{b, A}$	$3,04\pm0,04^{a, A}$

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - D) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Çalışma kapsamında liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerle fermantasyondan sonra $\sim 4 \log$ kob/ml düzeyinde inoküle edilen *S. Enteritidis* kültürlerinin 14 günlük depolama süresi boyunca davranışları Çizelge 4.20’de gösterilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *S. Enteritidis* sayısı ($3,70 \pm 0,04 \log$ kob/ml) mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Depolamanın 14. gününde yapılan analizlerde mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinde *S. Enteritidis* kültürü tespit edilememiştir. Mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde ise *S. Enteritidis* sayılarının depolamanın 7. gününden 14. gününe kadar istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalarak ($p < 0,05$), $2,53 \pm 0,01 \log$ kob/ml değerine ulaştığı tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 22°C’de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ilavesinin, örneklerdeki *S. Enteritidis* sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalışa ($p < 0,05$) neden olduğu, mikrobiyal pullulan ilavesinin ise istatistiksel açıdan önemli bir artışa neden olduğu ($p < 0,05$) belirlenmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *S. Enteritidis* sayısının ($3,29 \pm 0,01 \log$ kob/ml) mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde olduğu görülmüştür. Depolamanın 7 ve 14. günlerinde yapılan analizler neticesinde mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen kefirlerde *S. Enteritidis* kültürü tespit edilememiştir. Mikrobiyal pullulan ilave edilerek üretilen kefir örneklerinde ise *S. Enteritidis* sayılarının depolamanın 7 ve 14. günleri aralığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C’de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal pullulan ilavesiyle örneklerdeki *S. Enteritidis* sayılarının herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel açıdan önemli düzeyde yüksek olduğu ($p < 0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; mikrobiyal pullulan ilavesiyle liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefir örneklerinin herbir

depolama süresi için *S. Enteritidis* sayıları karşılaştırıldığında 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin *S. Enteritidis* sayılarının 30°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir. 14 günlük depolama sonunda en yüksek *S. Enteritidis* sayısının ($2,53\pm0,01$ log kob/ml) 22°C’de mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinde olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.20 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon sonrasında inoküle edilen *S. Enteritidis* kültürünün davranışı

Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (L) (log kob/ml)	Levan (LL) (log kob/ml)	Pullulan (LP) (log kob/ml)
22°C	7	$1,77\pm0,02^b$	$0,78\pm0,08^a$	$3,70\pm0,04^{c, D}$
	14	t.e. (0)	t.e. (0)	$2,53\pm0,01^B$
30°C	7	t.e. (0)	t.e. (0)	$3,29\pm0,01^C$
	14	t.e. (0)	t.e. (0)	$1,77\pm0,12^A$

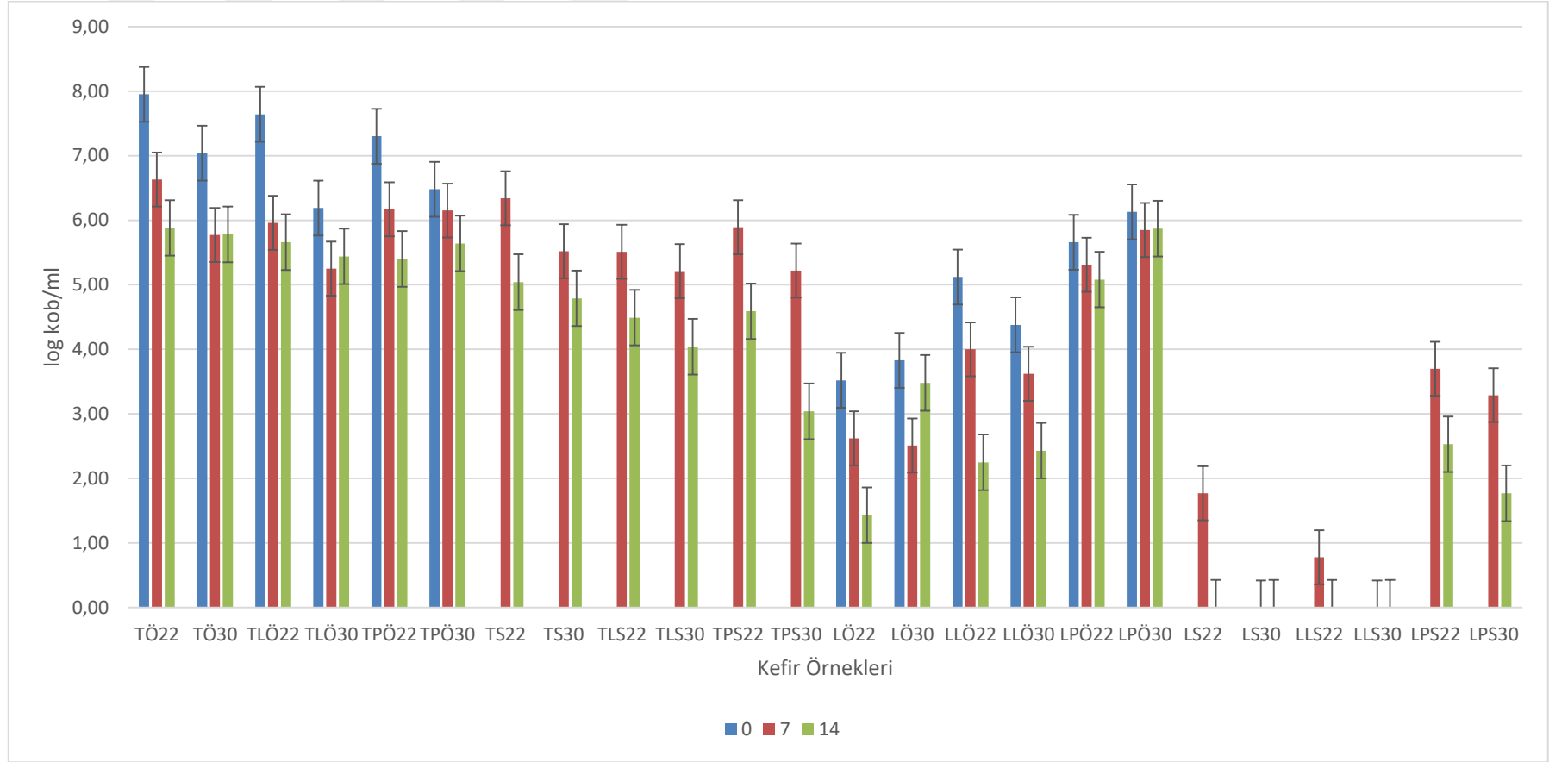
*t.e.: Tespit edilemedi. Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - D) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Garrote et al. (2000) yaptıkları çalışmada kefir taneleri kullanarak ürettikleri kefirlerin *Salmonella* ssp. 521, *Salmonella no typhi* 18684 ve *Salmonella* ssp. (poly B) türlerine karşı antimikrobiyal etkisini belirlemek için yaptıkları çalışmada örneklerin kullanılan bütün bakterilere karşı antimikrobiyal etkisi olduğunu ve inhibisyon zonlarının $11,89\pm2,69$ ile $13,11\pm2,52$ mm aralığında değiştiğini bildirmişlerdir. Chang et al. (2018) %2 ve %10 (w/v) oranlarında kefir taneleri kullanarak 25°C’de 36 saat fermantasyon süresinde ürettikleri yumuşak ve güçlü asitli kefir örneklerine *S. Enteritidis* inoküle etmişler ve 5 günlük soğuk depolama boyunca gelişimlerini incelemişlerdir. Yumuşak asitli kefirlerin depolama boyunca pH değerleri $4,49\pm0,01$ – $4,41\pm0,01$ aralığında, güçlü asitli kefirlerin pH değerleri $3,54\pm0,01$ – $3,49\pm0,01$ aralığında bulunmuştur. Araştırmacılar, yumuşak asitli kefir örneklerinin depolamanın 5. gününde, güçlü

asitli kefirlerin ise depolamanın 1. gününde *S. Enteritidis*'i tamamen inaktive ettiğini belirtmişlerdir.

Literatürde liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon sonrasında *Salmonella* ssp. türlerinin inokülasyonu ve gelişimiyle ilgili herhangi bir çalışma bulunamamıştır. Yaptığımız çalışmada kefir taneleri ile üretilen kefirler *S. Enteritidis* gelişimlerini baskılamış olsa da Chang et al. (2018) tarafından yapılan çalışmanın aksine 14 günlük depolama boyunca *S. Enteritidis* türlerinin canlılıklarını korudukları tespit edilmiştir. Öte yandan, liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerde ise mikrobiyal levan ilavesiyle *S. Enteritidis*'in gelişiminin mikrobiyal pullulan ilavesine göre istatistiksel olarak daha fazla baskılandığı belirlenmiştir ($p<0,05$).

Yapılan analizler sonucunda fermantasyondan önce veya sonra meydana gelebilecek *S. Enteritidis* kontaminasyonlarında, bakteri gelişimini en fazla baskılandığı örneklerin liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerde ve fermantasyon sonrası uygulanan inokülasyonlarda olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.8). Bu durumun, kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerde fermantasyon boyunca pH düşüşünün zaman alması ve inoküle edilen *S. Enteritidis* kültürlerinin fermantasyon süresince değişen asitliğe ve diğer antimikrobiyal bileşenlere karşı direnç kazanmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 4.8 Farklı parmetrelerde üretilen kefir örneklerine fermantasyondan önce ve sonra inoküle edilen *S. Enteritidis* suşlarının 14 günlük depolama süresi boyunca sayım sonuçları

4.2.5 *Staphylococcus aureus* sayım sonuçları

Kefir örneklerine fermantasyondan önce inoküle edilen *S. aureus* sayılarının depolama boyunca değişimleri

Çalışma kapsamında kefir taneleri kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyondan önce ~ 4 log kob/ml düzeyinde inoküle edilen *S. aureus* kültürlerinin 14 günlük depolama süresi boyunca davranışları Çizelge 4.21’de gösterilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefiirlerde en yüksek *S. aureus* sayısı ($7,98 \pm 0,03$ log kob/ml) mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde ise *S. aureus* sayılarının depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak önemli ölçüde azaldığı ($p < 0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği ($p < 0,05$) belirlenmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 22°C’de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerdeki *S. aureus* sayılarını herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırdığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefiirlerde en yüksek *S. aureus* sayısı ($7,77 \pm 0,02$ log kob/ml) mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinde *S. aureus* sayısının depolama sonuna kadar istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği ($p < 0,05$) belirlenmiştir. Mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde *S. aureus* sayılarının depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak önemli bir şekilde arttığı ($p < 0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar istatistiksel olarak anlamlı bir azalış gösterdiği ($p < 0,05$) ve $7,60 \pm 0,04$ log kob/ml değerine ulaştığı tespit edilmiştir. Mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde ise *S. aureus* sayısının depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar istatistiksel olarak önemli bir artış gösterdiği ($p < 0,05$) belirlenmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C’de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v)

oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin *S. aureus* sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle kefir taneleri kullanılarak üretilen kefir örneklerinin herbir depolama süresi için *S. aureus* sayıları karşılaştırıldığında 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin *S. aureus* sayılarının 30°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir (TL örneklerinin 7. gün analizleri hariç). 14 günlük depolama sonunda en yüksek *S. aureus* sayısının ($7,98\pm0,03$ log kob/ml) 22°C’de mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde, en düşük *S. aureus* sayısının ($7,52\pm0,04$ log kob/ml) ise 30°C’de herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen örneklerde olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.21 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon öncesinde inoküle edilen *S. aureus* kültürünün davranışı

Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (T) (log kob/ml)	Levan (TL) (log kob/ml)	Pullulan (TP) (log kob/ml)
22°C	0	$6,85\pm0,01^{a, D}$	$7,89\pm0,08^{b, D}$	$7,90\pm0,07^{b, C}$
	7	$6,68\pm0,09^{a, C}$	$7,71\pm0,09^{c, C}$	$7,55\pm0,10^{b, B}$
	14	$7,65\pm0,14^{a, F}$	$7,98\pm0,03^{c, E}$	$7,84\pm0,02^{b, C}$
30°C	0	$6,08\pm0,08^{a, A}$	$7,46\pm0,03^{b, A}$	$7,54\pm0,06^{b, B}$
	7	$6,34\pm0,02^{a, B}$	$7,77\pm0,02^{c, C}$	$7,38\pm0,05^{b, A}$
	14	$7,52\pm0,04^{a, E}$	$7,60\pm0,04^{a, B}$	$7,54\pm0,06^{a, B}$

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - F) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Çalışma kapsamında liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerle fermantasyondan önce $\sim 4 \log$ kob/ml düzeyinde inoküle edilen *S. aureus* kültürlerinin 14 günlük depolama süresi boyunca davranışları Çizelge 4.22’de gösterilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *S. aureus* sayısı ($3,64 \pm 0,04 \log$ kob/ml) mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde *S. aureus* sayılarının depolama boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 22°C’de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerdeki *S. aureus* sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak önemli bir etkisinin olmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *S. aureus* sayısı ($4,01 \pm 0,04 \log$ kob/ml) mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinin *S. aureus* sayılarında depolama boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı ($p > 0,05$) belirlenmiştir. Mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde *S. aureus* sayılarının depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak önemli bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar *S. aureus* sayılarındaki değişimin istatistiksel açıdan önemli olmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C’de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin *S. aureus* sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$) belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; 14 günlük depolama sonunda en yüksek *S. aureus* sayısının ($2,36 \pm 0,05 \log$ kob/ml) 30°C’de mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde, en düşük *S. aureus* sayısının

(1,61±0,02 log kob/ml) ise 22°C’de herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen örneklerde olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.22 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon öncesinde inoküle edilen *S. aureus* kültürünün davranışı

Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (L) (log kob/ml)	Levan (LL) (log kob/ml)	Pullulan (LP) (log kob/ml)
22°C	0	2,30±0,04 ^{a, C}	3,64±0,04 ^{b, C}	3,55±0,44 ^{b, C}
	7	1,87±0,01 ^{a, B}	2,56±0,04 ^{c, B}	2,32±0,03 ^{b, B}
	14	1,61±0,02 ^{a, A}	2,01±0,06 ^{b, A}	1,95±0,04 ^{b, A}
30°C	0	1,95±0,10 ^{a, B}	3,57±0,10 ^{b, C}	4,01±0,04 ^{c, D}
	7	2,01±0,02 ^{a, B}	2,05±0,01 ^{b, A}	2,31±0,01 ^{c, B}
	14	2,02±0,05 ^{a, B}	2,17±0,02 ^{b, A}	2,36±0,05 ^{c, B}

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - D) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0,05).

Yapılan bir çalışmada kefir taneleri kullanılarak üretilen kefiirlere 2 log kob/ml ve 3 log kob/ml seviyelerinde *S. aureus* inoküle edilmiş ve fermantasyon boyunca davranışları incelenmiştir. Fermantasyonun 2, 6, 12 ve 24. saatlerinde yapılan analizlere göre örneklerdeki *S. aureus* sayısının düzenli olarak arttığı ve 24 saatin sonunda sırasıyla 2,66±0,02 ve 3,64±0,02 log kob/ml olduğu tespit edilmiştir (Karagözlü et al., 2007). Dias et al. (2012) ise yaptıkları çalışmada kefir taneleri kullanarak ürettikleri kefiirlere *S. aureus* inoküle etmişler ve 20°C’de 72 saatlik fermantasyon süresi boyunca gelişimlerini incelemişlerdir. Fermantasyonun 0, 6, 12, 24, 48 ve 72. saatlerinde yapılan analizlere göre *S. aureus*’un canlılığını koruduğunu belirtmişlerdir.

Bizim yaptığımız çalışmada da, fermantasyon öncesi yapılan inokülasyonlarda liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen örneklerin *S. aureus* suşlarının gelişimlerini istatistiksel açıdan daha fazla baskıladıkları (p<0,05) tespit edilmiştir. Bunun nedeninin liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen örneklerin

kefir taneleri kullanılarak üretilenlere göre daha düşük pH değerlerine sahip olmasıyla ilişkilendirilebileceği düşünülmektedir.

Kefir örneklerine fermantasyondan sonra inoküle edilen *S. aureus* sayılarının depolama boyunca değişimleri

Çalışma kapsamında kefir taneleri kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyondan sonra ~ 4 log kob/ml düzeyinde inoküle edilen *S. aureus* kültürlerinin 14 günlük depolama süresi boyunca davranışları Çizelge 4.23'te gösterilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *S. aureus* sayısı ($7,83 \pm 0,05$ log kob/ml) mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Depolamanın 7 ve 14. günleri aralığında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinde *S. aureus* sayıları istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır ($p < 0,05$). Mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde ise *S. aureus* sayılarında depolama boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 22°C'de kefir taneleri kullanılarak % 1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerdeki *S. aureus* sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *S. aureus* sayısının ($7,77 \pm 0,08$ log kob/ml) mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinde olduğu görülmüştür. Herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde depolama boyunca *S. aureus* sayılarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C'de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin *S. aureus* sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle ve herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden kefir taneleri kullanılarak üretilen kefir örneklerinin herbir depolama süresi için *S. aureus* sayıları karşılaştırıldığında 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin *S. aureus* sayılarının 30°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir (TP örneklerinin 14. gün analizleri hariç). 14 günlük depolama sonunda en yüksek *S. aureus* sayısının ($7,83\pm0,05$ log kob/ml) 22°C’de mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde, en düşük *S. aureus* sayısının ($7,54\pm0,02$ log kob/ml) ise 30°C’de herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen örneklerde olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.23 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon sonrasında inoküle edilen *S. aureus* kültürünün davranışı

Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (T) (log kob/ml)	Levan (TL) (log kob/ml)	Pullulan (TP) (log kob/ml)
22°C	7	$6,69\pm0,03^{a, B}$	$7,78\pm0,03^{c, B}$	$7,69\pm0,03^{b, BC}$
	14	$7,73\pm0,05^{b, D}$	$7,83\pm0,05^{c, B}$	$7,63\pm0,03^{a, AB}$
30°C	7	$6,30\pm0,11^{a, A}$	$7,59\pm0,02^{b, A}$	$7,54\pm0,06^{b, A}$
	14	$7,54\pm0,02^{a, C}$	$7,77\pm0,08^{b, B}$	$7,75\pm0,04^{b, C}$

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - D) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Çalışma kapsamında, liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerle fermantasyondan sonra ~ 4 log kob/ml düzeyinde inoküle edilen *S. aureus* kültürlerinin 14 günlük depolama süresi boyunca davranışları Çizelge 4.24'te gösterilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *S. aureus* sayısı ($1,80 \pm 0,06$ log kob/ml) herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen örneklerde görülmüştür. Depolamanın 7 ve 14. günleri aralığında mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinin *S. aureus* sayılarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış görülürken ($p < 0,05$), mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde ise *S. aureus* sayılarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 22°C'de liyofilize kefir kültürü kullanılarak % 1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerdeki *S. aureus* sayılarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *S. aureus* sayısının ($1,58 \pm 0,04$ log kob/ml) herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinde olduğu görülmüştür. Depolamanın 7 ve 14. günleri aralığında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden, ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinde *S. aureus* sayılarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C'de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal pullulan ilavesinin, örneklerin *S. aureus* sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$); ancak mikrobiyal levan ilavesiyle örneklerdeki *S. aureus* sayılarının istatistiksel açıdan önemli ölçüde azaldığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ilavesiyle liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefir örneklerinin herbir depolama süresi için *S. aureus* sayıları karşılaştırıldığında 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin *S.*

aureus sayılarının 30°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir. 14 günlük depolama sonunda en yüksek *S. aureus* sayısının ($1,77\pm0,06$ log kob/ml) 22°C’de herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen örneklerde, en düşük *S. aureus* sayısının ($0,93\pm0,03$ log kob/ml) ise 30°C’de mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.24 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon sonrasında inoküle edilen *S. aureus* kültürünün davranışı

Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (L) (log kob/ml)	Levan (LL) (log kob/ml)	Pullulan (LP) (log kob/ml)
22°C	7	$1,80\pm0,06^{b, D}$	$1,28\pm0,13^{a, C}$	$1,39\pm0,07^{a, C}$
	14	$1,77\pm0,06^{c, C}$	$1,62\pm0,04^{b, D}$	$1,15\pm0,05^{a, A}$
30°C	7	$1,58\pm0,04^{c, B}$	$1,10\pm0,06^{a, B}$	$1,37\pm0,05^{b, C}$
	14	$1,47\pm0,04^{c, A}$	$0,93\pm0,03^{a, A}$	$1,27\pm0,05^{b, B}$

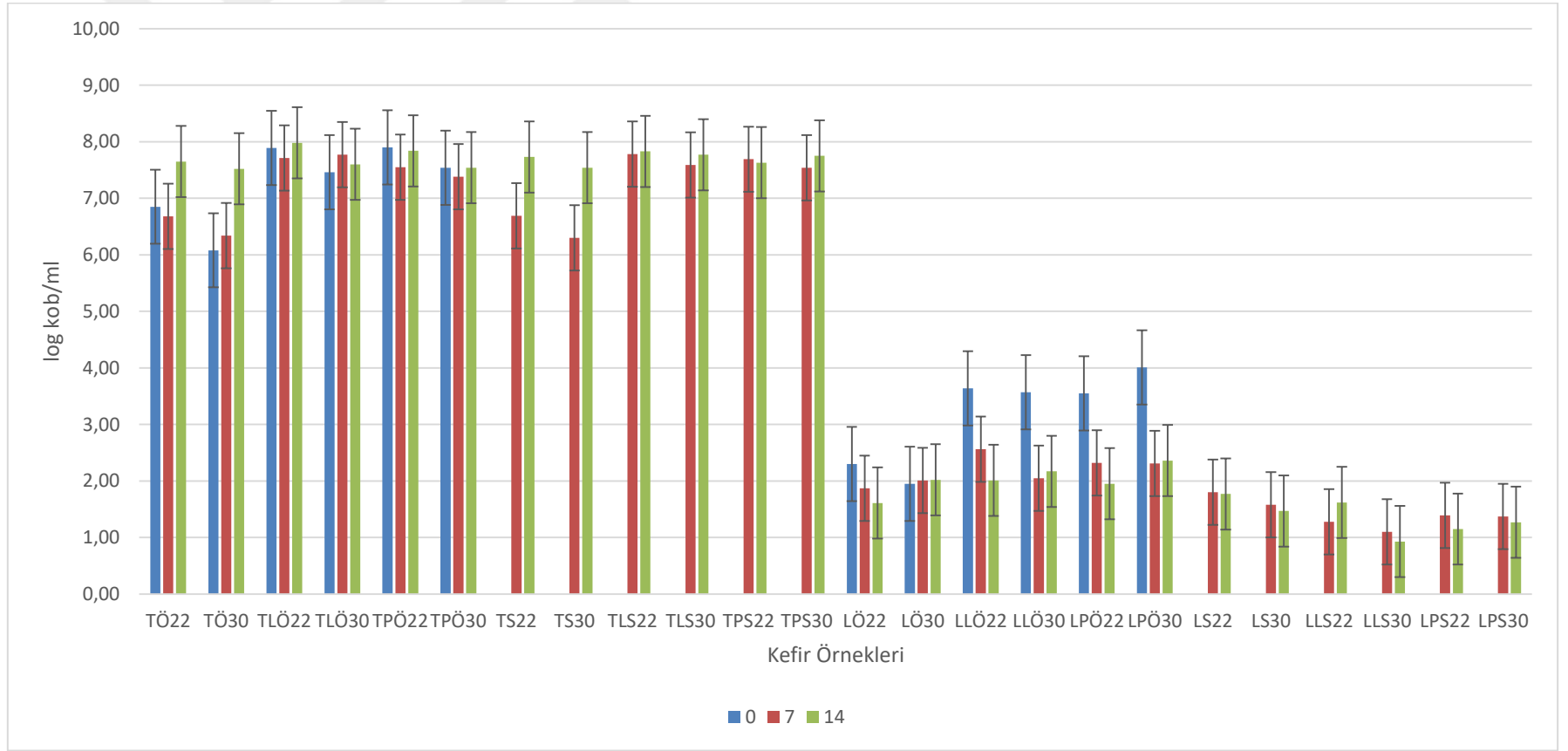
*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - D) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Fermantasyondan sonra uygulanan *S. aureus* inokülasyonlarında, liyofilize kefir kültürü ile üretilen örneklerin *S. aureus* gelişimini kefir taneleri ile üretilenlere göre istatistiksel açıdan daha fazla baskıladıkları ($p<0,05$) tespit edilmiştir. Ayrıca, liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerde mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle *S. aureus*’un gelişiminin herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak daha fazla baskılandığı ($p<0,05$) belirlenmiştir.

Yaptığımız çalışmada fermantasyondan önce ve sonra *S. aureus* kültürü ile inoküle edilen örneklerin tamamında ve 14 günlük depolama boyunca *S. aureus*’un canlılığını sürdürdüğü belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda fermantasyondan önce veya sonra meydana gelebilecek *S. aureus* kontaminasyonlarında, bakteri gelişiminin en fazla baskılandığı örneklerin

liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerde ve fermentasyon sonrası (LP rnekleri hariç) uygulanan inokülasyonlarda olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$) (şekil 4.9). Bu durumun, kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerde fermentasyon boyunca pH düşüşünün zaman alması ve inoküle edilen *S. aureus* kültürlerinin fermentasyon süresince değişen asitliğe ve diğer antimikrobiyal bileşenlere karşı direnç kazanmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir.





Şekil 4.9 Farklı parametrelerde üretilen kefir örneklerine fermantasyondan önce ve sonra inoküle edilen *S. aureus* suşlarının 14 günlük depolama süresi boyunca sayım sonuçları

4.2.6 *Listeria monocytogenes* sayım sonuçları

Kefir örneklerine fermantasyondan önce inoküle edilen *L. monocytogenes* sayılarının depolama boyunca değişimleri

Çalışma kapsamında kefir taneleri kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyondan önce ~ 4 log kob/ml düzeyinde inoküle edilen *L. monocytogenes* kültürlerinin 14 günlük depolama süresi boyunca davranışları Çizelge 4.25'te gösterilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefiirlerde en yüksek *L. monocytogenes* sayısı ($4,54 \pm 0,04$ log kob/ml) mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen örneklerde *L. monocytogenes* sayılarının depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak önemli ölçüde arttığı ($p < 0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar istatistiksel olarak anlamlı bir azalış gösterdiği ($p < 0,05$) belirlenmiştir. Mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde ise *L. monocytogenes* sayılarında depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak önemli bir değişiklik olmadığı ($p > 0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar istatistiksel olarak anlamlı bir azalış ($p < 0,05$) görülmüştür. Depolama süresine bakılmaksızın 22°C'de kefir taneleri kullanılarak % 1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerdeki *L. monocytogenes* sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefiirlerde en yüksek *L. monocytogenes* sayısı ($3,96 \pm 0,02$ log kob/ml) herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen örneklerde görülmüştür. Mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinde *L. monocytogenes* sayısının depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar istatistiksel olarak önemli bir şekilde arttığı ($p < 0,05$) belirlenmiştir. Mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde *L. monocytogenes* sayılarının depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak önemli bir şekilde arttığı ($p < 0,05$), sonrasında ise

depolama sonuna kadar istatistiksel açıdan önemli bir değişiklik olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir. Mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde ise *L. monocytogenes* sayısının depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0,05$), sonrasında ise depolama sonuna kadar istatistiksel olarak önemli bir azalış gösterdiği ($p<0,05$) belirlenmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C’de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin *L. monocytogenes* sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalışa neden olduğu ($p>0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle kefir taneleri kullanılarak üretilen kefir örneklerinin herbir depolama süresi için *L. monocytogenes* sayıları karşılaştırıldığında 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin *L. monocytogenes* sayılarının 30°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir (T örneklerinin 14. gün analizleri hariç). 14 günlük depolama sonunda en yüksek *L. monocytogenes* sayısının ($4,09\pm0,03$ log kob/ml) 22°C’de mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde, en düşük *L. monocytogenes* sayısının ($1,60\pm0,06$ log kob/ml) ise 30°C’de mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.25 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefiirlere fermantasyon öncesinde inoküle edilen *L. monocytogenes* kültürünün davranışı

Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (T) (log kob/ml)	Levan (TL) (log kob/ml)	Pullulan (TP) (log kob/ml)
22°C	0	$3,61\pm0,03^{a, C}$	$4,48\pm0,03^{b, D}$	$4,46\pm0,01^{b, D}$
	7	$4,11\pm0,04^{a, E}$	$4,54\pm0,04^{b, D}$	$4,52\pm0,04^{b, D}$
	14	$3,63\pm0,04^{a, C}$	$4,09\pm0,03^{b, C}$	$3,71\pm0,08^{a, C}$
30°C	0	$2,91\pm0,21^{c, B}$	$1,98\pm0,04^{b, A}$	$1,55\pm0,07^{a, A}$
	7	$2,51\pm0,09^{a, A}$	$2,25\pm0,10^{b, B}$	$2,16\pm0,05^{b, B}$
	14	$3,96\pm0,02^{c, D}$	$2,17\pm0,09^{b, B}$	$1,60\pm0,06^{a, A}$

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - E) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0,05$).

Çalışma kapsamında liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerle fermantasyondan önce ~ 4 log kob/ml düzeyinde inoküle edilen *L. monocytogenes* kültürlerinin 14 günlük depolama süresi boyunca davranışları Çizelge 4.26'da gösterilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *L. monocytogenes* sayısı ($2,85 \pm 0,05$ log kob/ml) mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle ve herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen örneklerde *L. monocytogenes* sayılarının depolama boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$); depolamanın son gününde ise mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerdeki *L. monocytogenes* sayılarının tespit edilemediği belirlenmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *L. monocytogenes* sayısı ($2,41 \pm 0,02$ log kob/ml) mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinin *L. monocytogenes* sayılarının depolamanın ilk 7 gününde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalarak ($p < 0,05$) tespit edilebilecek değerin altına düştüğü belirlenmiştir. Mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerdeki *L. monocytogenes* sayıları depolamanın 7. gününe kadar istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış ($p < 0,05$), depolamanın son gününde ise tespit edilebilecek değerin altına (< 1 log kob/ml) düşmüştür. Mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerdeki *L. monocytogenes* sayıları ise depolamanın 7. gününe kadar istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış ($p < 0,05$), depolamanın son gününde ise tespit edilememiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; 14 günlük depolama sonunda en yüksek *L. monocytogenes* sayısı ($1,58 \pm 0,04$ log kob/ml) 22°C'de mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür.

Çizelge 4.26 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefiirlere fermentasyon öncesinde inoküle edilen *L. monocytogenes* kültürünün davranışı

Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (L) (log kob/ml)	Levan (LL) (log kob/ml)	Pullulan (LP) (log kob/ml)
22°C	0	1,87±0,01 ^{b, C}	1,11±0,07 ^{a, B}	2,85±0,05 ^{c, E}
	7	0,16±0,00 ^{a, A}	0,60±0,11 ^{b, A}	2,01±0,04 ^{c, C}
	14	t.e. (0)	t.e. (0)	1,58±0,04 ^B
30°C	0	1,15±0,08 ^{a, B}	1,17±0,03 ^{a, B}	2,41±0,02 ^{b, D}
	7	t.e. (0)	1,30±0,07 ^{b, C}	0,54±0,06 ^{a, A}
	14	t.e. (0)	t.e. (0)	t.e. (0)

*t.e.: Tespit edilemedi. Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - D) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).

Gulmez and Guven (2003b) yaptıkları çalışmada kefir taneleri kullanarak 30°C’de 1 veya 2 günlük fermentasyon sürelerinde ürettikleri kefirleri *L. monocytogenes* ile inoküle etmişler ve hem fermentasyon süresince hem de 10 günlük depolama boyunca *L. monocytogenes*’in canlılığını koruduğunu bildirmişlerdir. Dias et al. (2012) kefir taneleri kullanarak ürettikleri kefirlerin 20°C sıcaklıkta 72 saatlik fermentasyon süresi boyunca *L. monocytogenes*’e karşı etkisini incelemişler, fermentasyonun ilk 48 saatinde *L. monocytogenes*’in canlılığını koruduğunu; ancak 72. saatte yapılan analizlere göre örneklerde *L. monocytogenes* varlığına rastlanmadığını belirtmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada 4 farklı kefir tanesi kullanılarak üretilen kefiirlere *L. monocytogenes* ATCC51776 suşu inoküle edilmiş ve 25°C’de 72 saatlik fermentasyon süresi boyunca davranışları incelenmiştir. Yapılan analizler sonucunda üretilen kefir örneklerinden yalnızca bir tanesinin *L. monocytogenes*’e karşı antimikrobiyal etkisi olduğu belirlenmiş ve bu örneğin *L. monocytogenes*’e karşı bazı antimikrobiyal maddeler (bakteriyosin gibi) üretebilen mikroorganizmaları içerdiği bildirilmiştir. Bu durum da kefirin antimikrobiyal etkisinin sadece düşük pH seviyesine bağlı olmadığını ve içerdiği spesifik bileşenlerin de büyük önem taşıdığını göstermiştir (Kim et al., 2016).

Kefir örneklerine fermantasyondan sonra inoküle edilen *L. monocytogenes* sayılarının depolama boyunca değişimleri

Çalışma kapsamında kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerle fermantasyondan sonra ~ 4 log kob/ml düzeyinde inoküle edilen *L. monocytogenes* kültürlerinin 14 günlük depolama süresi boyunca davranışları Çizelge 4.27’de gösterilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *L. monocytogenes* sayısı ($5,46 \pm 0,02$ log kob/ml) herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen örneklerde görülmüştür. Depolamanın 7 ve 14. günleri aralığında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle ve herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen kefir örneklerinde *L. monocytogenes* sayıları istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p < 0,05$). Depolama süresine bakılmaksızın 22°C’de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerdeki *L. monocytogenes* sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *L. monocytogenes* sayısının ($4,53 \pm 0,02$ log kob/ml) herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen örneklerde olduğu görülmüştür. Herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde depolama boyunca *L. monocytogenes* sayılarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen kefirlerin *L. monocytogenes* sayılarındaki değişimin ise depolamanın 7 ve 14. günü aralığında istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p > 0,05$) belirlenmiştir. Depolama süresine bakılmaksızın 30°C’de kefir taneleri kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerin *L. monocytogenes* sayılarında herhangi bir

mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle ve herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden kefir taneleri kullanılarak üretilen kefir örneklerinin herbir depolama süresi için *L. monocytogenes* sayıları karşılaştırıldığında 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin *L. monocytogenes* sayılarının 30°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir. 14 günlük depolama sonunda en yüksek *L. monocytogenes* sayısının ($3,69\pm0,03$ log kob/ml) 22°C’de herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden üretilen örneklerde, en düşük *L. monocytogenes* sayısının ($1,78\pm0,08$ log kob/ml) ise 30°C’de mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.27 Kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirle fermantasyon sonrasında inoküle edilen *L. monocytogenes* kültürünün davranışı

Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (T) (log kob/ml)	Levan (TL) (log kob/ml)	Pullulan (TP) (log kob/ml)
22°C	7	$5,46\pm0,02^{b, D}$	$3,39\pm0,07^{a, C}$	$3,31\pm0,12^{a, D}$
	14	$3,69\pm0,03^{b, B}$	$2,49\pm0,04^{a, B}$	$2,96\pm0,48^{a, C}$
30°C	7	$4,53\pm0,02^{c, C}$	$1,89\pm0,11^{a, A}$	$2,16\pm0,15^{b, B}$
	14	$3,00\pm0,02^{b, A}$	$1,82\pm0,20^{a, A}$	$1,78\pm0,08^{a, A}$

*Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - b) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - D) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

Çalışma kapsamında liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirle fermantasyondan sonra ~ 4 log kob/ml düzeyinde inoküle edilen *L. monocytogenes* kültürlerinin 14 günlük depolama süresi boyunca davranışları Çizelge 4.28’de gösterilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *L. monocytogenes* sayısı ($1,59\pm0,03$ log kob/ml) mikrobiyal

pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde görülmüştür. Depolamanın 7 ve 14. günleri aralığında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinin *L. monocytogenes* sayılarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış görülmüştür ($p<0,05$). Depolama süresine bakılmaksızın 22°C’de liyofilize kefir kültürü kullanılarak %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerdeki *L. monocytogenes* sayılarında herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir.

Depolama süresine bakılmaksızın, 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen kefirlerde en yüksek *L. monocytogenes* sayısının ($0,87\pm0,03$ log kob/ml) mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde olduğu görülmüştür. Depolamanın 7. ve 14. günleri aralığında mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen kefir örneklerinde *L. monocytogenes* sayılarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0,05$); depolamanın 14. gününde mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve mikrobiyal levan ilavesiyle üretilen örneklerde ise *L. monocytogenes* sayıları ise tespit edilememiştir.

Çalışma kapsamında incelenen kefir örneklerinde; mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle ve herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefir örneklerinin her bir depolama süresi için *L. monocytogenes* sayıları karşılaştırıldığında 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin *L. monocytogenes* sayılarının 30°C sıcaklıkta üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir. 14 günlük depolama sonunda en yüksek *L. monocytogenes* sayısının ($0,98\pm0,07$ log kob/ml) 22°C’de mikrobiyal pullulan ilavesiyle üretilen örneklerde olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.28 Liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerle fermantasyon sonrasında inoküle edilen *L. monocytogenes* kültürünün davranışı

Ferm. Sıcaklığı (°C)	Depolama Süresi (Gün)	Mikrobiyal Polisakkarit (%1, w/v)		
		İlave Edilmemiş (L) (log kob/ml)	Levan (LL) (log kob/ml)	Pullulan (LP) (log kob/ml)
22°C	7	0,93±0,02 ^{a, B}	1,27±0,05 ^{b, B}	1,59±0,03 ^{c, C}
	14	0,39±0,09 ^{a, A}	0,90±0,11 ^{b, A}	0,98±0,07 ^{b, B}
30°C	7	0,53±0,21 ^{a, A}	0,87±0,03 ^{b, A}	0,26±0,24 ^{a, A}
	14	t.e. (0)	t.e. (0)	0,17±0,15 ^A

*t.e.: Tespit edilemedi. Aynı satırda yer alan farklı küçük harfler (a - c) ve aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - C) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).

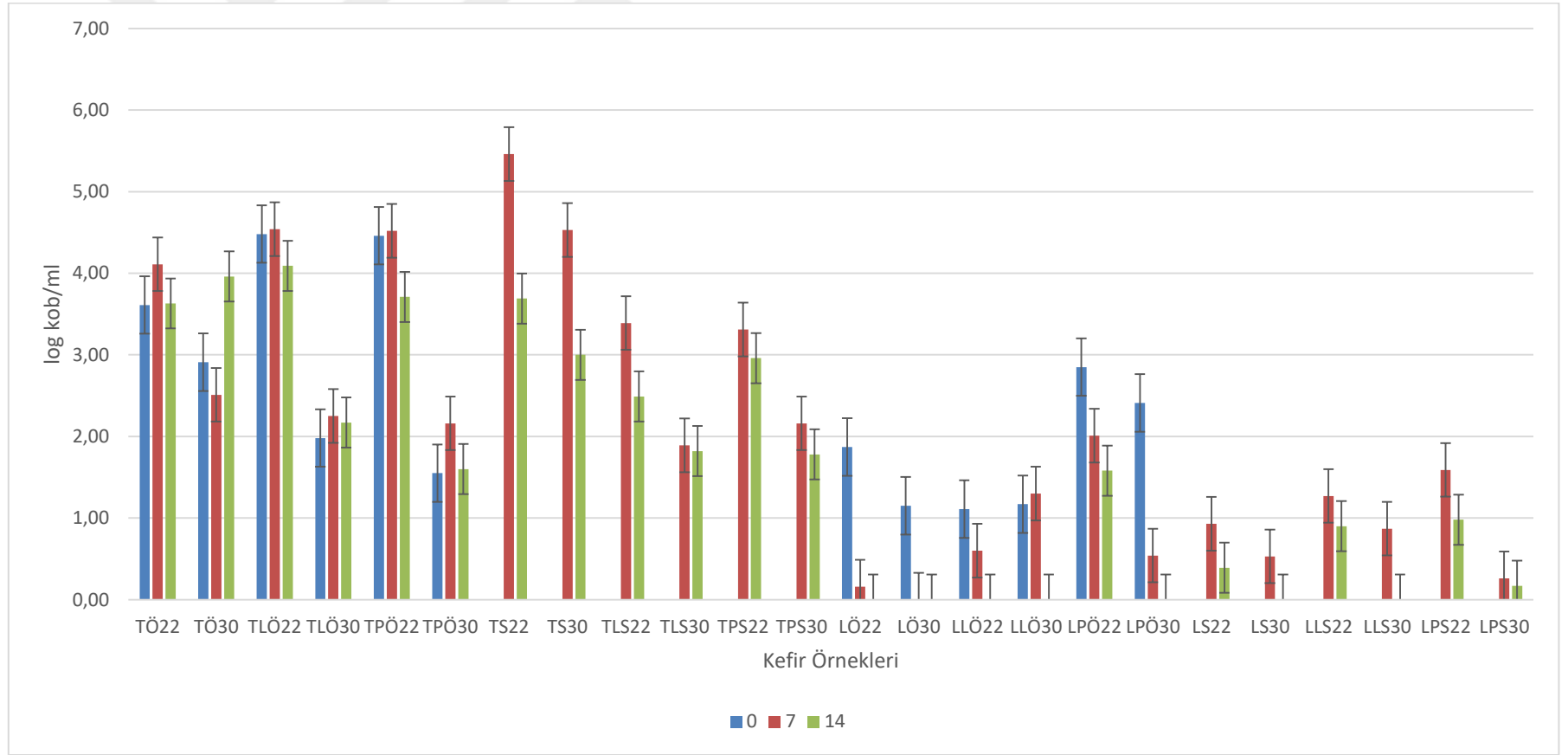
Yapılan bir çalışmada kefir taneleri kullanarak üretilen kefirlerle fermantasyon işlemi sonrasında ısıya adapte edilmiş (43°C 18 saat, 45°C 18 saat) ve ısı şoklu (45°C 2 saat) *L. monocytogenes* inoküle edilmiş ve 4°C'de 14 gün boyunca davranışları incelenmiştir. Üretilen kefirin 45°C'de 2 saat ve 18 saat geliştirilen *L. monocytogenes* hücrelerine karşı daha dirençli olduğu ve 168 saatten daha kısa bir depolama süresinde hücrelerin 4 log kob/ml'den daha fazla azaldığı bildirilmiştir (Coşansu, 2018).

Fermantasyondan sonra uygulanan *L. monocytogenes* inokülasyonlarında, liyofilize kefir kültürü ile üretilen örneklerin *L. monocytogenes* gelişimini kefir taneleri ile üretilenlere göre istatistiksel açıdan daha fazla baskıladıkları (p<0,05) tespit edilmiştir. Ayrıca, 22°C'de liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerde mikrobiyal levan ve pullulan ilavesinin örneklerdeki *L. monocytogenes* sayısını herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeyenlere göre istatistiksel olarak önemli bir şekilde arttırdığı (p<0,05) belirlenmiştir. Bu durumun ortama ilave edilen mikrobiyal polisakkaritlerin *L. monocytogenes* tarafından besin maddesi olarak kullanmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Yapılan analizler sonucunda fermantasyondan önce veya sonra meydana gelebilecek *L. monocytogenes* kontaminasyonlarında, bakteri gelişiminin en fazla baskılandığı örneklerin liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerde olduğu belirlenmiştir (p<0,05) (Şekil 4.10). Bu durumun, kefir taneleri kullanılarak üretilen kefirlerde fermantasyon boyunca pH düşüşünün zaman alması ve inoküle edilen *L. monocytogenes* kültürlerinin fermentasyon süresince

değişen asitliğe ve diğer antimikrobiyal bileşenlere karşı direnç kazanmalarından kaynaklandığı veya liyofilize kefir kültürü içeriğindeki mikroorganizmaların ürettikleri spesifik bileşenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.





Şekil 4.10 Farklı parmetrelerde üretilen kefir örneklerine fermantasyondan önce ve sonra inoküle edilen *L. monocytogenes* suşlarının 14 günlük depolama süresi boyunca sayım sonuçları

4.3 Duyusal Değerlendirme

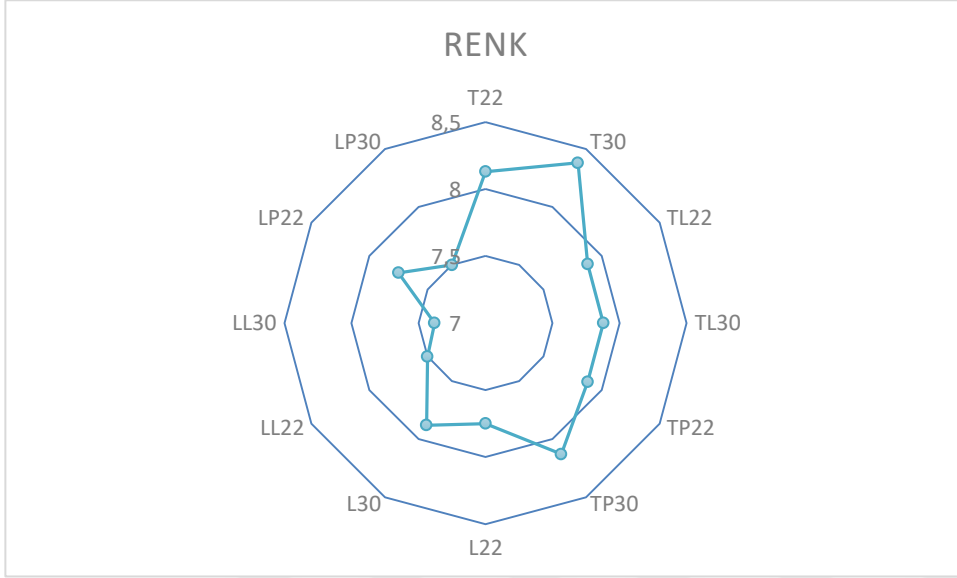
Duyusal değerlendirme, tez çalışması kapsamında farklı fermantasyon sıcaklıklarında (22°C ve 30°C), farklı inokülasyon kültürleri (kefir taneleri ve liyofilize kefir kültürü) ve farklı mikrobiyal polisakkaritlerin (levan ve pullulan) ilavesiyle üretilen örnekler üzerinde uygulanmıştır. Mikrobiyal polisakkarit (levan ve pullulan) ilave edilerek ve herhangi bir mikrobiyal polisakkarit içermeyen örnekler, 22°C ve 30°C’de 24 saat fermantasyona bırakıldıktan sonra +4°C’de 6 – 7 saat bekletilmiş ve 8 panelist tarafından renk, lezzet, kıvam ve genel beğeni açısından değerlendirilmiştir. Örneklerin duysal özelliklerine ait veriler Çizelge 4.29’da verilmiştir.

Çizelge 4.29 Farklı parametrelerde üretilen kefiirlere ait duysal analiz sonuçları

Örnek Kodu	Renk	Lezzet	Kıvam	Genel Beğeni
T22	8,13±0,65 ^{BC}	8,25±0,46 ^{DE}	6,88±0,64 ^C	7,38±0,74 ^{ABC}
T30	8,38±0,74 ^C	8,63±0,74 ^E	8,25±0,71 ^E	7,88±0,64 ^C
TL22	7,88±0,64 ^{ABC}	8,25±0,71 ^{DE}	7,25±0,46 ^{CD}	7,25±0,46 ^{ABC}
TL30	7,88±0,64 ^{ABC}	8,63±0,74 ^E	8,00±0,76 ^{DE}	7,63±0,74 ^{BC}
TP22	7,88±0,64 ^{ABC}	8,13±0,64 ^{DE}	7,13±0,64 ^C	7,25±0,71 ^{ABC}
TP30	8,13±0,64 ^{BC}	8,13±0,64 ^{DE}	7,50±0,54 ^{CDE}	7,63±0,92 ^{BC}
L22	7,75±0,46 ^{ABC}	7,25±0,71 ^{BC}	4,25±1,04 ^{AB}	6,88±0,64 ^{AB}
L30	7,88±0,64 ^{ABC}	7,75±0,46 ^{CD}	4,75±1,04 ^{AB}	7,25±0,71 ^{ABC}
LL22	7,50±0,53 ^{AB}	6,50±0,93 ^A	4,25±0,71 ^{AB}	6,75±0,71 ^A
LL30	7,38±0,52 ^A	7,25±0,46 ^{BC}	5,00±0,76 ^B	7,25±0,46 ^{ABC}
LP22	7,75±0,46 ^{ABC}	6,75±0,71 ^{AB}	4,00±0,76 ^A	6,75±0,71 ^A
LP30	7,50±0,54 ^{AB}	6,88±0,64 ^{AB}	4,50±0,93 ^{AB}	7,25±0,71 ^{ABC}

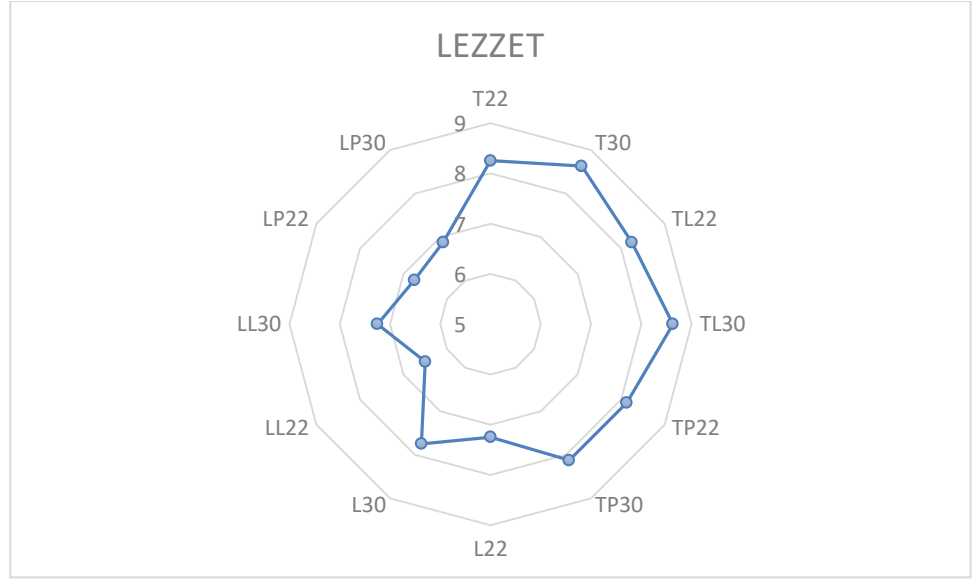
*Aynı sütunda yer alan farklı büyük harfler (A - E) ortalama değerler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).

Duyusal değerlendirmede analiz örnekleri renk özellikleri açısından değerlendirildiğinde; en az beğenilen örnek liyofilize kefir kültürü kullanılarak ve % 1 mikrobiyal levan ilavesiyle 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen LL30 örneği, en çok beğenilen örnek ise kefir taneleri kullanılarak 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen T30 örneği olmuştur (Şekil 4.11).



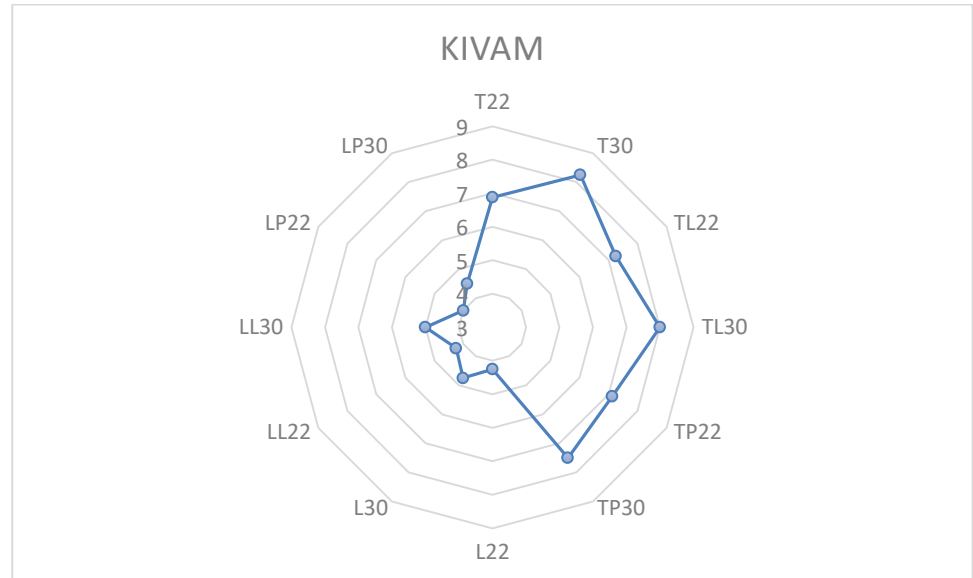
Şekil 4.11 Farklı parametrelerde üretilen kefir örneklerinin renk özelliklerine ait duyusal değerlendirme sonuçları

Tez çalışması kapsamında üretilen kefirler lezzet özellikleri açısından değerlendirildiğinde örnekler arasında en çok beğenilen örnekler, kefir taneleri kullanılarak 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen T30 ve mikrobiyal levan ilave edilerek üretilen TL30 kefirleri iken, en az beğenilen örnek ise liyofilize kefir kültürü kullanılarak ve % 1 mikrobiyal levan ilave edilerek 22°C sıcaklıkta üretilen LL22 örneği olmuştur (Şekil 4.12).



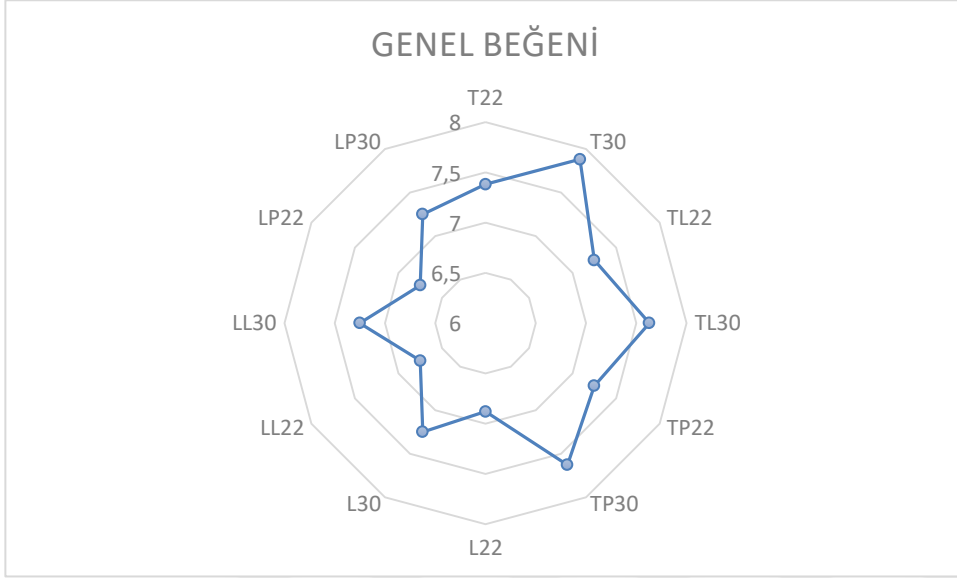
Şekil 4.12 Farklı parametrelerde üretilen kefir örneklerinin lezzet özelliklerine ait duyusal değerlendirme sonuçları

Tez kapsamında kıvam özellikleri açısından değerlendirilen örnekler arasında kefir taneleri kullanılarak ve 30°C’de fermente edilen T30 örneği en çok beğenilen örnek olmuştur (Şekil 4.13). Bununla birlikte panelistler tarafından kıvam özellikleri değerlendirilen örnekler arasında en az beğenilen örnek ise liyofilize kefir kültürü kullanılarak ve % 1 mikrobiyal pullulan ilave edilerek 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen LP22 örneği olmuştur.



Şekil 4.13 Farklı parametrelerde üretilen kefir örneklerinin kıvam özelliklerine ait duyusal değerlendirme sonuçları

Genel beğeni açısından değerlendirilen örnekler arasında T30 örneği en çok beğenilen örnek olmuştur. T30'dan sonra en çok beğenilen örnek ise TL30 olarak belirlenmiştir. En az beğeni gören örnek ise liyofilize kefir kültürü kullanılarak ve % 1 mikrobiyal pullulan ilave edilerek 22°C fermantasyon sıcaklığında üretilen LP22 örneği olmuştur (Şekil 4.14).



Şekil 4.14 Farklı parametrelerde üretilen kefir örneklerinin genel beğeni özelliklerine ait duysal değerlendirme sonuçları

Renk, lezzet, kıvam ve genel beğeni yönünden değerlendirilen örnekler arasında tüm özellikler açısından en çok beğenilen örnek kefir taneleri kullanılarak 30°C'de fermente edilen T30 örneği olmuştur. Duyusal değerlendirme sonucunda elde edilen veriler ile, kefir tanelerinin içerdiği mikrobiyal bileşimin fermantasyon aşamasında ortaya çıkardığı alkol, CO₂ ve organik asit dağılımının kefirin duysal kalite özelliklerini önemli ölçüde etkilediği belirlenmiştir.

Kök-Taş et al. (2013) yaptıkları çalışmada kefir taneleri ve kefir starter kültürü kullanarak farklı atmosfer koşullarında ürettikleri örneklerden starter kültür kullanarak ürettikleri örneklerin panelistlerce daha çok beğenildiğini belirtmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada ise kefir taneleri kullanılarak geleneksel ve geri ekleme (back-slopping) yöntemi kullanılarak üretilen kefirlerin 11 günlük soğuk depolama süresi boyunca duysal özellikleri incelenmiş ve örneklerin görünüm ve aroma/koku özellikleri arasında anlamlı bir fark

bulunamazken ($p>0,05$) geleneksel yöntemle üretilen örneklerin doku özelliklerinin depolamanın 5 – 11. günleri aralığında istatistiksel olarak önemli derecede daha düşük olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir (Kim et al., 2018).

Literatürde mikrobiyal polisakkarit kullanılarak üretilen kefir örnekleri ve duyu analizleri ile ilgili herhangi bir çalışma bulunamamıştır; ayrıca yaptığımız çalışma göstermiştir ki kullanılan starter kültür çeşidi ve fermantasyon sıcaklığı kefirin duyu özelliklerini önemli ölçüde etkilemektedir.



5. SONUÇ

Bu tez çalışmasında kefir taneleri ve liyofilize kefir kültürü kullanılarak, üretim aşamasında iki farklı mikrobiyal polisakkarit (levan ve pullulan) ilavesiyle ve farklı fermantasyon sıcaklıkları (22°C ve 30°C) uygulanarak kefir üretilmiş ve üretilen kefir örneklerinin üretim sonrası ve +6°C’de 14 günlük depolama boyunca fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri incelenmiştir. Ayrıca, çalışmada üretilen kefir örneklerine fermantasyondan önce ve sonra Gr(+) ve Gr(-) bakteriler (*E. coli*, *S. Enteritidis*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus*) inoküle edilmiş ve belirlenen depolama sürelerinde sayımları alınarak, bu bakterilerin davranışları incelenmiştir.

Çalışma kapsamında kefir taneleri kullanılarak üretilen örneklerin pH değerlerinin 14 günlük depolama boyunca $4,40 \pm 0,01$ ile $4,67 \pm 0,01$ aralığında değiştiği; liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen örneklerin ise $4,24 \pm 0,01$ ile $4,54 \pm 0,01$ aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Yapılan analizler sonucu liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen örneklerin pH değerlerinin istatistiksel olarak önemli ölçüde daha düşük olduğu ($p < 0,05$) belirlenmiştir (depolamanın son gününde 30°C’de üretilen örnekler hariç). Kefir taneleri ile üretilen örneklerin % titrasyon asitliği değerlerinin $0,87 \pm 0,01$ – $1,10 \pm 0,00$ aralığında; liyofilize kefir kültürü ile üretilen örneklerin % titrasyon asitliği değerlerinin $0,85 \pm 0,01$ – $1,00 \pm 0,01$ aralığında değiştiği bulunmuştur. Çalışmada üretilen kefir örneklerinin ekzopolisakkarit (EPS) içeriklerinin üretim parametrelerine göre değiştiği ve kefir taneleri kullanılarak üretilen örneklerde $301,7 \pm 2,00$ – $465,3 \pm 2,00$ (mg/kg) aralığında, liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen örneklerde ise $226,5 \pm 2,00$ – $435,0 \pm 1,00$ (mg/kg) aralığında olduğu tespit edilmiştir.

Üretilen kefirlerin mikrobiyolojik kalitesini belirlemek amacıyla örneklerde maya ve laktik asit bakterileri sayımları yapılmıştır. Kefir taneleri kullanılarak üretilen örneklerin maya sayılarının ($5,11 \pm 0,09$ – $6,73 \pm 0,04$ log kob/ml) liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilenlere ($2,42 \pm 0,02$ – $4,81 \pm 0,01$ log kob/ml) göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Çalışma kapsamında örneklerin laktik asit bakteri içerikleri incelenmiş ve kefir taneleri

kullanılarak üretilen örneklerin *Lactobacillus* (depolamanın son gününde TP30 hariç) ve *Streptococcus* cinsi mikroorganizma içeriklerinin liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilenlere göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir.

Hem fermantasyondan önce hem de fermantasyondan sonra meydana gelebilecek *E. coli* kontaminasyonlarına karşı liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen örneklerde *E. coli* sayılarının istatistiksel olarak daha az olduğu ($p<0,05$) belirlenmiştir. Fermantasyondan önce gerçekleştirilen inokülasyonlarda en yüksek *E. coli* sayısı TPÖ22 kodlu örneklerin 7. gününde ($9,20\pm0,07$ log kob/ml), en düşük *E. coli* sayısı ise LÖ22 kodlu örneklerin 7. gününde ($5,75\pm0,01$ log kob/ml) saptanmıştır. Fermantasyondan sonra uygulanan inokülasyonlarda ise en yüksek *E. coli* sayısı TPS22 kodlu örneklerin 14. gününde ($8,71\pm0,18$ log kob/ml), en düşük *E. coli* sayısı ise LPS30 kodlu örneklerin 14. gününde ($1,32\pm0,09$ log kob/ml) tespit edilmiştir.

Fermantasyondan önce ve/veya sonra meydana gelebilecek *S. Enteritidis* kontaminasyonlarında, bakteri gelişiminin en fazla baskılandığı örneklerin liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerde ve fermantasyon sonrası uygulanan inokülasyonlarda olduğu belirlenmiştir. Fermantasyondan önce gerçekleştirilen inokülasyonlarda en yüksek *S. Enteritidis* sayısı ($7,95\pm0,03$ log kob/ml) TÖ22 kodlu örneklerin depolama başlangıcında, en düşük *S. Enteritidis* sayısı ($1,43\pm0,05$ log kob/ml) ise LÖ22 kodlu örneklerin 14. gününde tespit edilmiştir. Fermantasyondan sonra gerçekleştirilen inokülasyonlarda kefir taneleri kullanılarak üretilen örneklerde en düşük *S. Enteritidis* sayısının ($3,04\pm0,04$ log kob/ml) TPS30 kodlu örneklerin 14. gününde olduğu bulunurken; liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen örneklerde ise *S. Enteritidis* sayılarının LS22 (14. gün), LLS22 (14. gün), LS30 (7 ve 14. gün) ve LLS30 (7 ve 14. gün) grubu örneklerinde tespit edilemediği belirlenmiştir.

Fermantasyondan önce ve sonra gerçekleştirilen *S. aureus* inokülasyonlarında liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin *S. aureus* gelişimlerini kefir taneleri kullanılarak üretilenlere göre istatistiksel açıdan daha fazla baskıladıkları ($p<0,05$) belirlenmiştir. Buna rağmen *S. aureus*

kültürlerinin üretilen bütün kefir örneklerinde 14 günlük depolama süresi boyunca canlılıklarını sürdürdükleri tespit edilmiştir. Fermantasyondan önce gerçekleştirilen *S. aureus* inokülasyonlarında en düşük bakteri sayısı ($1,61 \pm 0,02$ log kob/ml) LÖ22 (14. gün) örneklerinde, fermantasyondan sonra gerçekleştirilen inokülasyonlarda ise en düşük bakteri sayısı ($0,93 \pm 0,03$ log kob/ml) LLS30 (14. gün) örneklerinde görülmüştür.

Çalışma kapsamında üretilen kefir örneklerinin gelişimini en fazla baskıladığı bakteri türünün *L. monocytogenes* olduğu görülmüştür. Fermantasyondan önce yapılan inokülasyonlarda en yüksek *L. monocytogenes* sayısı TLÖ22 (7. gün; $4,54 \pm 0,04$ log kob/ml) örneklerinde, fermantasyondan sonra gerçekleştirilen inokülasyonlarda ise en yüksek bakteri sayısı TS22 (7. gün; $5,46 \pm 0,02$ log kob/ml) örneklerinde görülmüştür.

Farklı parametreler kullanılarak (starter kültür, mikrobiyal polisakkarit ilavesi ve fermantasyon sıcaklığı) üretilen kefir örneklerine 8 kişiden oluşan eğitilmiş panelistlerce yapılan duyusal analizler sonucunda kefir taneleri kullanılarak, herhangi bir mikrobiyal polisakkarit ilave edilmeden ve 30°C fermantasyon sıcaklığında üretilen örneklerin en yüksek beğeni oranına sahip olduğu tespit edilmiştir.

Süt ve süt ürünleri içerisinde dünya genelinde oldukça yüksek bir tüketim oranına ve insan sağlığı üzerinde çok önemli bir role sahip olan kefirin, farklı parametreler kullanılarak üretildiği bu çalışmada her ne kadar yüksek asitlik ve düşük pH değerlerine sahip olsa da bozulmaya neden olan ve patojen bulaşmalarına karşı oldukça riskli bir gıda grubu içerisinde yer aldığı tespit edilmiştir (Cetinkaya and Mus, 2012). Üretilen örnekler fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik olarak fermente süt ürünleri tebliğinde belirtilen limitlere uygun olmalarına rağmen, fermantasyondan önce veya sonra meydana gelebilecek kontaminasyonlarda bozulmaya neden olan ve patojen mikroorganizmaların fermantasyon ve depolama süreci boyunca canlılıklarını korudukları açıkça görülmüştür. Özellikle fermantasyon öncesinde meydana gelebilecek kontaminasyonların, gıda güvenliği ve tüketici sağlığı açısından daha büyük bir risk teşkil ettiği yapılan analizlerle de belirlenmiştir.

Kefir taneleri ve liyofilize kefir kültürü kullanılarak üretilen örneklerle %1 (w/v) oranında mikrobiyal levan ve pullulan ilavesiyle, örneklerin maya ve laktik asit bakterileri (*Lactobacillus* spp. ve *Streptococcus* spp.) sayılarının arttığı yapılan analizlerle belirlenmiştir. Bu bağlamda, kefir üretiminde mikrobiyal polisakkarit ilavesinin fermantasyonda görevli mikroorganizmalar tarafından prebiyotik olarak kullanılabileceği çıkarımı yapılabilmektedir. Öte yandan, örneklerle inoküle edilen bazı Gr(+) ve Gr(-) bakteri sayılarının da mikrobiyal polisakkarit ilavesiyle arttığı tespit edilmiştir. Bu durum da ortama ilave edilen mikrobiyal polisakkaritlerin yalnızca maya ve laktik asit bakterilerinin değil bozulmaya neden olan veya patojen mikroorganizmaların da gelişimlerini stimule edebileceğini göstermiştir.

Özellikle endüstriyel ölçekli üretimlerde, kefirin sağlıklı ve güvenli bir şekilde tüketiciye ulaşması için; üretim aşamasında kaliteli hammadde seçimi ve aseptik çalışma şartlarına uyulması, dağıtım aşamasında ise soğuk zincirin kırılmaması için gerekli tedbirler alınmalıdır. Ayrıca tüketici sağlığının korunabilmesi için; işletmelerin asgari hijyen kurallarına uymalarının yanı sıra HACCP (Tehlike Analizleri ve Kritik Kontrol Noktaları), GMP (İyi Üretim Uygulamaları) ve GHP (İyi Hijyen Uygulamaları) sistemlerini tam olarak uygulamaları gerekmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abatemarco Júnior M., Sandes, S. H. C., Ricci, M. F., Arantes, R. M. E., Nunes, A. C., Nicoli, J. R. and Neumann, E.,** 2018, Protective effect of *Lactobacillus diolivorans* 1Z, isolated from Brazilian Kefir, against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in experimental murine models, *Front. Microbiol.*, 9, 2856p.
- Abdelhamid, A. H., Nouran, A. E., Magdy, A. A., Amal, E. A., Nahla, M. M., Ghada, E. A. A., Abdel Razik, H. F. and Mona, A. E.,** 2018, In vivo assessment of possible probiotic properties of *Bacillus subtilis* and prebiotic properties of levan, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 13, 190-197.
- Ahmed, Z., Wang, Y. P., Ahmad, A., Khan, S. T., Nisa, M., Ahmad, H. and Afreen, A.,** 2013, Kefir and health: A contemporary perspective, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53, 422-434.
- Aksu, F. Y., Muratoğlu, K., Altunatmaz, S. S., Bala, D. A., Arun, Ö. Ö.,** 2016, Evaluation of survival of *Salmonella* Typhimurium in homemade kefir, *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 22(5): 723-727.
- Altug, T. ve Elmaci, Y.,** 2005, Gıdalarda Duyusal Değerlendirme, Sidas, İzmir, 105s.
- Andrews, W. H., Wang, H., Jacobson, A. and Hammack, T.,** 2007, BAM Chapter 5: Salmonella, Bacteriological Analytical Manual Chapter 5 *Salmonella* <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam-chapter-5-salmonella> (Erişim tarihi: 5 Temmuz 2018).
- Angulo, L., Lopez, E. and Lema, C.,** 1993, Microflora present in kefir grains of the Galician region (North-West of Spain), *Journal of Dairy Research*, 60(02), 263.
- Anon,** 2009, Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği, Sayı: 27143, Tebliğ No: 2009/25 (Erişim tarihi: 7 Eylül 2019).

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Anon, 2018, Chr Hansen, Exact® Kefir1 Product Information, Version 2.

Arvidson, S.A., Rinehart, B.T. and Gadala-Maria, F., 2006, Concentration regimes of levan polysaccharide from *Bacillus* sp., *Carbohydrate Polymers*, 65:144-149.

Bekers, M., Laukevics, J., Upite, D., Kaminska, E., Vigants, A., Viesturs, A., Pankova, L. and Danilevich, A., 2002, Fructooligosaccharide and levan producing activity of *Zymomonas mobilis* extracellular levansucrase, *Process Biochemistry*, 38:701-706.

Bello, F. D., Walter, J., Hertel, C. and Hammes, W. P., 2001, In vitro study of prebiotic properties of levan-type exopolysaccharides from *Lactobacilli* and non-digestible carbohydrates using denaturing gradient gel electrophoresis, *Systematic and Applied Microbiology*, 24, 232-237.

Bennett, R. W. and Lancette, G. A., 2001, *Staphylococcus aureus*, Chapter 12, rev. Jan. 2001, In: FDA. Bacteriological analytical manual, 8th ed., Rev. A, AOAC International, Gaithersburg, MD.

Bengoa, A. A., Llamas, M. G., Iraporda, C., Duenas, M. T., Abraham, A. G. and Garrote, G. L., 2018, Impact of growth temperature on exopolysaccharide production and probiotic properties of *Lactobacillus paracasei* strains isolated from kefir grains, *Food Microbiology*, 69, 212-218.

Bensmira, M., Nsabimana, C. and Jiang, B., 2010, Effects of fermentation conditions and homogenization pressure on the rheological properties of Kefir, *Food Science and Technology*, 43, 1180-1184.

Caggianiello, G., Kleerebezem, M. and Spano, G., 2016, Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 100, 3877-3886. DOI 10.1007/s00253-016-7471-2

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Cetinkaya, F. and Mus, T. E.,** 2012, Determination of microbiological and chemical characteristics of kefir consumed in Bursa, *Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 59, 217-221.
- Chang, H.-S., Kim, D.-H., Jeong, D., Kang, II-B., Kim, H.-S., Kim, H., Song, K.-Y. and Seo, K.-H.,** 2018, Fates of *Salmonella* Enteritidis and *Cronobacter sakazakii* in various multiple-strain yogurts and kefir during cold storage, *J. Food. Saf.*, 38:e12429. <https://doi.org/10.1111/jfs.12429>.
- Chen, C., Chan, H. M. and Kubaw, S.,** 2007, Kefir extracts suppress *in vitro* proliferation of estrogen-dependent human breast cancer cells but not normal mammary epithelial cells, *Journal of Medicinal Food*, 10 (3), 416-422.
- Chen, H., Wang, S. and Chen, M.,** 2008, Microbiological study of lactic acid bacteria in kefir grains by culture-dependent and culture-independent methods, *Food Microbiology*, 25, 492-501.
- Chen, Z., Shi, J., Yang, X., Nan, B., Liu, Y. and Wang, Z.,** 2015, Chemical and physical characteristics and antioxidant activities of the exopolysaccharide produced by Tibetan kefir grains during milk fermentation, *International Dairy Journal*, 43, 15–21. doi:10.1016/j.idairyj.2014.10.004.
- Cheng, K. C., Demirci, A. and Catchmark, J. M.,** 2011, Pullulan: biosynthesis, production, and applications, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 92, 29–44.
- Chifiriuc, M. C., Cioaca, A. B. and Lazar, V.,** 2011, In vitro assay of the antimicrobial activity of kephir against bacterial and fungal strains, *Anaerobe*, 17, 433-435.
- Collar, C.,** 1996, Biochemical and technological assessment of the metabolism of pure and mixed cultures of yeast and lactic acid bacteria in breadmaking application's, *Food Science and Technology International*, 2: 349-367.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Coşansu, S.**, 2018, Survival kinetics of heat-stressed *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* cells as post-fermentation cotaminants in kefir during refrigerated storage, *LWT-Food Science and Technology*, 98, 635-641.
- Çağlar, A. ve Çağlar, M. Y.**, 2013, Süt ve Süt Ürünleri, Uluslararası 2. Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi, Kasım 2013, Konya, Türkiye.
- Delgado-Fernández, P., Corzo, N., Lizasoain, S., Olano, A. and Moreno, F.J.**, 2019, Fermentative properties of starter culture during manufacture of kefir with new prebiotics derived from lactulose, *International Dairy Journal*, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.01.014>.
- Dertli, E. and Çon, A. H.**, 2017, Microbial diversity of traditional kefir grains and thier role on kefir aroma, *LWT-Food Science and Technology*, 85, 151-157.
- Dias, P. A., da Silva, D. T., Tejada, T. S., Leal, M. C. G. M., da Conceição, R. D. C. D. S. and Timm, C. D.**, 2012, Survival of pathogenic microorganisms in kefir, *Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.)*, vol. 71 no.1, Sao Paulo.
- Dinç, A.**, 2008, Kefirin Bazı Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 59s.
- El-Hayek, S. E.**, 2011, Kefir inhibits proliferation and induces apoptosis of epithelial colorectal adenocarcinoma cells, Master Thesis, Lebanese American University, Lebanon, 57 p.
- Ender, G.**, 2009, Oligofruktozla zenginleştirilmiş süttten üretilen kefirlerin kalitesi üzerine tane ve kültür kullanımının etkileri, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 236 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Erdoğan, F. S., Ozarslan, S., Güzel-Seydim, Z. B. and Taş, T. K.,** 2019, The effect of kefir produced from natural kefir grains on the intestinal microbial populations and antioxidant capacities of Balb/c mice, *Food Research International*, 115, 408 – 413.
- Farnworth, E. R.,** 2005, Kefir – a complex probiotic, *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods*, 2 (1): 1-17.
- Feng, P., Weagant, S. D., Grant, M. A. and Burkhardt, W.,** 2002, BAM 4: Enumeration of *Escherichia coli* and Coliform Bacteria, <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria> (Erişim tarihi: 5 Temmuz 2018).
- Flasarova, R., Pachlova, V., Bunkova, L., Mensikova, A., Georgova, N., Drab, V. and Bunka, F.,** 2016, Biogenic amine production by *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* strains in the model system of Dutch-type cheese, *Food Chemistry*, 194, 68-75.
- Fontan, M. C. G., Martinez, S., Franco, I. and Carballo, J.,** 2006, Microbiological and chemical changes during the manufacture of kefir made from cow's milk, using a commercial starter culture, *Int. Dairy J.*, 16, 762-767.
- Frengova, G. I., Simova, E. D., Beshkova, D. M. and Simov, Z. I.,** 2002, Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria of kefir grains, *Z. Naturforsch.*, 57c, 805-810.
- Gao, J., Gu, F., Abdella, N.H., Ruan, H. and He, G.,** 2012, Investigation on culturable microflora in Tibetan kefir grains from different areas of China, *J. Food Sci.*, 77, 425–433.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Garofalo, C., Osimani, A., Milanovic, V., Aquilanti, L., De Filippis, F., Stellato, G., Di Mauro, S., Turchetti, B., Buzzini, P., Ercolini, D. and Clementi, F.,** 2015, Bacteria and yeast microbiota in milk kefir grains from different Italian regions, *Food Microbiology*, doi: 10.1016/j.fm.2015.01.017.
- Garrote, G. L., Abraham, A. G. and De Antoni, G. L.,** 2000, Inhibitory power of kefir: The role of organic acids, *Journal of Food Protection*, 63(3), 364–369. doi:10.4315/0362-028x-63.3.364
- Giavasis, I and Biliaderis, C.,** 2006, Microbial polysaccharides, *Functional Food Carbohydrates*, CRC Press, New York, 167–214.
- Giavasis, I., Harvey, L. M. and Mcneil, B.,** 2000, Gellan gum, *Crit. Rev. Biotechnology*, 20, 177–211.
- Ghaly, A. E., Arab, F., Mahmoud, N. S. and Higgins, J.,** 2007, Production of levan by *Bacillus licheniformis* for use as a soil sealant in earthen manure storage structures, *American Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 3(2):47-54.
- Golowczyc, M. A., Mobili, P., Garrote, G. L., Abraham, A. G. and De Antoni, G. L.,** 2007, Protective action of *Lactobacillus kefir* carrying S-layer protein against *Salmonella enterica* serovar Enteritidis, *International Journal of Food Microbiology*, 118, 264 – 273.
- Golowczyc, M. A., Silva, J., Abraham, A. G., De Antoni, G. L. and Teixeira, P.,** 2010, Preservation of probiotic strains isolated from kefir by spray drying, *Letters in Applied Microbiology*, 50, 7-12.
- Gronnevik H, Falstad M and Narvhus J A.,** 2011, Microbiological and chemical properties of Norwegian kefir during storage, *International Dairy Journal*, 21, 601–606.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gulmez, M. and Guven, A.,** 2003a, Note: Behaviour of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* 4b, *Yersinia enterocolitica* O3 in pasteurised and non-pasteurised kefir fermented for one or two days, *Food Sci. Tech. Int.*, 9(5) : 0365-5.
- Gulmez, M. and Guven, A.,** 2003b, Survival of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* 4b and *Yersinia enterocolitica* O3 in ayran and modified kefir as pre- and postfermentation contaminant, *Vet. Med. – Czech*, 48, 2003 (5):126-132.
- Guzel-Seydim, Z. B., Wyffels, J. T., Seydim, A. C. and Greene, A. K.,** 2005, Turkish kefir and kefir grains: microbial enumeration and electron microscobic observation, *International Journal of Dairy Technology*, 58 (1): 25-29.
- Guzel-Seydim, Z. B., Kok-Tas, T., Greene, A. K. and Seydim, A. C.,** 2011, Review: Functional properties of kefir, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51:3, 261-268.
- Halle, C., Leroi, F., Dousset, X., Pidoux, M.,** 1994, Les kefirs: des associations bacteries lactiques-levures. In: Otles, S., Cagindi, Ö., 2003, Kefir: A probiotic dairy composition, nutritional and therapeutic aspects, *Pakistan Journal of Nutrition*, 2(2): 54-59.
- Han, Y.,** 1990, Microbial levan, *Adv. Appl. Microbiol.*, 35:171-194.
- Hertzler, S. R., Clancy, S. M.,** 2003, Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion, *J. Am. Diet Assoc.*, 103 (5), 582-587.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hitchins, A. D., Jinneman, K. and Chen, Y.,** 2017, BAM: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*, Bacteriological Analytical Manual Chapter 10 Detection of *Listeria monocytogenes* in Foods and Environmental Samples, and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods, <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-detection-and-enumeration-listeria-monocytogenes> (Erişim tarihi: 5 Temmuz 2018).
- Huseini, H. F, Rahimzadeh, G., Fazeli, M. R., Mehrazma, M. and Salehi, M.,** 2012, Evaluation of wound healing activities of kefir products, *Burns*, 38, 719-723.
- Irigoyen, A., Arana, I., Castiella, M., Torre, P. and Ibanez, F. C.,** 2005, Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage, *Food Chemistry*, 90, 613–620.
- Jang, K., Soon, A. K., Yunhi, C., Yun-Young, K., Yun-Jung, L., Kyunghee, H., Kyung-Hwa, S., So, H. K., Chul-Ho, K., Sang-Ki, R., Sang-Do, H. and Ryowon, C.,** 2003, Prebiotic properties of levan in rats, *J. Microbiol. Biotechnol.*, 13(3), 348-353.
- Kandylis, P., Pissaridi, K., Bekatorou, A., Kanellaki, M. and Koutinas, A., A.,** 2016, Dairy and non-dairy probiotic beverages, *Food Science*, 7:58-63.
- Kaptan, N., Gürsel, A. ve Gürsoy, A.,** 1990, İnkübasyon sıcaklığının kefirin bazı nitelikleri üzerine etkisi, *Gıda*, 15 (5), 291-298.
- Karagözlü, C. ve Kavas, G.,** 2000, Alkollü fermente süt içecekleri: Kefir ve kımızın özellikleri ve insan beslenmesindeki önemi, *Gıda*, 6 (7): 86-93.
- Karagözlü, N., Karagözlü C. and Ergönül B.,** 2007, Survival characteristics of *E. coli* O157:H7, *S. typhimurium* and *S. aureus* during kefir fermentation, *Czech J. Food Sci.*, 25: 202–207.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kart, M. Ç. Ö. ve Demircan, V.,** 2014. Dünyada ve Türkiye’de süt ve süt ürünleri üretimi, tüketimi ve ticaretindeki gelişmeler, *Akademik Gıda* 12(1) 78-96.
- Kim, D.-H., Jeong, D., Kim, H., Kang, H.-B., Chon, J.-W., Song, K.-Y. and Seo, K.-H.,** 2016, Antimicrobial activity of kefir against various food pathogens and spoilage bacteria, *Korean J. Food Sci. An.*, Vol. 36, No. 6, pp. 787-790.
- Kim, D.-H., Jeong, D., Song, K.-Y. and Seo, K.-H.,** 2018, Comparison of traditional and backslipping methods for kefir fermentation based on physicochemical and microbiological characteristics, *LWT-Food Science and Technology*, 97, 503-507.
- Koroleva, N. S.,** 1988, Starters for fermented milks, *Bulletin of the International Dairy Federation*, 227: 35-40.
- Koroleva, N. S.,** 1988b, Technology of kefir and kumys, *IDF Bulletin.*, 227: 96-100.
- Kowalik, J., Lobacz, A., Zulewska, J. and Dec, B.,** 2018, Analysis and mathematical modelling of the behaviour of *Escherichia coli* in the mascarpone cheese during cold storage., *International Journal of Food Science & Technology*, 53(6), 1541–1548. doi:10.1111/ijfs.13736
- Kök-Taş, T., Seydim, A. C., Ozer, B. and Guzel-Seydim, Z.B.,** 2013, Effects of different fermentation parameters on quality characteristics of kefir, *Journal of Dairy Science*, 96 (2): 780-789.
- Kurmann, I. A., Rasic, J. L. and Kroger, M.,** 1992, Encyclopedia of fermented fresh milk products, *AVI Books Van Nostrand Reinhold*, 368 p., New York, USA.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kwon, C. S., Park, M. Y., Cho, J. S., Choi, S. T. and Chang, D. S.,** 2003, Identification of effective microorganisms from kefir fermented milk, *Food Sci. Biotech.*, 12, 476-479.
- La Riviere, J. W.,** 1969, Ecology of yeasts in kefir grain, *Antonie Van Leeuwenhock*, 35 (suppl.) D15-D16.
- Lee, K. Y. and Yoo, Y. J.,** 1993, Optimization of pH for high molecular weight pullulan, *Biotechnol. Lett.*, 15:1021–1024.
- Leite, A. M. O., Leite, D. C. A., Del Aguila, E. M., Alvares, T. S., Peixoto, R. S., Miguel, M. A. L., Silva, J. T. and Paschoalin, V. M. F.,** 2013, Microbiological and chemical characteristics of Brazilian kefir during fermentation and storage processes, *Journal of Dairy Science*, 96 (7), 4149-4159.
- Libudzisz, Z. and Piatkiewicz, A.,** 1990, Kefir production in Poland, *Dairy Industry. International*, 55: 31-33.
- Lim, J., Kale, M., Kim, D.-H., Kim, H. S., Chon, J. W., Seo, K.-H., Lee, H. G., Yokoyama, W., and Kim, H.,** 2017, Antiobesity effect of exopolysaccharides isolated from kefir grains, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(46), 10011–10019. doi:10.1021/acs.jafc.7b03764.
- Lopitz-Otsoa, F., Rementeria, A., Elziguezabal, N. and Garaizar, J.,** 2006, Kefir: a symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities, *Revista Iberoamericana de Micología*, 23, 67-74.
- Manandhar, S., Vidhate, S. and D’Souza, N,** 2009, Water soluble levan polysaccharide biopolymer electrospun fibers, *Carbohydrate Polymers*, 78, 794-798.
- Marshall, V. M., Cole, W. M. and Broker, B. E.,** 1984, Observations on the structure of kefir grains and the microflora, *J. App. Bact.*, 57, 491-497.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Marshall, V. M. and Cole, W. M.,** 1985, Methods for making kefir and fermented milks based on kefir, *J. Dairy Res.*, 52: 451-456.
- Mishra, B., Zamare, D. and Manikanta, A.,** 2017, Selection and utilization of agro-industrial waste for biosynthesis and hyper-production of pullulan: A review, *Energy, Environment, and Sustainability*, 89–103.
- Molska, I., Moniuszko, I., Komorowska, M., and Merilainen, V.,** 1983, Characteristics of bacilli of *Lactobacillus casei* species appearing in kefir grains, *Acta Aliment. Polon.*, vol. IX (XXXIII), No: 1-4, 79-88.
- Montanuci, F. D., Pimentel, T. C., Garcia, S. and Prudencio, S. H.,** 2012, Effect of starter culture and inulin addition on microbial viability, texture, and chemical characteristics of whole or skim milk kefir, *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 32 (4): 850-861.
- Okada, K., Yoneyama, M., Mandai, T., Aga, H., Sakai, S. and Ichikawa, T.,** 1990, Digestion and fermentation of pullulan, *J. Japn. Soc. Nutr. Food. Sci.*, 43, 23–9.
- Otles, S. and Cagindi, O.,** 2003, Kefir: a probiotic dairy composition, nutritional and therapeutic aspects, *Pakistan Journal of Nutrition*, 2 (2): 54-59.
- Otsoa, F. L., Rementeria, A., Elguezabal, N. and Garaizar, J.,** 2006, Kefir: A Symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities, *Rev. Iberoam. Micol.*, 23: 67-74.
- Prado, M. R. M., Blandon, L. M., Vandenberghe, L. P. S., Rodrigues, C., Castro, G. R., Thomaz-Soccol, V. and Soccol, C.R.,** 2015a, Milk kefir: composition, microbial cultures, biological activities, and related products, *Frontiers in Microbiology*, 6:1177.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Prado, F. C., De Dea Linder, J., Inaba, J., Thomaz-Soccol, V., Brar, S. K. and Soccol, C.R.,** 2015b, Development and evaluation of a fermented coconut water beverage with potential health benefits, *J. Funcional Foods*, 12, 489e497.
- Purwandari, U., Shah, N. P. and Vasiljevic, T.,** 2007, Effects of exopolysaccharide-producing strains of *Streptococcus thermophilus* on technological and rheological properties of set-type yoghurt, *International Dairy Journal*, 17, 1344-1352.
- Rattray, F. P. and O'Connell, O.,** 2011, Fermented Milks Kefir, In: J.W. Fukay (Editor), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Academic Press, pp. 518-524, San Diego, USA.
- Rimada, P. S. and Abraham, A. G.,** 2003, Comparative study of different methodologies to determinethe exopolysaccharide produced by kefir grains in milk and whey, *Lait* 83, 79-87. DOI: 10.1051/lait:2002051.
- Rodrigues, K. L., Caputo, L. R. G., Carvalho, J. C., Evangelista, J. and Schneedorf, J. M.,** 2005, Antimicrobial and healing activity of kefir and kefiran extract, *Int. J. Antimicrob. Agents.*, 25, 404-408.
- Sabir, F., Beyatli, Y. and Cokmus, C.,** 2010, Assessment of potential probiotic properties of *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., and *Pediococcus* spp. strains isolated from kefir, *J. Food Sci.*, 75, M568–M573.
- Sezen, F. ve Koçak, C.,** 2006, Fonksiyonel Süt Ürünleri Teknolojisindeki Gelişmeler, Türkiye 9. Gıda Kongresi, Mayıs 2008, Bolu.
- Seviour, R. J., Stasinopoulos, S. J., Auer, D. P. F. and Gibbs, P. A.,** 1992, Production of pullulan and other exopolysaccharides by filamentous fungi, *Critical Reviews in Biotechnology*, 12 (3): 27 9-298

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Singh, R. S., Gaganpreet, K. S. and Kennedy, J.,** 2008, Pullulan: Microbial sources, production and applications, *Carbohydr. Polym.*, 73, 515–31.
- SPSS,** 2004, Statistical Package, SPSS for Windows, Ver. 13.0, Chicago.
- Sturzoiu, C., Manea, V., Dinischiotu, A., Drainas, C. and Stoian, G.,** 2012, A sucrose-hypertolerant mutant *Zymomonas mobilis* is a high levan producer, *Romanian Biotechnological Letters*, 17(3):7317-7323.
- Subramanian, A. and Rodriguez-Saona, L.,** 2010, Chemical and instrumental approaches to cheese and instrumental approaches to cheese analysis, *Advances in Food and Nutrition Research*, 59:167-213pp.
- Sutherland, I. W.,** 1998, Novel and established applications of microbial polysaccharides, *Trends Biotechnol*, 16, 41–6.
- Şahinöz, S. ve Özdemir, M.,** 2017, Üniversite öğrencilerinin süt ve süt ürünleri tüketim alışkanlıkları ve etkileyen faktörler, *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 6(4), 106-112.
- Tas, T. K., Ekinci, F. Y. and Guzel-Seydim, Z. B.,** 2012, Identification of microbial flora in kefir grains produced in Turkey using PCR, *Int. J. Dairy Technol.*, 65, 126–131.
- Tallent, S., Hait, J., Bennet, R. W. and Lancette, G. A.,** 2001, BAM: *Staphylococcus aureus*, Bacteriological Analytical Manual Chapter 12 *Staphylococcus aureus*, <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-staphylococcus-aureus>. (Erişim tarihi: 5 Temmuz 2018).
- Thoreux, K. and Schmucker, D. L.,** 2001, Kefir milk enhances intestinal immunity in young and but not old rats, *Nutrition and Aging*, 131, 807-812.
- Tiwari, S., Patil, R., Dubey, S. K. and Bahadur, P.,** 2019, Derivatization approaches and applications of pullulan, *Advances in Colloid and Interface Science*, 269, 296-308.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Tomar, O., Çağlar, A. ve Akarca, G.,** 2017, Kefir ve Sağlık Açısından Önemi, *AKÜ FEMÜBİD*, 17, 027202 (834-853). doi: 10.5578/fmbd.57533
- Tournas, V., Stack, M. E., Mislivec, P. B., Koch, H. A., and Bandler, R.,** 2001, Yeasts, molds and mycotoxins. In: FDA (ed) Bacteriological Analytical Manual. Chapter 18. [Online] Silver Spring, Food and Drug Administration.
- Tratnik L, Bozanic R, Herceg Z and Drglic I,** 2006, The quality of plain and supplemented kefir from goat's and cow's milk, *International Journal of Dairy Technology*, 59, 40–46.
- Ueda, S., Fujita, K., Komatsu, K. and Nakashima, Z.,** 1963, Polysaccharide produced by the genus *Pullularia*. I. Production of polysaccharide by growing cells, *Appl. Microbiol.*, 11:211–215
- Vedamutlu, E. R.,** 1977, Exotic fermented dairy foods, *J. Food Prot.*, 40:801-802.
- Witthuhn, R. C., Schoeman, T. and Britz, T. J.,** 2005, Characterisation of the microbial population at different stages of kefir production and kefir grain mass cultivation, *Int. Dairy J.*, 15, 383–389.
- Yıldız, F.,** 2009, Farklı yağ oranlarının ve farklı starter kültürlerin kefirin nitelikleri üzerine etkisi, Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 200 s.
- Yilmaz, L., Yilsay, T. O. and Bayazit, A. A.,** 2006, The sensory characteristics of berry-flavoured kefir, *Czech Journal Food Science*, 24: 26-32.
- Yokoi, H., Watanabe, T., and Fujii, Y.,** 1990, Isolation and characterization of polysaccharide-producing bacteria from kefir grains, *J. Dairy Sci.*, 73:1684-1689.
- Yuksekdag, Z., Beyatli, Y. and Aslim, B.,** 2004, Determination of some characteristics coccoid forms of lactic acid bacteria isolated from Turkish kefirs with natural probiotic, *J. Food Sci. Technol.*, 37, 663–667.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Zourari, A., Anifantakis, E. M.,** 1988, Le kefir: Caracteres physicochimiques, microbiologiques et nutritionnels. In: Fontan, M. C. G., Martinez, S., Franco, I. and Carballo, J., 2006, Microbiological and chemical changes during the manufacture of kefir made from cow's milk, using a commercial starter culture, Int. Dairy J., 16, 762-767.



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen ve vermiş olduğu manevi desteklerden dolayı değerli tez danışmanım sayın Prof. Dr. Duygu KIŞLA'ya teşekkürü bir borç bilirim. Warmia ve Mazury Üniversitesi'nde (Olsztyn, Polonya) yürüttüğüm tez çalışmalarım süresince desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Jaroslaw KOWALIK ve Dr. Adriana LOBACZ'a sonsuz teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimimin ilk gününden itibaren manevi olarak her zaman yanımda olan ve laboratuvar çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen Tekn. Figen BECERİK'e ve Tekn. Tülay ÜZEL'e çok teşekkür ederim. Son olarak hayatım boyunca maddi-manevi destekleriyle hep yanımda olan annem Emine GÖKMEN'e, kardeşim Onur Görkem GÖKMEN'e ve ablam Simge PEMPE'ye çok teşekkür ederim.

23 / 01 / 2020

İmzası


Adı - Soyadı

Gökhan Gurur GÖKMEN

ÖZGEÇMİŞ

Türkiye Cumhuriyeti vatandaşı olan Gökhan Gurur GÖKMEN 1991 yılında Silifke (MERSİN)'de doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise eğitimini Mersin'de tamamladı. 2009 yılında İstanbul Teknik Üniversitesi Kimya-Metalurji Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde lisans eğitimine başladı. Lisans eğitimini 2014 yılında tamamladıktan sonra, 2017 yılında Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı.