

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KEFİR DANESİNE ÖZGÜ BAZI BAKTERİLERDEN VE DANEDEN
ÜRETİLEN ÜRÜNLERİN AROMA BİLEŞENLERİNİN BELİRLENMESİ**

Fatma Ecemnur DURAN

**Danışman
Doç. Dr. Tuğba KÖK TAŞ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI
ISPARTA - 2020**

©2020 [Fatma Ecemnur DURAN]

TEZ ONAYI

Fatma Ecemnur DURAN tarafından hazırlanan **"Kefir Danesine Özgü Bazı Bakterilerden ve Daneden Üretilen Ürünlerin Aroma Bileşenlerinin Belirlenmesi"** adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman

Doç. Dr. Tuğba KÖK TAŞ
Süleyman Demirel Üniversitesi

Yehliu

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Banu ÖZDEN TUNCER
Süleyman Demirel Üniversitesi

[Signature]

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Onur GÜNEŞER
Uşak Üniversitesi



Enstitü Müdürü

Doç. Dr. Şule Sultan UĞUR

TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Fatma Ecemnur DURAN



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
2.1. Fermente Süt Ürünleri.....	4
2.2 Kefir	9
2.3.Kefir Danesi	10
2.3.1. Fizikokimyasal özelliği	10
2.3.2. Mikrobiyolojik özelliği	11
2.4.Kefir Üretimi.....	19
2.4.1.Geleneksel kefir üretimi	19
2.4.2.Endüstriyel kefir üretimi	20
2.5.Kefirde Bulunan Aroma Bileşenleri ve Uçucu Bileşikler	21
2.5.1. Aldehitler	24
2.5.2 Alkoller	24
2.5.3. Esterler	25
2.5.4. Ketonlar	26
2.6.Kefirde Bulunan Aroma Bileşenlerinin Oluşumu	27
2.6.1. Laktoz ve sitrat metabolizması.....	28
2.6.2 Aminoasit katabolizması	31
2.6.3. Lipitlerin parçalanması	33
3. MATERYAL VE YÖNTEM	36
3.1. Materyal.....	36
3.2. Yöntem.....	37
3.2.1. Standart suşlardan ürünlerin üretimi	37
3.2.1.1. Standart suşların aktifleştirilmesi.....	37
3.2.1.2. Ürünlerin elde edilmesi	38
3.2.2. Farklı kültürlerden kefirlerin üretimi	38
3.2.3. Mikrobiyolojik analizler.....	39

3.2.4. Kimyasal analizler.....	40
3.2.4.1. pH tayini.....	40
3.2.4.2. Asitlik tayini	40
3.2.4.3. Toplam kuru madde tayini.....	40
3.2.5. Fermente süt ürünlerinin reolojik özelliklerinin llmesi	41
3.2.6. Organik asit tayini.....	41
3.2.7. Şeker analizi.....	44
3.2.8. Aroma bileşenleri analizi.....	45
3.2.9. Fermente ürünlere uygulanan duysal analizler	46
3.2.10. İstatiksel değerlendirme	47
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	48
4.1. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	48
4.2. Kimyasal Analiz Sonuçları	48
4.3. Reoloji Analizi Sonuçları.....	50
4.4. Organik Asit Sonuçları.....	53
4.5. Şeker Analizi Sonuçları	55
4.6. Aroma Analizi Sonuçları	57
4.7. rnlerin Duysal Analiz Sonuçları.....	63
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	69
KAYNAKLAR.....	71
EKLER.....	89
EK 1. Duysal analiz formu.....	89
EK 2. LKF, LP, LK, LA, LB, LC ve LH rnlerinin aroma bileşenleri sonuçları ve standart sapması.....	92
EK 3. BB, ST, KM, SK, DK ve süt ürünlerinin aroma bileşenleri sonuçları ve standart sapması.....	95
EK 4. rnlerin kayma gerilmesi/ kayma hızı ve görünür viskozite / kayma hızı reogramları.....	98
ÖZGEÇMİŞ.....	103

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KEFİR DANESİNE ÖZGÜ BAZI BAKTERİLERDEN VE DANEDEN ÜRETİLEN ÜRÜNLERİN AROMA BİLEŞENLERİNİN BELİRLENMESİ

Fatma Ecemnur DURAN

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Tuğba KÖK TAŞ

Kefir, kefir danesi kullanılarak uygun sıcaklıkta sütün fermente edilmesiyle oluşan fermente süt ürünüdür. Kefir danesi içinde simbiyotik ve dengeli bir yaşam sürdüren bakteri ve mayalar farklı fermentasyonlar ile sütte bulunan tüm bileşenleri metabolize ederler ve kefir ürününü oluştururlar. Oluşan organik asitler, metabolize olan şeker, aminoasit kompozisyonları ve aroma bileşenleri farklılıkları ile kefirin organoleptik özelliklerine katkı sağlar.

Araştırmamızın amacı; kefir danesinde bulunan *Lactobacillus kefiranofaciens* (LKF), *Lactobacillus parakefiri* (LP), *Lactobacillus kefiri* (LK), *Lactobacillus acidophilus* (LA), *Lactobacillus bulgaricus* (LB), *Lactobacillus casei* (LC), *Lactobacillus helveticus* (LH), *Bifidobacterium bifidum* (BB), *Streptococcus thermophilus* (ST), *Kluyveromyces marxianus* (KM) standart suşları ve kefir danesi (DK), kefir starter kültürü (SK) süt ortamında geliştirerek, özellikle aroma bileşenlerini karşılaştırmaktır. Ayrıca tüm örneklerin belli bir pH'da fermentasyon sürelerini ve mikrobiyolojik içeriklerini takip ederek; kimyasal analizler (pH, titrasyon asitliği, kuru madde), Brookfield viskozimetre ile reolojik özellikler (viskozite, kayma gerilmesi), Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) cihazı ile organik asitler (laktik asit, asetik asit, sitrik asit ve formik asit), şeker kompozisyonları (glukoz, laktoz ve galaktoz) ve Gaz Kromatografisi-Kütle spektroskopisiyle (GC-MS) aroma bileşenleri ve miktarlarının belirlenmesi ve tanımlayıcı analizle duyu değerlendirmesi yapılmıştır. Bu mikroorganizmaların kefir danesinden üretilen kefire sağladığı organoleptik özelliklere katkısı yorumlanmıştır.

Ürünlerin mikrobiyolojik içerik aralığı 8-9 log kob/mL korunarak ve pH 4.7'de fermentasyon sonlandırılmıştır. Kuru madde içeriği değişmemiş, laktik asitte farklılıklar belirlenmiştir. Tüm ürünlerimiz newtoniyen olmayan pseudoplastik akışkan davranış ve tiksotropi akış tipi göstermiştir. Laktik asit içeriği en yüksek 0.801 ± 0.028 g/100mL ile LKF örneğinde, en düşük 0.574 ± 0.044 g/100mL ile ST örneğinde bulunmuştur. Asetik asit, sitrik asit ve formik asit değerleri sırasıyla 0.425-0.728 g/100mL, 0.046-0.176 g/100mL, 0.116-0.164 g/100mL arasında değişmektedir. Tüm ürünlerde laktoz ve glukoz şeker miktarları değişmekte

ancak istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. Kefir danesi kullanılarak kefirin galaktoz miktarı 0.106 ± 0.004 g/100mL olarak belirlenirken en düşük galaktoz içeriğinin LC örneğine, en yüksek galaktoz içeriğinin ise LB örneğine ait olduğu gözlemlenmiştir. BB örneği 191.49 µg/L ile en yüksek alkol içeriğine sahiptir, sıralamayı 46.56µg/L ile LKF örneği takip etmektedir. Aldehit grubu içerisinde en fazla 2-methylbutanal miktarı LKF örneğinde 10.86 µg/L olarak tespit edilmiştir. 2-bütanon, asetoin miktarı en yüksek daneden üretilen kefirde belirlenirken LKF ve LP örneğinde bulunmadığı gözlemlenmiştir. Hekzanoik asit en yüksek LKF ve LH örneklerinde, en düşük BB örneğinde tespit edilmiştir. Kefirde bulunmayan etil bütirat asetik asit etil ester, en yüksek BB ve KM örneklerinde belirlenmiştir. Starter kültür ile üretilen kefirde terpenler bulunmazken daneden üretilen kefirde 2.50 µg/L olarak bulunmuştur. Toplam uçucu bileşen miktarının en fazla BB örneğinde, en az LA örneğinde bulunduğu gözlemlenmiştir. Duyusal analiz sonucunda en yüksek beğeniyi daneden üretilen kefir almıştır. Tek suşlu mikroorganizmalardan üretilen ürünler arasında en yüksek beğeni LA örneğine aittir. En az beğenilen ürün ise LB olmuştur.

Sonuç olarak kefire özgü mikroorganizmalardan elde edilen ürünlerdeki bileşenlerin farklı miktarlarda olduğu gözlemlenmiş ve kefir aromasını etkilediği bu çalışma ile desteklenmiştir. Standart (tek suş) mikroorganizmalardan üretilen ürünler ile kefirler arasındaki aroma farklılıkları, mikroorganizmaların sinerjik etkilerinden kaynaklandığını düşündürmektedir. Kefir danesine özgü mikroorganizmaların ayrı ayrı bileşenlerinin hesaplanması ve kefir danesi kullanılarak üretilen kefir ile karşılaştırılarak yorumlanması literatüre katkı sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Kefir danesi, fermente süt ürünü, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus parakefiri*, *Lactobacillus kefiri*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus helveticus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus thermophilus*, *Kluyveromyces marxianus*, aroma, organik asitler, şeker kompozisyonu, duyusal, reoloji.

2020, 103 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

DETERMINATION OF AROMA COMPONENTS IN PRODUCTS OBTAINED FROM SOME UNIQUE BACTERIA OF ISOLATED KEFIR GRAIN AND KEFIR GRAIN

Fatma Ecemnur DURAN

Süleyman Demirel University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Tuğba KÖK TAŞ

Kefir is a fermented dairy beverage produced by fermentation of milk with kefir grains at optimal temperature. Kefir grains contain a microbial symbiotic mixture of bacteria and yeasts that metabolize the components of milk by different fermentation methods and produce kefir. The organic acids, metabolized sugar, amino acids and aroma forming compounds improve kefir's organoleptic properties.

The aim of this study is to grow strains of *Lactobacillus kefirianofaciens* (LKF), *Lactobacillus parakefiri* (LP), *Lactobacillus kefiri* (LK), *Lactobacillus acidophilus* (LA), *Lactobacillus bulgaricus* (LB), *Lactobacillus casei* (LC), *Lactobacillus helveticus* (LH), *Bifidobacterium bifidum* (BB), *Streptococcus thermophilus* (ST), *Kluyveromyces marxianus* (KM) on different types of milk and kefir grains or starter cultures and to compare the aroma forming compounds. Moreover, by observing the duration of fermentation at a certain pH value and microbial components of the sample; chemical analyses (pH, titratable acidity and dry matter) were performed; rheological properties (viscosity, shear stress) were determined by Brookfield Viscometer; organic acids (lactic acid, acetic acid, citric acid and formic acid) and glucose composition (glucose, lactose and galactose) were analyzed by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) and Gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) was used for determination of the aroma forming compounds and their amount and descriptive sensory evaluation was performed. We analyzed the organoleptic properties of kefir produced from kefir grains of these microorganisms.

The microbiological content of the kefir was maintained at 8-9 log CFU/mL, and the fermentation was terminated when the pH value of the beverage reached 4.7. No difference was detected for the dry matter content; however, there was a difference in lactic acid. All the products were non-newtonian pseudoplastic fluids and showed thixotropic behavior. The highest lactic acid content was determined as 0.801 ± 0.028 g/100mL in the LCF sample and the lowest lactic acid content was determined as 0.574 ± 0.044 g/100mL in ST sample. The concentrations of acetic acid, citric acid and formic acid ranged between 0.425-

0.728 g/100mL, 0.046-0.176 g/100mL, 0.116-0.164 g/100mL, respectively. The lactose and glucose content of products were different; however, the difference is not statistically significant. The galactose content of kefir produced from kefir grains was determined as 0.106 ± 0.004 g/100mL. The lowest galactose content was determined as 0.106 ± 0.004 g/100mL in the LC sample and the highest galactose content was detected in the LB sample. The BB sample had the highest alcohol content with 191.49 μ g/L, and it is followed by the LFF sample with the alcohol content of 46.56 μ g/L. Among aldehydes, the maximum amount of 2-methylbutanal was detected as 10.86 μ g/L in the LKF sample. The highest amount of 3-hydroxy-2-butanone (acetoin) was detected in the kefir produced from the kefir grain, and it was detected in the LKF and the LP samples. The highest hexanoic acid content was observed in the LKF and the LH samples and the lowest content was detected in the BB sample. Ethyl butyrate, acetic acid and ethyl ester, which are not found in kefir, were detected in BB and KM samples. Kefir produced from starter culture did not contain terpenes; whereas kefir produced from kefir grains had 2.50 μ g/L of terpenes. The total amount of volatile compounds was detected as highest in the BB sample and as the lowest in the LA sample. Pursuant to the sensory analysis, kefir produced from kefir grains was liked the most. Among the products produced from single-strain microorganisms, the LA sample was the most favored one, whereas the least liked product was the LB sample.

It was observed that the components in the kefirs produced by specific microorganisms were in varying amounts, and this study showed that the components of kefir have an effect on its aroma. The aromatic differences between the products produced from single-strain microorganisms and kefir grains are considered to have stemmed from the synergistic effects of the microorganisms. The calculation of the individual components formed by the microorganisms that are specific to kefir grains separately and comparing the products with kefir produced from kefir grains can contribute to the literature.

Keywords: Kefir, kefir grain, fermented milk product, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus parakefiri*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus helveticus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus thermophilus*, *Kluyveromyces marxianus*, aroma, organic acids, reology, sugar composition, sensory

2020, 103 pages

TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında ve yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleriyle yolumu aydınlatan, güler yüzü ve pozitif enerjisi ile daima beni destekleyen, karşılaştığım her sorunda olumlu ve yapıcı tavrı ile beni çözüme kavuşturan, sabrını ve çalışma disiplini örnek aldığım değerli Danışman Hocam Doç. Dr. Tuğba KÖK TAŞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu yolda ilk adımımı atabilmem için elimden tutan sevgili hocam Prof. Dr. Zeynep Banu GÜZEL SEYDİM'e, çalışmalarımı gerçekleştirebilmem için tüm imkanlarını bana sunan kıymetli hocam Dr. Nilgün ÖZDEMİR'e, ihtiyacım olduğunda laboratuvar donanımlarını ve bilgilerini benden esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Ebru ÇUBUK DEMİRALAY'a, verilerimin istatistiksel değerlendirmesinde vaktini ve bilgilerini benimle paylaşan Yüksek Kimyager Oğuz SÖĞÜT'e, laboratuvar çalışmalarında yardımını benden esirgemeyen hocam Arş. Gör. Dr. ECE SÖĞÜT'e, duyuşsal analizlerimin gerçekleşmesinde yardımcı olan tüm panelist arkadaş ve hocalarıma teşekkür ediyorum.

Tez aşamam boyunca bilgi ve tecrübeleri ile çalışmalarına ışık tutan, her zaman desteğini hissettiğim, çekinmeden her konuda danışabildiğim, her ihtiyacım olduğunda vaktini bana ayıran, yardımlarını benden hiçbir zaman esirgemeyen kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Bilge ERTEKİN FİLİZ'e, bilgilerimi öğrenciler ile paylaşmama vesile olarak vizyonumu geliştirmemi sağlayan ve akademik kariyerimin devamı için beni teşvik eden Doç. Dr. Havva Nilgün BUDAK'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Çalışmanın yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen Danem Süt ve Süt Ürünü. Gıda Amb. Eğt. Dan. Tic. ve San. Ltd. Şti'ye ve tüm personeline teşekkürlerimi sunuyorum.

FYL-2019-7079 No'lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Çalışmam süresince maddi ve manevi desteğini benden esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Gıda Mühendisi Mihriban Ülkü ÖZTÜRK'e ve Şükrü YARAŞCI'ya teşekkür ediyorum.

Eğitimimi sürdürmem ve kendimi geliştirebilmem için destek ve imkanlarını benden esirgemeyen, her daim yanımda olan, bana inanan ve güvenen biricik annem Hanife DURAN'a ve canım babam Osman DURAN'a sonsuz sevgi ve saygılarımı sunuyor, çok teşekkür ediyorum.

Fatma Ecemnur DURAN
ISPARTA, 2020

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Geleneksel kefir üretimi.....	20
Şekil 2.2. Endüstriyel kefir üretimi.	21
Şekil 2.3. Kefirde uçucu bileşiklerin oluşmasında rol oynayan başlıca biyokimyasal yollar.....	28
Şekil 2.4. Laktoz metabolizması ve üretilen bazı lezzet (flavor) bileşikleri.....	30
Şekil 2.5. Laktokoklar ve lökonostoklarda sitrat metabolizması.....	31
Şekil 2.6. Aminoasitlerden potansiyel lezzet bileşiklerinin oluşumu.....	33
Şekil 2.7. Metil ketonların oluşum yolu	33
Şekil 3.1. Formik asit kalibrasyon grafiği.....	42
Şekil 3.2. Laktik asit kalibrasyon grafiği.....	42
Şekil 3.3. Asetik asit kalibrasyon grafiği.....	43
Şekil 3.4. Sitrik asit kalibrasyon grafiği.....	43
Şekil 3.5. Organik asit tayininde kullanılan standart karışımlarına ait kromatogram.....	43
Şekil 3.6. Glukoz kalibrasyon grafiği.....	44
Şekil 3.7. Laktoz kalibrasyon grafiği.....	45
Şekil 3.8. Galaktoz kalibrasyon grafiği	45
Şekil 4.1. Ürünlerin kayma gerilmesi-kayma hızı reogramı.....	51
Şekil 4.2. Ürünlerin görünür viskozite- kayma hızı reogramı.....	52

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Fermente süt ürünlerinin fermentasyon tipi baz alınarak sınıflandırılması	5
Çizelge2.2. Fermente süt ürünlerinde kullanılan starter kültürler	8
Çizelge 2.3. Kefir danelerinde belirlenmiş bakteri ve maya türleri.....	11
Çizelge3.1. Çalışmada kullanılan standart kültürler	36
Çizelge 4.1. Kültürlerin aktifleştirmelerinin ve ürünlerin mikroorganizma sayım sonuçları.....	48
Çizelge4.2. Ürünlerin kuru madde, pH, titrasyon asitliği ve inkübasyon süresi	49
Çizelge 4.3. Örneklerin 19 RPM’de viskozite değerleri	50
Çizelge 4.4. Ürünlerin organik asit içeriği	53
Çizelge 4.5. Ürünlerin şeker miktarı.....	54
Çizelge4.6. Ürünlerin aroma analizi sonuçları.....	58
Çizelge 4.7. Ürünlerin duyusal analiz sonuçları	67

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
BB	<i>Bifidobacterium bifidum</i> kültürü kullanılarak üretilen süt ürünü
DK	Dane kullanılarak üretilen kefir
dk	Dakika
g	Gram
GC	Gaz Kromatografisi
HPLC	Yüksek Fazlı Sıvı Kromatografi
KM	<i>Kluyveromyces marxianus</i> kültürü kullanılarak üretilen süt ürünü
Kg	Kilogram
kob	Koloni oluşturan birim
L	Litre
LA	<i>Lactobacillus acidophilus</i> kültürü kullanılarak üretilen süt ürünü
LAB	Laktik asit bakterileri
LB	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> kültürü kullanılarak üretilen süt ürünü
LC	<i>Lactobacillus casei</i> kültürü kullanılarak üretilen süt ürünü
LH	<i>Lactobacillus helveticus</i> kültürü kullanılarak üretilen süt ürünü
LK	<i>Lactobacillus kefir</i> kültürü kullanılarak üretilen süt ürünü
LKF	<i>Lactobacillus kefirianofaciens</i> kültürü kullanılarak üretilen süt ürünü
log	Logaritma
LP	<i>Lactobacillus parakefir</i> kültürü kullanılarak üretilen süt ürünü
M17	Medium 17
mg	Miligram
mL	Mililitre
mPa.s	Milipaskal-saniye
MRS	De-man, Rogosa and Sharpe
MS	Kütle Spektrofotometresi
PDA	Potato Dextrose Agar
pH	Power of Hydrogen
ppb	Milyarda bir
ppm	Milyonda bir
ppt	Binde bir
rpm	Dakikada dönüş hızı
SK	Starter kültür kullanılarak üretilen kefir
SMPE	Katı faz mikroekstraksiyon
ST	<i>Streptococcus thermophilus</i> kültürü kullanılarak üretilen süt ürünü
UK	United Kingdom
YPD	Yeast Extract Peptone Dextrose
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
°C	Derece santigrat
%	Yüzde oran

1. GİRİŞ

Süt, memeli hayvanların salgıladığı, yavrunun ihtiyacı olan bütün besin maddelerini içeren eşsiz bir gıda maddesidir (Demirci ve Şimşek, 1997). Süt birçok besin maddesi gibi özelliğini uzun süre koruyamaz (Demirci ve Şimşek, 1997). Fermentasyon, süt gibi gıdaların raf ömrünün arttırılmasında kullanılmaktadır ve fermentasyon esnasında kontrollü asitlik artışı ile ürün doğal olarak korunmaktadır (Farnworth, 2008; Surono ve Hosono, 2002). Sütün fermentasyonu M.Ö. 10.000 yıllarına kadar uzanmaktadır ve fermentasyonun ilk olarak sütün doğal mikroflorasında bulunan mikroorganizmalar tarafından kendiliğinden gerçekleştiği tahmin edilmektedir (Surono ve Hosono, 2011).

Fermente süt ürünleri, kullanılan çeşitli starter kültürler sayesinde mikroorganizmaların sütte oluşturduğu fermentasyonlar ve özellikle laktik asit fermentasyonu, farklı kıvam ve aromalar oluşturan süt mamülleridir (Demirci ve Şimşek, 1997). Fermentasyon işlemi gıdaların raf ömrünü uzatmak dışında ürünün besleyici özelliğini ve aromasını da geliştirir (Kabak ve Dobson, 2011).

Bakteriler, mayalar ve küfler fermentasyonu sağlayan mikroorganizmalardır. Laktik asit fermentasyonu, bakterilerin karbonhidratları parçalamasıyla laktik asidi oluşturmalarıdır. Genellikle mayaların karbonhidratları parçalayarak etil alkol meydana getirmesine etanol fermentasyonu, aerobik koşullarda bakteriyel oksidasyon ile etanoldenasetik asit oluşturmalarına ise asetik asit fermentasyonu denir (Özden, 2008).

Laktik asit, CO₂ ve alkol fermentasyon sırasında oluşan başlıca ürünlerdir (Ötles vd., 2003). Üründe, fermentasyon sonucunda en çok açığa çıkan organik asit; sütteki laktozun yaklaşık %25' inden elde edilen laktik asittir (Farnworth, 2005).

Fermente süt ürünleri, dünya genelinde yaygın olarak tüketilmektedir. Birçok ülkede değişik isimlerle anılan yoğurt, tüketiciler tarafından en çok tercih edilen

fermente süt ürünüdür. Kefir ise yoğurttan sonra ikinci sırayı almaktadır (Farnworth, 1999).

Kefir danelerinin süte ilavesiyle fermentasyon gerçekleşmekte ve bu fermentasyon kefiri oluşturmaktadır (zkaya vd., 2015). Kefiri diğer fermente süt ürünlerinden ayıran özellik, laktik asit ve etil alkol fermentasyonları sırasında meydana gelen metabolik aktiviteler sonucunda oluşmasıdır. Danenin içerdiği farklı türlerdeki bakteri ve mayalar, metabolik aktivite sonucunda kefirin özel lezzet ve aromasını oluşturmaktadır. Kefir; hafif alkollü ve asidik karakterde, karbondioksit içeren, ferahlatıcı bir iecedir (Güzel-Seydim vd. 2000).

Fermente bir süt içeceği olan kefir, sütte bulunan temel besin öğelerinin çoğunu içermektedir (Yetişemiyen, 1995). Fermentasyon esnasında mikroorganizmalar tarafından laktozun ve proteinlerin kısmen parçalanması, bazı vitaminlerin sentezlenmesi ve biyoaktif maddelerin oluşumu kefirin beslenme değerini arttırmaktadır. Bu özelliği sayesinde sindirilebilirliği kolaylaşan kefirin içeriğindeki besin bileşenlerinin vücut tarafından emilimi artar (Leite vd., 2013). Ayrıca kefirin kolesterol, laktoz intoleransı, antitümör özelliği, bağışıklık sistemi ve sindirim sistemi üzerine olumlu etkilerinin bulunduğu da tespit edilmiştir (zkaya vd., 2015).

Kefir daneleri laktik asit bakterileri (laktobasil, laktokok, streptokok, leokonostok), asetik asit bakterilerini ve mayaları içermektedir (Liu ve Lin, 2000; Powell vd., 2007). Danedeki mikroorganizma türü ve oranı; danelerin orjinine, fermentasyon ve saklama koşullarına göre değişiklikler göstermektedir. Kefir daneleri kullanılarak üretilen kefirin organoleptik özellikleri aynı danenin ayrılıp ayrı ayrı süt ile fermente edilmesiyle farklılıklar oluşturabilmektedir. Bu durumun sebebi pek çok faktöre bağlıdır. Bu nedenle danenin ve daneden elde edilen kefirin mikroorganizma türü hakkında farklı görüşler bulunmaktadır (Kurmman vd., 1992; Yaygın, 1999; Beshkova vd., 2002; Irigoyen vd., 2003; Güzel-Seydim vd., 2005, Mumcu, 1997).

Kefir danelerinden izole edilen en yaygın *Lactobacillus* türleri ve mayalar; *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus kefirgranum*, *Lactobacillus parakefir*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus gasseri*, *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Torula delbrueckii*, *Candida kefir*, *Pichiafermentans*, *Kazachstania unispora* ve *Kazachstania exigua* türleridir (Angulo vd.,1993; Marshall, 1993; Takizawa vd., 1998; Garrote vd., 2001; Simova vd., 2002; Zhou vd., 2009; Miguel vd., 2010; Vardjan vd., 2013). Simbiyotik bir yaşam sürdüren bakteri ve mayalar kefirin fermentasyonu esnasında birbirlerinin çalışmalarını teşvik etmektedirler (Tamime, 2006). Bakteriler, mayaların çalışabilmesi için gerekli enerjiyi sağlarken, mayalar bakterilerin gelişimleri için gerekli besin maddelerini üretmektedir (Viljoen, 2001).

Kefir fermentasyonunun başlıca ürünleri laktik asit, etanol ve CO₂, minör bileşenleri ise diasetil, asetaldehit, etil ve aminoasitlerdir (Ratray ve O'Connell, 2011). Ayrıca fermentasyon sırasında B1, B12, K vitamini, kalsiyum ve folik asit miktarlarının kefirde arttığı belirtilmektedir (Otlar ve Cagindi, 2003). Kefir, karakteristik aromasını veren etanol, aseton, sitrik asit, orotik asit, hippürik asit ve pruvik asit gibi yaklaşık 40 çeşit aromatik bileşen içermektedir (Güzel-Seydim vd., 2000; Kabak ve Dobson, 2011).

Bu projenin amaçları;

- Kefir danesinde bulunan bazı mikroorganizmaları ayrı ayrı süt ortamında geliştirilmesi ve farklı kültür (kefir danesi ve kefir starter kültürü) kullanarak üretilen kefirlerle karşılaştırılması/yorumlanması,
- Tüm ürünlerin kimyasal ve reolojik analizlerinin yapılması,
- Tüm ürünlerde laktik, asetik, sitrik ve formik asit miktarının tespit edilmesi,
- Tüm ürünlerdeki glukoz, laktoz, galaktoz miktarının belirlenmesi,
- Tüm ürünlerin aroma bileşenlerinin tespit edilmesi,
- Buna bağlı biyokimyasal yolların yorumlanmasıdır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Fermente Süt Ürünleri

Süt, dişi memeli hayvanların yeni doğurdukları yavrularını besleyebilmek üzere, süt bezlerinde hayvan türlerine göre farklı sürelerde salgılanan, içinde yavrunun kendi kendisini besleyecek bir duruma gelinceye kadar almak zorunda olduğu tüm besin maddelerini gerekli oranlarda bulunduran porselen beyazı renginde kendine has tat ve kokusu olan bir sıvıdır (Metin, 1996). Soğuk depolamanın olmadığı eski zamanlarda, çabuk bozulan sütün daha uzun süre muhafaza edilebilmesi amacıyla fermente süt ürünleri üretilmiştir (Guzel-Seydim ve Kök-Taş, 2010a).

Türk Gıda Kodeksi – Fermente Sütler Tebliği'ne göre fermente süt ürünü, “Sütün uygun mikroorganizmalar tarafından fermentasyonu ile pH değerinin koagülasyona yol açacak veya açmayacak şekilde düşürülmesi sonucu oluşan ve içermesi gereken mikroorganizmaları yeterli sayıda, canlı ve aktif olarak bulunduran süt ürününü” ifade eder (Anonim, 2009). Uluslararası Sütçülük Federasyonu (IDF) fermente süt ürünlerini “tam yağlı, yarım yağlı, az yağlı, yağsız süt, konsantre süt, süt tozuyla kuru maddesi artırılmış süt, homojenize ya da homojenize edilmemiş, pastörize ya da sterilizasyon işleminden sonra soğutulup özel laktik asit bakterilerini içeren starter kültürleriyle tek başlarına ya da karışımları kullanılarak fermente edilmiş, içerisinde tüketimden önce canlı laktik asit bakterileri içeren bir ürün” olarak tanımlanmaktadır (Akın, 2006).

Fermente süt ürünleri, sütün başta laktik asit bakterileri olmak üzere belirli mikroorganizmalar tarafından fermente edilmesi sonucu meydana gelen farklı kıvam ve aromaya sahip ürünlerdir. Sütün fermentasyon yoluyla asitliğinin geliştirilip ürüne dönüştürülerek raf ömrünün uzatılması eskiden beri bilinen ve uygulanan yöntemlerden biridir (Atamer vd., 1988; Tamime, 1978).

Fermentasyon sonunda, kullanılan süt çeşidi ve dominant mikroorganizma grubuna bağlı olarak, metabolik ürünler ve aroma bileşenleri oluşmaktadır (Robinson ve Tamime, 1990). Her fermente süt ürününde kendine ait farklı spesifik mikroorganizmalar bulunur ve bu mikroorganizmaların gelişebilmesi için uygun koşullar gerekmektedir .Bu spesifik mikroorganizmalar sütte bulunan besin maddelerini kullanarak temel metabolik faaliyetler sonucunda çeşitli metabolitleri oluşturmaktadır. Bu mikrobiyal aktivite sonrasında fermente ürün kendine özgü tat ve aroma maddeleri ile istenilen tekstürel özellikleri kazanmaktadır. Böylece farklı mikrobiyolojik, kimyasal, duysal ve tekstürel özelliklere sahip çeşitli fermente süt ürünleri elde edilmektedir (Akuzawa ve Surono, 2002; Surono ve Hosono, 2002). Fermente süt ürünlerinin fermentasyon tipine göre sınıflandırılması Çizelge 2.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Fermente süt ürünlerinin fermentasyon tipi baz alınarak sınıflandırılması (Robinson ve Tamime, 1990)

FERMENTASYON TİPİ	ALT GRUPLAR	ÜRÜN
Laktik asit fermentasyonu	Mezofilik	Fermente yayıkaltı Yayıkaltı içeceği Täfil Filmjölk Täetmjolk Lángofil
	Termofilik	Yoğurt Bulgar yayıkaltı Zabadi Torba yoğurdu/ Labne Chakka
	Terapötik	Bifigurt® Asidofiluslu süt ABT yoğurt Yakult BRA Biogarde®
Laktik asit-maya fermentasyonu		Kefir Kımız Asidofiluslu ve mayalı süt
Laktik asit-küf fermentasyonu		Viili

Fermente süt ürünlerinin, çok eski yıllardan beri insan beslenmesinde önemli bir yeri vardır. Bugün tanınan birçok fermente süt ürününün ilk olarak Orta Asya ve Balkanlar'da üretildiği bilinmektedir. İncil'deki kayıtlara göre, Hz. İbrahim  meleğe fermente edilmiş ve tatlandırılmış süt sunmuştur. Başka bir hikyeye göre ise melekler cennetten yoğurt benzeri fermente süt ürünü bulunan kase getirmişlerdir. Yoğurdun ilk defa nerede üretildiği ile ilgili olarak çok farklı bilgiler bulunmaktadır. Ancak en eski kaynaklar yoğurdun Türkler tarafından yapıldığını desteklemektedir. Avrupa'da 20. yüzyılda, Amerika'da 60 yıldır tanınmaya ve üretilmeye başlanan yoğurdun 1000 yıl önce Türk lkelerinde yapıldığına ilişkin bilgiler "Kutadgu Bilig" ve "Divanı Lugat-ı-Türk" eserlerinde bulunmaktadır (Tamime ve Deeth, 1980; Dayısoylu, 1997; Yaygın, 1999; Akın, 2006).

Dünyada farklı isimler ile bilinen ancak temelinde birbirine yakın özellikler gösteren 400'den fazla süt ürünü bulunmaktadır. Mikroorganizmaları etkisiz hale getirmek amacıyla sütün kaynama noktasına kadar ısıtılması, ardından sütün uygun sıcaklığa soğutulması ve starter kültür görev görmesi için bir miktar fermente süt ilavesi gibi aşamalarla fermente süt ürünlerinin üretimi gerçekleşir. Dünya geneline bakıldığında fermente süt ürünleri geleneksel yolla üretilmekle beraber günümüzde şehirleşme, tüketiciler bilincinin gelişmesi, probiyotik ve fonksiyonel gıdalara yönelim gibi durumlar, bu ürünlerin ticari olarak süt firmalarının pazar ürünleri arasına girmesini sağlamıştır (Ender vd., 2006).

Endüstriyel boyutta üretilmiş starter kültürler yaklaşık 100 yıldır süt ürünlerinde kullanılmaktadır. Bilinçli starter kullanımı 19. yüzyılın sonlarında başlamakla birlikte yoğurt ve peynirle ilgili arkeolojik bulgular günümüzden 6000 yıl öncesine dayanmaktadır. Günümüzde başta laktik asit üretimi, proteolitik aktivite, faj dirençliliği, aroma oluşturma gücü vb. gibi özellikler göz önünde bulundurularak seçilmiş starter kültürler süt ürünleri endüstrisinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Tunail ve Köşker, 1989; Halkman, 1991).

Süt ürünlerinde starter kültürler kullanılmasının temel amacı kendine özgü duyuşsal özellikler taşıyan ürünlerin elde edilmesidir. Ürün elde edilirken ortaya çıkan laktik asit ve H_2O_2 gibi metabolitlerin ürüne bulaşabilen çeşitli kontaminant mikroorganizmaların gelişimini engellediği de belirtilmektedir (Barefoot ve Nettles,1993; Daeschel, 1989; Lewus ve Montville, 1991).

Fermente süt ürünlerinde bulunan laktik asit gerek ürün eldesinde gerek duyuşsal özelliklerde kendini açıkça belli etmekle birlikte temel metabolit durumundadır. Laktik asit bakterileri fermentasyon esnasında ortamdaki laktozu, permeaz enzim sistemi ile hücre zarından içeriye alır, β -galaktozidaz enzimi ile glukoz ve galaktoz 6-fosfat'a hidroliz eder. Glukoz doğrudan glikolize girerek piruvata dönüşür, piruvattan da laktat dehidrogenaz enzimi ile laktik asit meydana gelir (Hutkins ve Ponne, 1979; Rasic ve Kurman,1978).

Bazı laktik asit bakterileri glukozlu substrat ve oksijenli ortam ile NADH oksidaz aktivitelerinde artış gösterir. Bu enzimin aktivitesi sonucu ortamda belirli miktarda H_2O_2 oluşturur (Murphy ve Candan, 1984).

Fermente süt ürünlerinde lezzet ve aromanın oluşumunda, starter kültürlerin faaliyeti etkili olmaktadır. Asetaldehit ve diasetil fermente süt ürünlerinin karakteristik aroma bileşikleridir (Tazanetaki ve Mastrojonnaki, 1988). Mikroorganizmalar sütte bulunan sitrat ve/veya ara ürün olan piruvat fazlasından yararlanarak diasetili oluşturmaktadır. Sitrat liyaz enzimi sitrat metabolizmasında önemli rol oynar. Diğer bir aroma bileşeni olan asetaldehitin başlıca kaynağının da laktozun indirgenmesi olduğu ve valin gibi aminoasitlerin tranformasyonu ile oluştuğu düşünülmektedir (Rasic ve Kurman, 1978). Fermente süt ürünlerinde kullanılan starter kültürler Çizelge 2.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.2. Fermente süt ürünlerinde kullanılan starter kültürler (Kurmann ve Rasic, 1988; Tamime ve Robinson, 1999)

FERMENTE SÜT ÜRÜNLERİ	STARTER KÜLTÜR
Acidophilus milk	<i>L. acidophilus</i>
Biogarde®	<i>S. thermophilus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>B. bifidum</i>
Biyoyoğurt®	<i>S. thermophilus</i> , <i>L. acidophilus</i>
Bifiyoğurt®	<i>B. bifidum</i> , <i>S. thermophilus</i>
Buttermilk (Bulgaristan)	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>
Buttermilk (kültür ilaveli)	Ticari tereyağ starteri; <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar diacetylactis ve <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>
Cultura	<i>L. acidophilus</i> , <i>B. bifidum</i>
Dahi	<i>S. thermophilus</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> ya da <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar diacetylactis
Dadih	<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i> , <i>L. paramesenteroides</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar diacetylactis
Filmjölük	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar diacetylactis, <i>L. mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>
Kefir	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar diacetylactis, <i>L. mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>L. mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. kefir</i> , <i>L. kefiranoformans</i> , <i>K. marxianus</i> , <i>Saccharomyces</i> spp.
German kefir	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar diacetylactis, <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. lactis</i> , <i>L. brevis</i> , <i>C. kefir</i>
Kimiz	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>S. lactis</i> , <i>Torula koumiss</i>
Tatmjölük	Filmjölük gibi
Villi	Filmjölük gibi, <i>Geotrichum candidum</i> ilaveli
Yakult	<i>L. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> , <i>L. casei</i> Shirota
Yoğurt	<i>S. thermophilus</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>

2.2 Kefir

Kefir; Kuzey Kafkasya kökenli, inek, koyun, keçi ve kısırak sütüne kefir danesi eklenerek elde edilen, etil alkol ve laktik asit fermentasyonlarının birlikte olduğu hafif asidik karakterde, ferahlatan bir içecektir (Alptekin ve Uyar, 1997; Özsoy vd., 1998; Yaygın, 1994).

Kefir kelimesinin Türkçe’de keyif veren, mest eden anlamında kullanılan “keyf” sözcüğünden türediği bilinmektedir (Wiese, 1986). Kafkasya’da ise keyf kelimesi “en iyi yapılan” anlamına gelmektedir (Klupsch, 1984). Türk Gıda Kodeksinde kefir; fermentasyonda spesifik olarak *Lactobacillus kefir*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* ve *Acetobacter* cinslerinin değişik suşları ile laktozu fermente eden (*Kluyveromyces marxianus*) ve etmeyen mayaları (*Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces exiguus*) içeren starter kültürler ya da kefir tanelerinin kullanıldığı fermente süt ürünü olarak ifade edilir (Türk Gıda Kodeksi, 2009).

Kefir danesinin ilk olarak nerede ve nasıl bulunduğu bilinmemekle birlikte kefir danelerinin kullanımının ilk defa Kafkasya’da Elbe nehri kıyısındaki 2500 m yükseklikteki Karatscajeff dağ köyünde yapıldığı söylenmektedir. Keçi tulumu içinde daneler ile sütün pıhtılaştırıldığı, tulumun yazın evin dışında, kışın ise evin içinde bırakıldığı, bu sırada içerisinde fermente olan süt alınarak içildiği ve yerine yeni süt eklendiği bildirilmektedir (Weis ve Burghbacher, 1986; Koroleva, 1988; Stepaniak ve Fetlinski, 2002).

Bir rivayete göre kefir danelerini Hz. Muhammed’in Ortodoks insanlarına verdiği ve nasıl kullanılacaklarını da anlattığı söylenmektedir. Danelerin nasıl yapıldığının kimseye anlatılmadığı ve anlatılırsa sihrinin bozulacağı söylenmiştir. Bu sebeple de danelerin kaynağı asla öğrenilememiştir (Koroleva, 1988).

Kafkasya’da üretilen kefirin 19. yüzyılın sonlarına doğru besleyici değeri ve fizyolojik özelliklerinin anlaşılmasıyla Doğu ve Orta Avrupa ülkelerinde üretimi

başlamıştır (Alpkent ve Demir, 2004). 1930'lu yıllarda endüstriyel anlamda ilk kefir üretimi; sütün, cam şişelerde dane ile inoküle edilerek pıhtı oluşuncaya kadar termostatta bekletilmesi ve daha sonra soğutularak tüketilmesi ile başlamıştır. 1950'li yıllarda Rusya'daki bir araştırma enstitüsü kefir üretim metodu geliştirerek günümüzde geleneksel yöntemle üretilen kefire benzer, ürün elde edilmesini sağlamıştır (Koroleva, 1988).

Ülkemizde kefirin ilk ambalajlı üretimi 1980'li yılların ortasında gerçekleşmiş ve 2005 yılında %59 üretim artışı görülmüştür. Günümüzde farklı hacim ve aromalarla (sade, light, meyveli vs.) kefirin üretimi yapılmaktadır (Karagözlü ve Dumanoglu, 2011).

Kefir danesinde bulunan bakteri ve maya türleri simbiyotik aktivite ile laktik asit ve alkol fermentasyonlarını bir arada gerçekleştirerek aroma bileşenlerini oluşturmaktadır (Ünlütürk ve Turantaş, 1998; Yılmaz vd., 2006).

Dünyanın birçok yerinde sağlık üzerindeki olumlu etkileri ve fonksiyonel özellikleri bilinmekte olan kefir, her yaştan insanın tükettiği beğenilen bir ürün olma özelliği taşımaktadır (Güzel-Seydim vd., 2010).

2.3.Kefir Danesi

2.3.1. Fizikokimyasal özelliği

Sarımtırak renkte, 1-6mm arası çapa sahip karnabahar görünümünde bulunan kefir danesi, içinde bir miktar yağ ve kazein bulunduran kefiran adı verilen polisakkaritten oluşur. İçerisinde bulunan bakteri ve mayalar simbiyotik halde yaşamlarını sürdürmektedir (Wang vd., 2008; Yaygın, 1994; Klupsch, 1984; Beshkova vd., 2002). Kefir danesinde bulunan laktik asit bakterileri (LAB) ve mayaların fermentasyonu sonucu laktik asit, CO₂, az miktarda etanol ve aroma bileşenleri (asetaldehit, aseton, diasetilden) oluşur. Bu moleküller ile kefirin eşsiz duyuşal karakterleri tamamlanır (Güzel-Seydim vd., 2011).

Kefir danesi yapışkan ve yumuşak olmamalı, elastiki yapıda olmalıdır. Dane dikkatli bir şekilde temiz ortamda muhafaza edildiği zaman yıllarca kullanılabilir. Kefir daneleri, steril suda yıkandıktan sonra 4-5 °C’ de nemli halde 8-10 gün saklanabilmektedir. Danenin aktifleştirilmesi için steril süte %2 oranındadane eklenir ve 24°C’ de 22-24 saatte sütü pıhtılaştırarak dane aktif hale gelir. Kefir danelerinin mikrobiyotasını korumak için, dondurma, liyofilizasyon ve buzdolabında muhafaza gibi çeşitli teknikler kullanılmaktadır (Witthuhn vd., 2005).

2.3.2. Mikrobiyolojik özelliği

Danedeki mikroorganizma türü ve birbirilerine oranı, danelerin orijinine bağlı olarak farklılık göstermektedir (Yaygın, 1994). Çizelge 2.3’de kefir danesinden izole edilen bazı bakteri ve mayalar gösterilmiştir. Kefire özgü laktik asit bakterileri *Lactobacillus* grubunda en yaygın tür *L. kefiranofacies* subsp. *kefiranofaciens*, *L. kefiranofaciens* subsp. *kefirgranum*, *L. kefiri* ve *L. parakefiri*’dir (Dobson vd., 2011; Leite vd., 2012; Hamet vd., 2013; 2016; Vardjan vd., 2013; Nalbantoğlu vd., 2014; Garofalo vd., 2015; Korsak vd., 2015).

Çizelge 2.3. Kefir danelerinde belirlenmiş bakteri ve maya türleri (Güzel-Seydim ve Kök-Taş, 2019)

<i>Lactobacillus/Lactococcus</i> Türleri	Ülke/Bölge	Kaynaklar
<i>Lactobacillus kefiri</i>	Arjantin, Brezilya, Yunanistan, Tibet	Kandler ve Kanuth 1983; Pintado vd., 1996; Güzel-Seydim vd., 2005; Chen vd., 2008; Güzel-Seydim vd., 2011; Hamet vd., 2013; Garofalo vd., 2015
<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i>	Türkiye Brezilya, Belçika, İtalya, Tibet,	Fujisawa vd.,1988; Pintado vd., 1996; Chen vd., 2008; Magalhaes vd., 2010; Kök-Taş vd., 2012; Hamet vd., 2013; Garofalo vd., 2015
<i>Lactobacillus kefirgranum</i>	Belçika, İtalya	Takizawa vd., 1994; Chen vd., 2008; Magalhaes vd., 2010; Vardjan vd., 2013; Garofalo vd., 2015
<i>Lactobacillus parakefiri</i>	Arjantin	Takizawa vd., 1994, Hamet vd., 2013; Vardjan vd., 2013
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Arjantin, İspanya, Türkiye	Chen vd., 2008; Chen vd.,2012; Kök-Taş vd., 2012

Çizelge 2.3. Kefir danelerinde belirlenmiş bakteri ve maya türleri (Güzel-Seydim ve Kök-Taş, 2019) (Devam)

<i>Lactobacillus amylovorus</i>	Brezilya, Danimarka	Fujisawa vd.,1988; Leite vd.,2012
<i>Lactobacillus brevis</i>	İspanya	Wang vd., 2008
<i>Lactobacillus buchneri</i>	-	Kim vd.,2016
<i>Lactobacillus casei</i>	İspanya, Tibet	Wang vd., 2008; Zhou vd., 2009; Gulitz vd., 2011; Dick vd., 2015
<i>Lactobacillus crispatus</i>	Arjantin, Güney Afrika, Türkiye	Garbers vd., 2004; Zhou vd., 2009; Kök-Taş vd., 2012
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	Güney Afrika	Koroleva vd., 1991; Santos vd., 2003; Witthuhn vd., 2004; Dick vd., 2015
<i>Lactobacillus fermentum</i>	Güney Afrika, İspanya	Witthuhn vd., 2004; Wang vd., 2008
<i>Lactobacillus gasseri</i>	İspanya	Wang vd., 2008
<i>Lactobacillus gallinarum</i>	Güney Afrika	Garbers vd., 2004
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Arjantin, Tibet, Türkiye	Zhou vd., 2009; Kök-Taş vd., 2012
<i>Lactobacillus jensenii</i>	-	Kim vd., 2016
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	-	Kim vd., 2016
<i>Lactobacillus otakiensis</i>	Arjantin, İtalya	Zhou vd., 2009; Garofalo vd., 2015
<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	-	Kim vd., 2016
<i>Lactobacillus paracasei</i>	Arjantin	Hamet vd., 2013
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Tibet	Miguel vd., 2010; Zanirati vd., 2015
<i>Lactobacillus reuteri</i>	Türkiye	Kök-Taş vd., 2012
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	İspanya	Koroleva ve Robinson, 1991; Wang vd., 2008
<i>Lactobacillus viridescens</i>	İspanya	Wang vd., 2008
<i>Lactococcus cremoris</i>	-	Kim vd., 2016
<i>Lactococcus lactis</i>	Arjantin, Brezilya, Tibet	Pintado vd., 1996; Chen vd., 2008; Zhou vd., 2009; Leite vd., 2012
<i>Leuconostoc lactis</i>	Güney Afrika	Witthuhn vd., 2004
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Güney Afrika, Tibet	Witthuhn vd., 2004; Chen vd., 2008
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Türkiye	Kök-Taş vd., 2012

Çizelge 2.3. Kefir danelerinde belirlenmiş bakteri ve maya türleri (Güzel-Seydim ve Kök-Taş, 2019) (Devam)

Asetik asit Bakterileri		
<i>Acetobacter lovaniensis</i>	Belçika	Magalhaes vd., 2010
<i>Acetobacter pasteurianus</i>	Arjantin	Garrote vd., 2001
<i>Acetobacter syzygii</i>	Brezilya	Zanirati vd., 2015
Mayalar		
<i>Candida albicans</i>	İspanya	Wang vd., 2008
<i>Candida friedricchi</i>	İspanya	Wang vd., 2008
<i>Candida holmii</i>	İspanya	Wang vd., 2008
<i>Candida kefir</i>	İspanya	Wang vd., 2008
<i>Candida lambica</i>	Güney Afrika	Garbers vd., 2004
<i>Kazachstania aerobia</i>	İtalya	Garofalo vd., 2015
<i>Kazachstania servazzii</i>	İtalya	Garofalo vd., 2015
<i>Kazachstania solicola</i>	İtalya	Garofalo vd., 2015
<i>Kazachstania unispora</i>	Brezilya, İtalya	Leite vd.,2012; Garofalo vd., 2015
<i>Kluyveromyces dobzhanskii</i>	Türkiye	Kök-Taş vd., 2012
<i>Kluyveromyces lactis</i>	-	Kim vd., 2016
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Brezilya, Tibet	Zhou vd., 2009; Magalhaes vd., 2010; Vardjan vd., 2013
<i>Pichia fermentas</i>	Tayvan	Wang vd., 2008
<i>Saccaromyces unisporus</i>	Portekiz, Tayvan	Pintado vd., 1996; Wang vd., 2008
<i>Saccaromyces cerevisiae</i>	Brezilya, Güney Afrika, İtalya, Tibet	Garbers vd., 2004; Witthuhn vd., 2004; Zhou vd., 2009; Garofalo vd., 2015;
<i>Saccaromyces turicensis</i>	Tayvan	Wang vd., 2008
<i>Torulospira delbrueckii</i>	İspanya	Wang vd., 2008

Kefirde bulunan heterofermentatif laktik asit bakterilerinin laktozu fermente etmesi ile laktik asit ve CO₂; sitrat pozitif suşların sitratı kullanması ile diasetil,

asetaldehit, etanol ve asetat oluşmaktadır. Tüm bu bileşenler kefirde karakteristik lezzetin oluşumunu sağlamaktadır. Ayrıca kefir danelerinde *Acetobacter aceti* ve *Acetobacter rasens* gibi asetik asit bakterileri de bulunabilmektedir (Ratray ve O'Connell, 2011).

Homofermentatif laktobasillerin danenin mikrobiotası en önemli bölümünü oluşturması ile birlikte kefir danesinin dış polisakkarit katmanı olan kefiranın *Lactobacillus kefiranofaciens*'in *Saccharomyces cerevisiae* ile beraber gelişmesi durumunda üretildiği bildirilmektedir (Nale, 2013; Ratray ve O'Connell, 2011). Kefiranın üretiminde rol oynayan *Lactobacillus kefiranofaciens* kefir danesinin yüzey kısmında ve merkezinde bulunurken *Lactobacillus kefir* danenin sadece yüzey kısmında yoğunlaşmaktadır (Arihara vd., 1990).

Lactobacillus parakefiri kefir danelerinden izole edilmiştir. Hücreleri gram pozitif, hareketsiz ve spor oluşturmaz. 5 günlük inkübasyondan sonra koloni çapları 0.5-2.0 mm olarak ve düzensiz daireler şeklinde, opak ve beyaz gözlemlenmiştir. Fakültatif anaerobiktir. 45°C'de gelişim gözlenmezken, 15°C'de iyi gelişim göstermiştir. Heterolaktik fermentasyonla L-laktik asit ve CO₂ üretir (Takizawa vd., 1994).

Lactobacillus casei gram pozitif, fakültatif heterofermentatif, fakültatif anaerob bir bakteridir. Hareketsizdir ve spor oluşturmaz. Hücreleri 0.7-1.1 x 2.0-4.0 mm büyüklüğünde olup çubuk şeklindedir. Diğer LAB gibi aside toleranslıdır. Porfirin sentezleyemez. 6-fosfoglukanat, fosfoketolaz yoluyla pentozlardan ve Embden-Meyerhof yoluyla heksoz şekerlerinden laktik asit üretir. 15 °C'de gelişme gösterirken 45 °C'de gelişemez (Aydın, 2000; Wu vd., 2009). İlk kez peynirde bulunan izolatlardan tanımlanmıştır. Sütü peynire dönüştürdüğü için 'caseification' yani 'peynirleştirme' anlamına gelen 'casei' ismi verilmiştir. Endüstriyel açıdan *Lactobacillus casei* suşları probiyotik ürünlerde, süt ve et fermentasyonu için asit üreten starter kültürlerde lezzet gelişimini hızlandırmak, kuvvetlendirmek amacıyla kullanılmaktadır (Fonden vd., 2000).

Lactobacillus helveticus İsviçre tipi ve İtalyan yaşlı peynirlerin ve fermente süt içeceklerinin imalatında yaygın olarak kullanılan homofermentatif, termofilik bir laktik asit bakterisidir (Gatti vd., 2004; Vinderola vd., 2007a). İlk olarak 1919'da Orla Jensen tarafından *Thermobacterium helveticum* olarak tanımlanmıştır. Bakterinin ilk izolasyon kaynağı olan Emmental peyniri yüksek sıcaklıkta üretildiği için "termos" ön eki kullanılmıştır (Naser vd., 2006).

İsviçre tipi peynirlere ek olarak, bu türlere ait suşlar, uzun süre olgunlaştırılan İtalyan peynirlerinden elde edilen doğal peynir altı suyu kültürlerinde de bulunur. Bu da şiddetle bu türün birincil habitatının süt ortamı olduğunu düşündürür (Giraffa vd., 2000).

1900 yılında Moro isimli bir araştırmacı tarafından anne sütüyle beslenen bebeklerin dışkılarından izole edilen *Lactobacillus acidophilus*, 1936'da Orla-Jensen ve Winther tarafından "*Thermobacterium intestinale*" olarak adlandırılmıştır. 1970 yılında ise Hansen ve Morquot, *Lactobacillus acidophilus* ismini resmen kabul etmiştir (Kılıç, 2008). Çubuk veya kokobasil şekilli, gram pozitif ve katalaz negatiftir. Hareketsizdir ve spor oluşturmaz. Anaerob veya fakültatif anaerob olan bu bakterinin optimum gelişme sıcaklığı 35-38°C, pH aralığı 5.5-6.0 arasındadır (Gomes ve Malcata, 1999).

Lactobacillus bulgaricus Orla-Jensen tarafından tanımlanmış ve *Thermobacterium bulgaricum* olarak adlandırılmıştır (Farrow ve Collins, 1984). *Lactobacillus delbrueckii*'nin bir alt türü olarak yer alan *Lactobacillus bulgaricus* gram-pozitif, tekli, ikili veya zincir formda bulunabilen çubuk şeklinde (0.5-0.8 x 2-9 µm), hareketsiz ve sporsuz bir bakteridir (Özer, 2006). Optimum gelişim sıcaklığı 42-45°C olmakla birlikte termofiliktir. Optimum gelişme pH'sı 5.2-5.5 arasındadır. Anaerobik koşullarda iyi aktivite göstermektedir. Zorunlu homofermentatiftir ve laktozun yanı sıra glukoz ve fruktozu da kullanabilmektedir. Ender koşullarda galaktoz ve mannozu metabolize edebilmekte ve laktoz metabolizması sonucunda laktik asit, karbonil bileşikleri, etil alkol ve uçucu yağ asitlerini oluşturmaktadır (Axelsson, 1998; Tamime ve

Robinson, 2007). *Lactobacillus bulgaricus*'un bazı suşlarında ekzopolisakkariti sentezleme yeteneği bulunmaktadır (Hammes ve Vogel, 1995).

Termofilik karakterli *Streptococcus thermophilus* ilk kez 1919 yılında Orla-Jensen tarafından laktik streptokok olarak tanımlanmıştır (Pearce ve Flint, 2002; Farrow ve Collins, 1984). Gram-pozitif, çapı 1 µm'nin altında, yuvarlak veya ovoid, tekli, çiftli veya uzun zincirler şeklinde bulunabilen bu bakterinin optimum gelişim sıcaklığı 40-45 °C; optimum gelişim pH'sı 6.0-6.5 arasındadır. Fakültatif anaerobik olan *S. thermophilus* laktoz ve sakkarozu fermente edebilmektedir. Fakat monosakkaritler üzerindeki etkisi çok zayıftır (Tamime ve Robinson, 2007; Nielsen vd., 2009; Sinha, 1991). Başlıca laktoz fermentasyonu ürünleri laktik asit, asetaldehit ve diasetil olmakla birlikte L(+) laktat üretmektedir (Tamime ve Robinson, 2007; Herve-Jimenez vd., 2008).

İlk olarak 1899-1900 yılları arasında Henry Tissier tarafından anne sütüyle beslenen bebeklerin dışkılarından izole edilen bifidobakteriler *Bacillus bifidus communis* olarak isimlendirilmiştir. 1919 yılında Castellini ve Chalmers *Bacterium bifidus* olarak adlandırmış ancak bu isim sonraki yıllarda *Lactobacillus bifidus* olarak değişmiştir. Denhert tarafından yapılan çalışmalar sonucunda bifidobakterilerin laktobasillerden farklı olduğu belirlenmiş ve bu bakteriler *Bifidobacterium* spp. olarak kabul edilmiştir (Kılıç, 2008). Bifidobakteriler; gram pozitif, spor oluşturmeyen, hareket etmeyen ve zorunlu anaeroblardır (Barrett vd., 2011). Çubuk şeklinde olup gaz üretmezler. Optimum gelişim sıcaklığı 37-41°C, optimum pH aralığı 6.0-7.0 arasındadır (Gomes ve Malcata, 1999). Bu bakteriler glikoz, galaktoz ve fruktozu fermente ederler ve CO₂ üretmezler. *Bifidobacterium bifidum* laktik asit yapma yeteneğine sahiptir ve sütün pıhtılaşmasına neden olur (Jones ve Collins, 1986).

Kluyveromyces marxianus ilk olarak 1888 yılında E.C. Hansen tarafından tanımlandı. O dönemde bu mayayı üzümlerden izole eden Marx'tan sonra *Saccharomyces marxianus* adını aldı (Lodder ve Kreger-van Rij, 1952). 1956'da van der Walt tarafından *Kluyveromyces* cinsinin tanımlanmasıyla bu türe transfer edildi (van der Walt, 1956). *K. marxianus* respiro-fermentatif

metabolizma yeteneğine sahip, aynı anda hem solunum yoluyla TCA döngüsünden hem de etanol fermentasyonundan enerji üretebilen aerobik bir mayadır (Rocha vd.,2011). Solunum ve fermentasyon metabolizmaları arasındaki denge suşa özgüdür. Aynı zamanda inülin, glukoz, rafinoz, sükroz ve laktoz'u etanole fermente eder (Lane ve Morrissey, 2010; Kurtzman vd.,2011). Bu türün crabtree negatif olduğu düşünülür yani şekerleri *S. cerevisiae* gibi crabtree pozitif cinsler kadar etkili bir şekilde etanole dönüştüremez (Lane vd., 2011). *K. marxianus*, 40 °C'de yüksek bir büyüme oranı gösteren sıcaklığa dayanıklı bir mikroorganizmadır (Yang vd., 2015).

Tunay (2018) yaptığı çalışmada kefir danesine özgü bazı probiyotik bakterilerin ve yararlı diğer bakterilerin kefirle beslenen annelerin sütlerine geçişini kantitatif polimeraz zincirreaksiyonu (qPCR) ile kalitatif ve kantitatif olarak araştırmıştır. Kefire özgü mikroorganizmaların doğal kefir danesinden üretilen kefirdeki içeriğini analiz etmiştir ve *L. kefiranofaciens* içeriğini 3.55 log kob/mL, *L. parakefiri* içeriğini 5.78 log kob/mL, *L. kefiri* içeriğini 3.25 log kob/mL, *L. casei* içeriğini 0.99 log kob/mL, *L. acidophilus* içeriğini 1.56 log kob/mL, *L. helveticus* içeriğini 3.22 log kob/mL, *L. bulgaricus* içeriğini 2.54, *B. bifidum* içeriğini 1.69 log kob/mL, *S. thermophilus* içeriğini 2.98 log kob/mL olarak bulmuştur.

Atılgan (2018) 'ın *in vivo* koşullarda yaptığı tez ile deney hayvanlarına kefir danesi ile üretilen kefir 300 µL/gün olarak tükettirerek kefir danesine özgü mikroorganizmaların hayvanların bağırsaklarına transferini gözlemlemiştir. Doğal kefir tüketen farelerin 15. günde gaita örneklerinde *L. kefiranofaciens* içeriğini 2.848 log kob/g, *L. kefiri* içeriğini 2.147 log kob/g, *L. parakefiri* içeriğini 4.875 log kob/g, *L. acidophilus* içeriğini 1.784 log kob/g, *L. casei* içeriğini 1.540 log kob/g, *L. helveticus* içeriğini 1.439 log kob/g, *B. bifidum* içeriğini 2.354 log kob/g olarak belirlemiştir.

Güzel-Seydim vd. (2005) elektron mikroskobu ile incelediği kefir danesinin dış kısmında gördüğü laktobasillerin, mayaların ve fibrillar maddenin kefiran olabileceğini belirtmişlerdir. Mayaların en çok kefir danesinin dış kısmında bulunduğunu ve kefir danesinin iç kısımlarında laktobasillerin bulunduğunu

ancak mayaların bulunmadığını belirtmişlerdir. Bu durumda mayaların dış yüzeyde koloni oluşturmalarının sebebinin aerob olmaları dolayısı ile gerçekleşebileceğini bildirmişlerdir.

Dane mikroflorasının % 65-80' ini laktobasiller (homofermentatif, heterofermentatif; mezofil ya da termofil), % 20' sini streptokoklar ve % 5' ini mayalar oluşturmaktadır (Libudzisz ve Piatkiewicz, 1990; Wszolek, 2001).

Hijyenik olmayan koşullarda kefire koliformlar, *Mycoderma* ve *Geotrichum candidum* gibi mikroorganizmalar bulaşabilmektedir ancak koliform grubu mikroorganizmalar doğal kefir mikroflorasında inhibe olmaktadır. Kefirin depolama süresinin uzaması *Mycoderma* ve *Geotrichum candidum* gelişimini arttırabilmektedir (Koroleva, 1988). Kefir danesinde bulunan mikroorganizmalar laktik asit ve bakteriyosin gibi ürünler üretir ve bu bileşenler sütte bulunan patojen ve üründe bozulmaya sebep olan mikroorganizmaların gelişimini engellemektedir (Chen vd., 2008).

Kefirin bileşimini, kimyasal özelliklerini ve mikrobiyotası; kefir danesinin orjini, kefir yapımında kullanılan sütün nitelikleri, inkübasyon sıcaklığı ve süresi, depolama şartları ve süresi gibi faktörler etkilemektedir. Ayrıca kefirin üretildiği işletmenin hijyen ve sanitasyon uygulamaları da kefiri önemli derecede etkilemektedir (Koroleva, 1988; Güzel-Seydim vd., 2005).

Güzel-Seydim vd. (2005) yaptıkları çalışmada kefirin fermentasyonu süresince pH değerindeki değişimleri gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak; fermentasyon esnasında laktik asit bakterilerinin gelişimiyle örneğin pH'sının 6.39'dan, 5. saatte 6.05; 10. saatte 5.75; 15. saatte 5.31 ve 22. saatte 4.55'e düştüğünü belirlemişlerdir.

Danelerin içerdiği mikroorganizmaların esas fonksiyonunun laktoz fermentasyonu, laktik asit üretimi ile kefir sütünde patojenik mikroorganizmaların gelişimini engelleyen bakteriositlerin, peroksitlerin ve antibiyotiklerin üretilmesi olduğunu bunun da hastalıkların ya da uzun süren

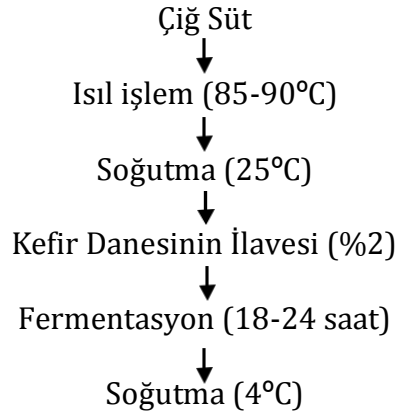
hastalık tedavisinin neden olduğu bağırsak bozukluklarında kefirin bağırsağın normal florası üzerine olumlu etkisi şeklinde yorumlanabileceği öne sürülmüştür (Rehm, 1983).

2.4.Kefir Üretimi

2.4.1.Geleneksel kefir üretimi

Geleneksel kefir üretiminde çiğ süte 85-90 °C'de ısıtma işlemi uygulandıktan sonra, süt 25 °C'ye soğutulur. Soğutulan süte %2 oranında kefir danesi ilavesinin ardından 25 °C'de 18-24 saat fermentasyona bırakılır. Fermentasyonun tamamlanmasıyla daneler süzgeç ile kefirde alınarak muhafaza edilir. Elde edilen kefir ise 4°C'de depolanır ve daha sonra tüketime sunulur (Karagözlü ve Kavas, 2000).

Kefir üretiminde kefir danesi ile üretilen kefir ve starter kültür kullanılarak üretilen kefir arasında bileşim ve duyu özellikleri olarak önemli farklılıklar vardır. Yapılan araştırmalarda kefir danesi kullanılarak üretilen kefirin, starter kültür kullanılarak üretilen kefire göre daha yoğun aroma içerdiği ve starter kültür kullanılarak üretilen kefirin; asitliğinin az, yapısının kremsi olduğu gözlemlenmiştir (Otsoa vd., 2006). Şekil 2.1'de geleneksel kefirin üretim aşamaları gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Geleneksel kefir üretimi

2.4.2.Endüstriyel kefir üretimi

Endüstriyel kefir üretiminde ticari liyofilize kefir kültürü veya kefir danesi kullanımıyla gerçekleştirilen iki çeşit üretim mevcuttur. Çiğ sütün kuru madde ve yağ standardizasyonu yapıldıktan sonra süt homojenizasyon ve pastörizasyon işlemlerine tabi tutulur. Daha sonra 25 °C'ye soğutulan süte %1-3 oranında kültür aşılır ve 25 °C'de 18-20 saat fermentasyona bırakılır. Elde edilen ürünün pH değeri 4.6'ya düştüğünde fermentasyona son verilir. Fermentasyondan alınan ürün karıştırılarak aseptik dolumu yapılır ve 4°C'de depolanır (Stepaniak ve Fetlinski, 2002; Güzel-Seydim vd., 2010).

Endüstriyel üretimde kullanılan liyofilize kültürler çok az miktarda maya içermekte, çoğunlukla da hiç maya içermemektedir. Bu durumun sebebinin; mayaların fermentasyonu sonucu ortaya çıkan CO₂'in, ürünün ambalajında meydana getirdiği görüntüyle müşteriler tarafından bozuk olarak algılanabileceği olduğu belirtilmiştir. Dolayısı ile ticari amaçlı üretilen kefirlerde geleneksel kefirde olduğu gibi köpüklü bir yapı olmamakta ve bulundurduğu etanol içeriği (<%0.01) daha az olmaktadır (Marshall ve Cole, 1985). Endüstriyel kefirin üretim aşamaları Şekil 2.2'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Endüstriyel kefir üretimi

2.5.Kefirde Bulunan Aroma Bileşenleri ve Uçucu Bileşikler

Kefir üretimi esnasında diasetil ve asetaldehit gibi aroma bileşenleri ortaya çıkmaktadır (Zourarı ve Anıfantakıs, 1988). Diasetili *Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis* ve *Leuconostoc* spp. üretmektedir (Lıbudzısz ve Piatkiewicz, 1990). Kefirde bulunan organik asitler içerisinde en yüksek konsantrasyon laktik aside aittir (Alm, 1982a). Alanin ve aspartik asit miktarının çiğ süte oranla kefirde daha fazla olduğu bilinmektedir (Alm, 1982b).

Fermentasyon sürecinde oluşan laktik, süksinik, pürivik, ketoglutarik ve oksalik asitler kefire ferahlatıcı ve asidik bir tat verirken; karbonil bileşikler, uçucu yağ asitleri ve alkollerden oluşan yan ürünler beğenilen karakteristik aromayı oluşturmaktadır (Aydar, 1994).

Bakteriler gibi faaliyeti durdurulamayan mayaların kefirin depolanması esnasında üreteceği aşırı karbondioksit miktarıyla birlikte kefirde olumsuz tat ve aromaya sebep olur. Bu sebeple karbondioksit miktarını kontrolde tutmak amacıyla kefir danesinden elde edilen starter kültürlerde maya miktarı

sınırlandırılmakta ve kefir üretimi starter kültür yoluyla kontrollü olarak yapılabilir. Kefir geleneksel olarak inek sütü ile yapılır ancak kefir üretiminde farklı sütlerin (keçi, koyun, manda, kısırak ve soya sütü) kullanımıyla ilgili birçok araştırma yapılmış olup, araştırmalarda elde edilen kefirlerin kalite parametreleri ve duyu özelliklerinin tespitinde farklı sonuçlar tespit edilmiştir (Motaghi vd., 1997; Wszolek vd., 2001; Wojtowski vd., 2003; Liu vd., 2006; Cais-Sokolinska vd., 2008; Tomar, 2015; Yılmaz-Ersan vd., 2016).

Kefir üretimi ve muhafazası sırasında laktoz, yağ, protein ve organik asit miktarları değişmektedir (Irigoyen vd., 2005). Fermentasyon esnasında laktik asit bakterileri laktozu parçalayarak laktik asit oluştururken, mayalar tarafından fermente edilen laktoz, alkolü oluşturmaktadır. Bu süreçte kefir danesinde bulunan proteolitik bakteriler proteinlerin bir kısmının aminoasitlere kadar parçalanmasını sağlamaktadır. Sonuçta fermentasyon sırasında meydana gelen birçok biyokimyasal değişiklikler ile ortaya çıkan metabolitler kefirin kendine özgü lezzet ve aroma özelliklerinin oluşumunu ve kimyasal yapısının şekillenmesini sağlamaktadır (Metin ve Tavlaş, 1986).

Kefir aroması ile ilgili en önemli uçucu bileşenlerin asetaldehit, propiyonaldehit, aseton, etanol, 2-butanon, n-propanol, diasetil ve amil alkol olduğu ifade edilmiştir. Olgunlaşma sırasında diasetil, asetaldehit, etanol, amil alkol ve n-propanol miktarında artış görülmektedir. Kefir danesi içerisinde bulunan laktik asit bakterileri sitrat metabolizması ile diasetil, aseton ve CO₂'in bir kısmını oluşturmaktadır (Koroleva., 1988a).

Libudzisz ve Piatkiewicz (1990), kefirde başlıca L(+) formu olmak üzere laktik asit, formik asit, suksinik asit ve propiyonik asit, ayrıca CO₂ (% 0.08-0.2), etil alkol (% 0.035-2) farklı aldehytler ve çok az miktarlarda isoamil alkol ve aseton oluştuğunu ifade etmişlerdir. Diasetil, streptokokların (*Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis* ve *Leuconostoc* spp.) sitratı kullanmasıyla meydana gelmektedir (Libudzisz ve Piatkiewicz, 1990).

Kefir danesinde bulunan mikroorganizmaların oranı, üretimde kullanılan sütün bileşimi ve çeşidi ve fermentasyon koşulları kefirin lezzet ve kıvam gibi özelliklerine etki etmektedir (Irigoyen vd., 2005). Yapılan bir çalışmada laktik asit bakterilerinin (*Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactococcus lactis* var. *lactis* ve *Enterococcus durans*) saf kültürü ve kefir danelerinden izole edilen laktozu fermente edemeyen mayalar (*Saccharomyces unisponus* ve *Saccharomyces italicus*) kefir üretiminde starter kültür olarak kullanılmıştır. 30 gün boyunca 4 °C'de depolanan örneklerin ortalama pH değeri 4.35, CO₂ miktarı 0.44 g/L olarak tespit edilmiştir. Diasetil ve asetoin gibi karbonil bileşiklerinin konsantrasyonlarında ve viskozitede çevre koşullarına bağlı olarak azalmalar olduğu görülmüştür (Rossi ve Gobbetti, 1992).

Doğal koruyucu olarak da bilinen organik asitler kefirde duyuşal özellikleri etkilemektedir (Güzel-Seydim, 2000a). Laboratuvar koşullarında üretilen kefirde bulunan organik asitlerin miktarı, kefirin inkübasyonu ve depolama (4 °C)sürecindeHPLC ile tespit edilerek organik asitlerdeki değişim gözlemlenmiştir. Kefirde bulunan pürivik, süksinik ve propiyonik asitler fermentasyonun 6. saatine kadar artmış, depolama süresince azalmıştır. Ürik asit miktarında önemli bir değişim gözlenmezken, ürünün orotik ve sitrik asit içeğı fermentasyon ve depolama süresince azalmıştır (Kınık vd., 1998).

Yapılan bir çalışmada kefir, tereyağ ve yoğurdun duyuşal özellikleri karşılaştırılmıştır. Kefirin laktik asit içeriğı yoğurda göre daha düşük, asetik asit içeriğı daha yüksek çıkmıştır. Tüm ürünlerde (kefir, tereyağ, yoğurt) orotik asit, sitrik asit ve ürik/formik asit içeriğı birbirine yakın bulunmuş, propiyonik asit belirlenememiştir (Muir vd., 1999).

Güzel-Seydim vd. (2000b), çalışmalarında daneden üretilen kefirin fermentasyonu esnasında meydana gelen uçucu aroma bileşenlerini (asetaldehit, etanol, asetoin ve diasetil) ve organik asitleri (orotik, sitrik, pürivik, ürik, laktik, asetik, bütirik, propiyonik, hippurik asit) belirlemişlerdir. Fermentasyon süresince orotik, sitrik ve pürivik asit miktarı düşük düzeyde azalmış, fermentasyonun 15. saatinde hippurik asit tamamen tükenmiştir.

Etanol üretimi inkübasyonun 5. saatinden sonra oluşmaya başlarken asetaldehit ve asetoin de fermentasyon boyunca artmıştır. Asetik asit, propiyonik asit, butirik asit ve diasetil ise belirlenememiştir.

Kefir oluşurken gerçekleşen asit ve alkol fermentasyonları sonucunda, kefirin bileşiminde sütte bulunan temel besin öğelerinin yanında laktik asit, asetaldehit, asetoin, diasetil, asetik asit, karbondioksit ve çok az miktarda etil alkol oluşmaktadır. Buna bağlı olarak kefir çok hafif ekşimsi ve alkol tada ve köpüren bir yapıya sahiptir (Farnworth, 2005).

Karagül-Yüceer ve Güneşer (2010), % 100 inek, % 75 inek + % 25 keçi % 50 inek + % 50 keçi, ve % 100 keçi sütünden ürettikleri kefirlerde gaz kromatografisi kullanarak 14 farklı aroma bileşeni belirlemişlerdir. Bunlardan bazıları diasetil, heptanal, 2-nonanon, asetik asit, metiyonal, butirik asit, hekzanoik asit, 2-feniletanol, furaneoldur (Karagül-Yüceer ve Güneşer, 2010).

2.5.1. Aldehitler

Aldehitler aminoasitlerin katabolizması sırasında, transaminasyon ya da Stecker degradasyonu sırasında meydana gelen geçici bileşiklerdir. Aldehitlerde algılanma eşik değerleri çok düşük düzeydedir. Saf aldehitlerin sudaki çözeltilerinin aroma algılanma eşik değerleri 7-50 ppt, süt yağında 0.04-1 ppm düzeyindedir (Alewijn, 2006).

Düz zincirli aldehitler, aminoasitlerin katabolizması sırasında değil, doymamış yağ asitlerinin β -oksidasyonu ile oluşmaktadır. Asetaldehit, treonin aminoasidinin fermentasyonu sırasında oluşmaktadır (Fox vd., 2000; McSweeney ve Sousa, 2000; Molimard ve Spinnler, 1996).

2.5.2 Alkoller

Alkoller, kefirde gerçekleşen 3 önemli biyokimyasal yolla (proteoliz, lipoliz ve glikoliz) oluşmaktadır. Alkol oluşumunda; aminoasit katabolizması, laktoz

metabolizması, metil ketonların redüksiyonu ve doymamış yağ asitlerinin (linoleik ve linolenik asit) parçalanması etkilidir. Pentoz fosfat metabolik yolu ile oluşan pirüvatın ve laktik asit dahil çeşitli asitlerin heterofermentatif mikroorganizmalar tarafından etil alkole dönüşümü gerçekleşir (Molimard ve Spinnler, 1996). Bu metabolik yol kapsamında bir diğer alkol oluşumu, asetaldehidin asetaldehit dehidrogenaz enzimi vasıtasıyla meydana gelir. Yağ asitlerinin β -oksidasyonu ile oluşan metil ketonların redüksiyonuyla sekonder alkoller oluşmaktadır. Öte yandan, linoleik ve linolenik asitlerin lipoksigenaz ve hidroksiperoksit liyaz enzimlerinin etkisiyle 8 karbonlu doymamış alkoller oluşabilmektedir (Avşar vd., 2011).

Alkoller, aminoasitlerin Ehrlich-Neubauer metabolik yolu veya Strecker parçalanması sonucu oluşan aldehitlerin, alkol dehidrogenaz enzimiyle parçalanması sonucu da oluşabilmektedir. Aminoasitlerin Ehrlich-Neubauer yolu ile parçalanıp alkole dönüşümünde laktik asit bakterilerinin marjinal bir kısmı aktif rol alabildiğinden, alkollerin aminoasit katabolizması sonucu üretiminde daha çok aldehitlerin parçalanması üzerinde durulmaktadır. Strecker parçalanması olarak da bilinen bu metabolik yolda, aminoasitler öncelikle α -ketoasitlere ardından da dekarboksilasyonla aldehitlere dönüşürler. Oluşan aldehitler primer alkollere (redüksiyon) ve asitlere (oksidasyon) dönüşür. Alkollerin oluşumunda aminoasit kaynaklı bir başka metabolik yol da oksido-redüktazların etkisiyle oksidatif deaminasyondur (Molimard ve Spinnler, 1996; Yvon ve Rijnen, 2001; Le Quere ve Molimard, 2002; Curtin ve McSweeney, 2004; Collins vd., 2003; Fox vd., 2000).

2.5.3. Esterler

Esterler, diğer aroma bileşiklerine göre daha kompleks tepkimelerle (esterifikasyon ve alkoliz) oluşan bileşiklerdir. Tepkimeye katılacak alkol (primer ve sekonder) laktoz fermentasyonu ve/veya aminoasit katabolizması sonucu oluşmakta ve eşit molar hacimde asit ve alkolün esterleşme tepkimesi sonucu ester bileşikleri oluşmaktadır (Bosset ve Liardon, 1984).

Ester oluşumunda bir diğer tepkime alkoliz olup, bu da toksik alkollerin yağ asitleri ile esterleşip bir bakıma detoksifiye olmaları sonucu meydana gelen bir ester oluşumudur. Esterlerin oluşumunda, daha doğrusu modifiye edilmelerinde, diğer tepkimeler asidoliz ve transesterifikasyon reaksiyonlarıdır. Çünkü bu tepkimelerde ester yapısında bulunan asidin veya alkolün pozisyon değiştirmeleriyle esterler yeniden yapılandırılmaktadır. Asidoliz tepkimeleriyle ester oluşumu; ester yapısındaki bir alkol kökünün bir başka yağ asidindeki asit kökü ile yer değiştirmesi ile gerçekleşir. Transesterifikasyon tepkimesiyle ester oluşumu ise; iki ester yapısındaki alkol veya asit kökleri arasındaki yer değiştirme biçiminde gerçekleşir (Liu vd., 2004).

Esterleşme reaksiyonlarının gerçekleşmesinde mikroorganizmaların gelişimi, etanol veya diğer alkol sentezleri önemli etkenlerdir (Avşar vd., 2011).

2.5.4. Ketonlar

Ketonlar ve metil ketonlar, ppm ve ppb gibi düşük seviyelerde algılanma eşik değerlerine sahip çeşitli süt ürünlerinin (tereyağı ve mavi - küflü peynir) aromalarından sorumlu maddelerdir. Trigliseridlerin lipazla serbest yağ asitlerine dönüşümü sonrası ağırlıklı olarak fungal veya bakteriyel enzimlerin etkisiyle β -ketoasitler oluşmaktadır. B-ketoasitlerin dekarboksilasyonu ile metil ketonlar oluşmaktadır (Molimardve Spinnler, 1996; McSweeney ve Sousa, 2000; Curioni ve Bosset, 2002; Alewijn, 2006). Metil ketonların oluşumları ortamda bulunan yağ asitleri konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak gelişmektedir. Metil ketonlar daha sonra heterofermentatif bazı laktik asit bakterilerinin (*Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp.) etkisiyle sekonder alkollere dönüşmektedir (Avşar vd., 2011).

Diasetil (2,3- butandion) ve asetoin (3-hidroksi-2-butanon) gibi ketonların oluşumu ise, yağ asidi kaynaklı değildir. Laktoz ve sitrat parçalanması sonucu oluşan pirüvatın yıkılması ile gerçekleşmektedir (Fox vd., 2000; McSweeney ve Sousa, 2000). Pirüvat, asetaldehit-tiyaminpirofosfat (asetaldehit- TPP) kompleksi oluşumundan sonra, α -asetolaktata dönüşür. A-asetolaktat

dekarboksilasyonla diasetile, redüksiyonla asetoine dönüşür (Le-Quere ve Molimard, 2002).

Metil ketonlar genellikle meyvemsi, küfümsü ve çiçeğimsi (2-otanon, 2-nonanon, 2-dekanon, 2-undekanon, 2-tridekanon), küflü peynir (2-heptanon), mantar (1-okten-3-on), portakal çiçeği/çiçeğimsi (asetofenon), toprak (1,5-oktadien-3-on), odunsu (damaskenone), tereyağı (diasetil ve asetoin) gibi kokularla karakterize edilirler (Molimard ve Spinnler, 1996; Sable ve Cottenceau, 1999; Curioni ve Bosset, 2002).

Metil ketonların aroma algılanma eşik değerlerinin (suda), 0.03-3 ppm arasında olduğu belirtilmektedir. Ketonların karışım halindeki algılanma eşik değerleri ppb ile belirlenecek düzeyde olmaktadır (Alewijin, 2006).

2.6.Kefirde Bulunan Aroma Bileşenlerinin Oluşumu

Kefirde fermentasyon sırasında oluşan olaylar şu şekildedir (Yaygın, 1994;Konar ve Şahan, 1989):

1. Laktozdan laktik asit oluşumu (Laktik asit fermentasyonu)

Homofermentatif laktik asit bakterileri salgıladıkları laktaz (β -galaktosidaz) enzimi ile laktozu önce glikoz ve galaktoza parçalarlar, sonra 1 molekül laktozdan 4 molekül laktik asit oluştururlar.

2. Laktozdan etil alkol ve CO₂ oluşumu (Alkol fermentasyonu)

Heterofermentatif laktik asit bakterileri ise özellikle lökonostoklar, laktozu önce glikoz ve galaktoza parçalarlar, sonra glikoz ve galaktozdan laktik asit, karbondioksit, aroma maddeleri, asetoin, diasetil, asetaldehit ve aseton meydana getirirler. Mayalar ise 1 mol glikoz veya galaktozdan 2 mol etil alkol ve 2 mol karbondioksit oluştururlar.

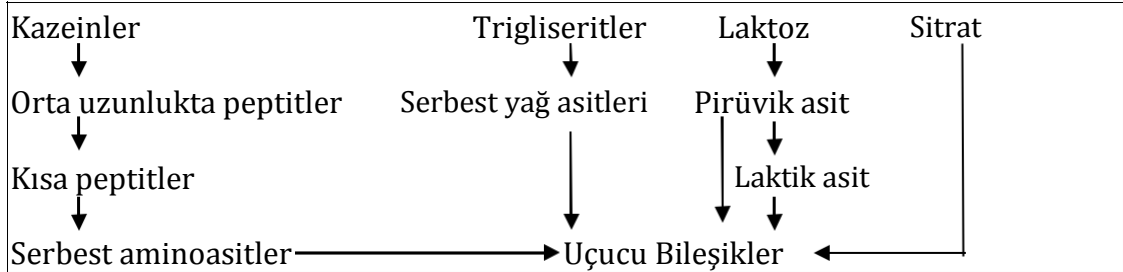
3. Kefire özgü tipik mayayı andırır kefir aroması oluşumu

4. Sınırlı ölçüde proteinin, pepton ve amino asitlere parçalanması

Bazı laktik asit bakterileri, asetik asit bakterileri ve mayaların salgıladıkları proteolitik enzimlerle proteinleri pepton, peptit ve serbest amino asitlere kadar parçalarlar. Bu yüzden kefirde serbest aminoasitlerin miktarı fazla çıkmaktadır.

5. Süt yağındaki değişimler

Mikroorganizmaların oluşturduğu lipaz enzimi ile süt yağından serbest yağ asitleri oluşmaktadır. Kefirde gerçekleşen biyokimyasal olaylar ile uçucu bileşiklerin oluşumu Şekil 2.3'te gösterilmiştir.

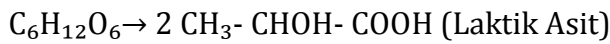


Şekil 2.3. Kefirde uçucu bileşiklerin oluşmasında rol oynayan başlıca biyokimyasal yollar (Law, 1984; Fox vd., 1995)

2.6.1. Laktoz ve sitrat metabolizması

Homofermentatif laktik asit bakterileri glukozu, Fruktoz Di Fosfat (FDP) yolu ile parçalayarak fermentasyon sonucu %95-100 oranında laktik asit üretirler. Bunun yanında az miktarda besi yerinin özelliğine göre formik asit, asetik asit ve etanol oluştururlar. Heterofermentatif laktik asit bakterileri ise, glukozu heksoz monofosfat (HMF) yolu ile parçalayarak fermentasyon sonucu %50 laktik asit üretirken, bunun yanı sıra yüksek oranda etanol, asetik asit, gliserol, mannitol ve fruktoz oluştururlar (Yetişmeyen, 1995; Halkman, 1991; Drinan vd., 1976; Prescott ve Dunn, 1987).

Homofermentatif yol:



Heterofermentatif yol:



Laktik asit bakterileri çok hassas mikroorganizmalardır. Bu bakteriler sütte bulunan laktoz şekerini parçalayarak, galaktoz ve glukoz şekeri oluştururlar

(Tekinşen ve Atasever, 1994). Laktozun glukoz kısmı EMP yolu ile, galaktoz kısmı ise tagatoz-6-fosfat (T6P) yolu ile metabolize olmaktadır (Fox vd., 1995)

Pirüvat, laktoz metabolizmasında ara üründür. Diasetil, asetoin, asetaldehit, 2,3-bütandiol, propiyonik asit, asetik asit, formik asit, etanol gibi bazı lezzet bileşikleri pirüvat metabolizması üzerinden üretilmektedir (McSweeney ve Sousa, 2000)

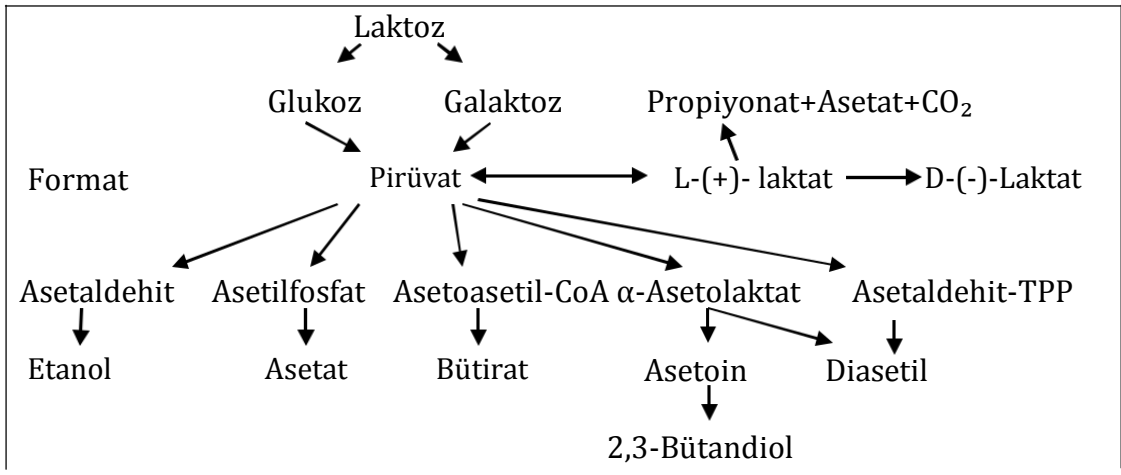
Asetaldehit üretimi için gerekli olan pirüvat, glukozunEMP (Embden-Meyerhof-Parnas) yolunda α -karboksilaz tarafından katalize edilmesiyle sentezlenmektedir. Alternatif olarak, pirüvat dehidrogenaz enziminin etkisiyle oluşan asetil CoA'nın aldehit dehidrogenaz enzimiyle indirgenmesi ile de asetaldehit oluşabilmektedir. Asetat veya asetil CoA'nın indirgenmesi sonucunda aldehit dehidrogenaz enzimi ile asetaldehitin sentezi meydana gelmekte ve alkol dehidrogenaz, asetaldehiti etanole indirgemektedir (Tamime ve Robinson, 2001).

Raya vd. (1986) yaptıkları çalışma sonucunda *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus*'un 4 suşunda fosfoketolaz, alkol dehidrogenaz ve aldehit dehidrogenaz enzimlerini tespit edememiş, az miktarda piruvat karboksilaz enzimi bulmalarına rağmen, asetaldehitin piruvattan oluşmadığını belirtmişlerdir. Tüm suşlarda asetat kinaz ve fosfat asetil transferaz enzimlerinin bulunduğunu gözlemlerken, threonine aldolaz enziminin *S. thermophilus*'da düşük, *L. bulgaricus*'da yüksek miktarda bulunduğunu ve theaninin asetaldehit oluşumunda etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Lactococcus lactis spp. *lactis* biovar *diacetylactis* ve *Leuconostoc cremoris* tarafından oluşturulan diasetil ve asetoinin piruvattan kaynaklandığı belirtilmiştir. Ayrıca, *L. cremoris*'in diasetil üretiminde özellikle *S. lactis* subsp. *diacetylactis* ve/veya *S. cremoris*'in etkili olduğu bildirilmiştir (Kaneke vd., 1987; Petit vd., 1989).

Homofermentatif laktik asit bakterileri heterofermentatif olanlara oranla daha fazla ve hızlı diasetil oluşturmakta; laktik asit bakterileri 18-22 °C' de, 30 °C ve üzerindeki sıcaklık derecelerine oranla daha fazla diasetil üretmektedirler. Ayrıca yüksek pH derecelerine oranla düşük pH'larda daha fazla diasetil oluştuğu belirtilmektedir (Tunail ve Köşker, 1989).

Bottazi ve Dellaglio (1967), *S. thermophilus*' un diğer homofermentatif laktik streptokoklardan daha fazla asetaldehit ve diasetil ürettiğini tespit etmişlerdir. Şekil 2.4'de laktoz metabolizması ile üretilen bazı lezzet bileşikleri gösterilmiştir.

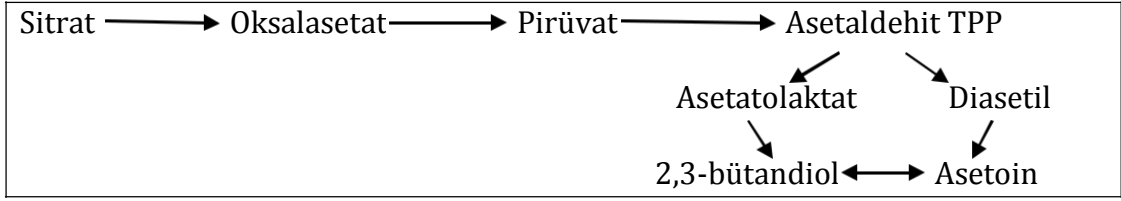


Şekil 2.4. Laktoz metabolizması ve üretilen bazı lezzet (flavor) bileşikleri (McSweeney ve Sousa, 2000)

Sitrat metabolizması birçok süt ürününde lezzet oluşumunda rol oynayan bir diğer önemli reaksiyondur. Sitrat metabolizması, sitrat parçalayıcı geni içeren plazmidin bakteride var olup olmaması ile ilişkilidir (Bandell vd., 1998)

Starrenburg ve Hugenholtz (1991), sitrat ve laktoz fermentasyonunun aynı metabolik yollardan oluştuğunu göstermişlerdir. Her iki fermentasyonda da pirüvat anahtar ara madde olarak kullanılır. Sitratın, sitrat-pozitif (cit⁺) laktik asit bakterileri tarafından kullanımı, spesifik olarak diasetil üretiminde başlıca rol oynar. *Lactococcus lactis* spp. *lactis* biovar *diacetylactis* homofermentatif olarak pirüvatu laktata dönüştürür. Sitrat metabolizması sonucu oluşan başlıca

lezzet maddeleri asetat, diasetil, asetoin ve 2,3-bütandioldür. Şekil 2.5’de laktokok ve lökonostokların sitrat metabolizması gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Laktokoklar ve lökonostoklarda sitrat metabolizması (Starrenburg ve Hugenholtz (1991), Cogan ve Hill(1993), Torino vd. (2005))

2.6.2 Aminoasit katabolizması

Proteoliz kefirde aroma oluşumu için önemli bir biyokimyasal olaydır. Proteoliz süresince kefirde meydana gelen değişimler şunlardır;

1. Kefirde protein matriksinin parçalanması,
2. Bazı acı peptit ve aminoasitlerin oluşumu
3. Aroma maddelerinin oluşumunda rol oynayan serbest aminoasitlerin ortaya çıkması

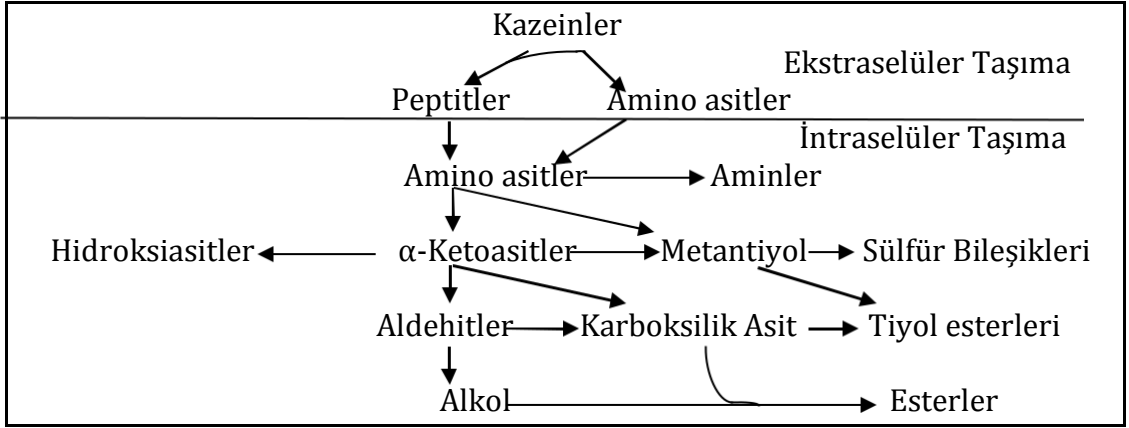
Kefirde proteinlerin parçalanmasında rol oynayan enzimler; danede bulunan mikroorganizmalardan kaynaklanan proteinazlar, peptidazlar veya bu mikroorganizmaların lize olması ile ortama salınan aminopeptidazlar, dipeptidazlar, tripeptidazlardır (Fox ve Wallace, 1997).

Proteolizin son ürünü serbest aminoasitlerdir. Bunlar aromaya direkt olarak katkıda bulunmazlar. Ancak, aroma aktif maddelerin öncül maddesi olarak rol oynarlar(Fox ve Wallace, 1997). Bu nedenle kefirde spesifik lezzeti serbest aminoasitlerin oluşumundan çok bu aminoasitlerin daha ileri düzeyde parçalanarak çeşitli alkollere, aldehitlere, asitlere ve esterlere dönüşümü oluşturur. Bir başka deyişle, kefirin kendine özgü aromasının oluşumu için, yüksek konsantrasyonda aminoasit oluşumu gerekli ancak yeterli değildir. Bu aminoasitler ileri parçalanma ürünlerine kadar katabolize edilmelidir (Yvon ve Rijnen, 2001; Kranenburg vd., 2002).

Yvon ve Rijnen (2001), aminoasitlerin aroma bileşiklerine dönüşümünün iki farklı yol üzerinden meydana geldiğini belirtmektedirler. Birinci metabolik yol eliminasyon olarak adlandırılır. Bu yolda aminolizazlar rol oynamaktadır. Aromatik aminoasitler bu yolda katabolize olurlar ve metiyoninden fenol, indol ve metantiyol oluşumu gerçekleşir. İkinci yol ise transaminasyon olarak adlandırılır. Bu metabolik yol başlıca ara bileşik olan α -ketoasit üzerinden yürür ve aminoasit transferazlar tarafından başlatılır. Aromatik ve dallı zincirli aminoasitler ile metiyonin bu reaksiyona katılır. Meydana gelen α -ketoasit daha sonra aldehitlere, alkollere, karboksilik asitlere, hidroksi asitlere veya birkaç farklı biyokimyasal ile metiyoninden metantiyol oluşumuna neden olur.

Bazı araştırmacılar ise aminoasitlerin parçalanmasının başlıca üç aşamada meydana geldiğini belirtmektedirler (Mc Sweeney ve Sousa, 2000; Kranenburg vd., 2000; Ertekin vd., 2009).

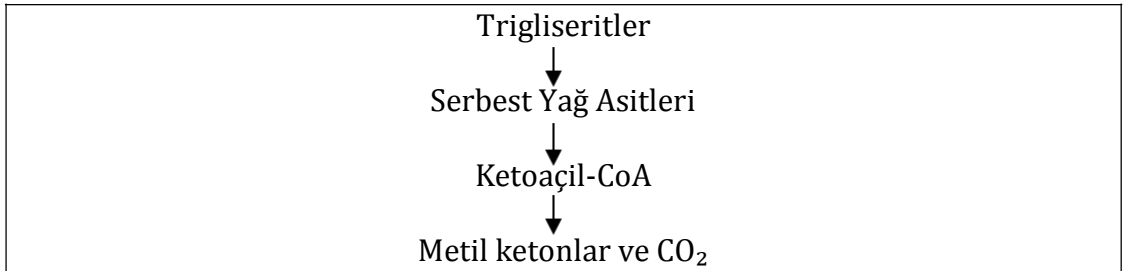
1. Birinci aşamada; aminoasitlerden karboksil grubunun CO_2 olarak uzaklaştırıldığı ve aminlerin olduğu dekarboksilasyon, amino grubunun uzaklaştırılarak α -ketoasitlerin olduğu deaminasyon, serbest bir aminoasitten bir amino grubunun bir α -ketoasit grubuna aktarılması ile oluşan transaminasyon, sülfür içeren aminoasitlerden sülfürün uzaklaştırıldığı desülfirasyon ve aminoasitlerin yan zincirlerinin hidrolizi meydana gelir.
2. İkinci aşamada ise birinci aşamada oluşan aminlerin, α -ketoasitlerin ya da aminoasitlerin deaminaz enzimleri vasıtasıyla aldehitlere dönüşümü gerçekleşir.
3. Son aşamada ise ara (transitory) bileşikler olan aldehitlerin alkollere indirgenmesi veya asitlere oksidasyonu gözlenir. Şekil 2.6'da aminoasit katabolizması ile lezzet bileşiklerinin oluşumu gösterilmiştir.



Şekil 2.6. Aminoasitlerden potansiyel lezzet bileşiklerinin oluşumu (Kranenburg vd., 2000)

2.6.3. Lipitlerin parçalanması

Lipoliz, çeşitli gliseritlerden serbest yağ asitlerinin ortaya çıktığı biyokimyasal bir reaksiyondur. Lipaz enzimi tarafından gerçekleştirilir. Kefirde lipaz enzimi için bulunan çeşitli kaynaklar mevcuttur. Bunlar; sütün doğal lipazı, starter mikroorganizmalardan salgılanan lipazlar, ikincil starter ve starter olmayan mikroorganizmalardan salgılanan lipazlar olarak sıralanabilir. Trigliseritlerden metil ketonların oluşum mekanizması Şekil 2.7’de gösterilmiştir (Molimard ve Spinnler, 1996).



Şekil 2.7. Metil ketonların oluşum yolu (Molimard ve Spinnler,1996).

Muir vd. (1990), yaptıkları çalışmada PCA kullanarak geleneksel kefir, modifiye kefir, yoğurt ve ayranın duyuşal karakterlerini araştırmışlardır. Geleneksel kefir ve ayranın birçok yönden benzer özellik gösterdiğini asidik aromanın diğerlerine göre daha yüksek değerlere sahip olduğunu ancak serum ayrılmasının kefirde yoğun olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada

örneklerdeki organik asitlerin seviyesi belirlenmiştir ve en yüksek etanol içeriğine sahip örneğin geleneksel kefir olduğu bulunmuştur. Laktik asit içeriği de geleneksel kefirde modifiye kefire kıyasla daha yüksek, yoğurda göre daha düşük bulunmuştur.

Simova vd. (2002), yaptıkları çalışmada laktik asit bakterileri ve mayaların bulunduğu kefir danesinden yapılan kefirin lezzet ve aromasını incelemişlerdir. Bu çalışma ile *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*'in kefir danesi mikroflorasına katılımının alkol fermentasyon yoluyla laktoz metabolizması sonucu tipik maya lezzeti ve aroma oluşumunu sağladığını tespit etmişlerdir.

Beshkova vd. (2002) yaptığı bir diğer araştırmada, kefirin yavaş soğutma uygulanarak 10°C'ye kadar olgunlaşmasının esasen maya florasının büyümesini uyarak, kefirde spesifik tadı ve aromayı kazandırdığı belirlenmiştir. *S. cerevisiae* mayasının laktoz-negatif türlerinin, tipik maya lezzetini ve aromasını oluşturmada belirleyici rolde olduğu gözlemlenmiştir.

Beshkova vd. (2003), kefirin depolanması ve fermentasyonu sırasında kefir starter kültürlerinin ve kefir danesinin tek suş tarafından üretilen karbonil bileşiklerinin üretimini çalışmıştır. Kefir starter tarafından üretilen karbonil bileşiklerin içeriğinin, kefir daneleri tarafından üretilenden daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Starter kültüre sahip kefirdeki maksimum asetaldehit konsantrasyonu, esas olarak kefir tanelerinden izole edilen *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un metabolik aktivitesinden kaynaklandığını tespit etmişlerdir. En yüksek diasetil üretim faaliyeti'ni *S. thermophilus*, ardından *L. helveticus* ve *L. lactis* subsp. *lactis*'de kaydetmişlerdir. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *L. helveticus*'un koklarda bulunmayan aseton ürettiğini bulmuşlardır. Karşılaştırıldığında, *L. lactis* subsp. *lactis*'in sentezlediği etil asetatın diğer starter kültürden sentezlenen tek suş kültürüne göre daha aktif olduğunu gözlemlenmiştir. *S. cerevisiae*'in ürettiği CO₂ ve etanol oranının, kefirin özgün lezzet ve aromasını karakterize ettiğini belirtmişlerdir.

Tratnik vd. (2006) yağsız süt tozu, peynir altı suyu proteini konsantresi veya inulin ile güçlendirdikleri inek veya keçi sütünden yaptıkları kefirini incelemişlerdir. 10 günlük depolama süreci boyunca kefirlerdeki asit miktarının stabil kaldığını gözlemlemişlerdir. İnek sütünden üretilen kefirlerle kıyasla keçi sütü kullanılarak üretilen kefirlerin vizkozitesinin daha düşük yoğunlukta olduğunu belirtmişlerdir. Tüm kefir örneklerinde etanol konsantrasyonu düşük bulunmuştur. Ancak en düşük etanol konsantrasyonu inülin takviye edilmiş inek sütünden üretilen kefirde gözlemlenmiştir. Keçi sütünün kefir daneleri ile fermentasyonu, keçi sütüyle ilgili istenmeyen lezzetlerin maskeleymesini sağlamıştır.

Cais-Sokolinska vd. (2008), yaptıkları çalışmada koyun sütünden farklı oranlarda aynı kültürlerle elde edilen kefirleri incelemişlerdir. Depolama süresi arttıkça diasetil içeriğinin arttığını gözlemlemişlerdir. Farklı inkübasyon şartlarının laktoz fermentasyonunu etkilediğini açıklamışlardır. Bu durum da asit miktarını değiştirmiştir. Ancak depolama boyunca kefirlerin titrasyon asitliği değişmemiş ve 6.9°SH olarak kalmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada, fermente içecek ve kefirlerin üretimi için yarım yağlı UHT süt (yağ: % 1.5; pH:6.6, KM: %10) SÜTAŞ Süt Ürünleri A.Ş'den kullanılmıştır. Kefir danesi Danem Süt ve Süt Ürünleri Ltd. Şti (Isparta, Türkiye)'den, eXact KEFİR 2 starter kefir kültürü (*Debaryomyces hansenii*, *Leuconostoc*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus diacetilactis*, *Lactobacillus cremoris*) CHR Hansen (İstanbul, Türkiye)'dan temin edilmiştir.

Standart kültürler liyofilize olarak DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, Almanya)'dan temin edilmiştir. Kültür kodları Çizelge 3.1.'de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan standart kültürler (DSMZ, Almanya)

Mikroorganizma	İzolasyon	Gelişme Ortamı	DSM No	Diğer Koleksiyon No.-WDCM No.	Referans
<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> subsp. <i>kefiranofaciens</i>	Kefir danesi	Medium 456, anaerobik, 28°C Medium 1253, anaerobik, 30°C	5016, tip suşu	ATCC 43761, JCM 6985	Fujisawa vd., 1988
<i>Lactobacillus parakefiri</i>	Kefir danesi	Medium 775, anaerobik, 30°C	10551, tip suşu	IFO 15890, JCM 8573, NBRC 15890	Takizawa vd., 1994
<i>Lactobacillus kefiri</i>	Kefir danesi	Medium 11, 30°C	20587, tip suşu	ATCC 35411, VKM B-2244	Kandler ve Kunath, 1983
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Emzirilen bebek gaitası	Medium 58, anaerobik, 37°C	20456, tip suşu	ATCC 29521, JCM 1255	Orla-Jensen, 1924
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	İnsan	Medium 232, anaerobik, 37°C	20079, tip suşu	ATCC 4356, NCDO1748, NCIB 8690, WDCM 00098	Hasen ve Mocquot, 1970
<i>Lactobacillus casei</i>	Peynir	Medium 11, 30°C	20011, tip suşu	ATCC 393, NCDO 161, WDCM 00100	Hansen ve Lessel, 1971

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan standart kültürler (DSZM, Almanya) (Devam)

<i>Lactobacillus helveticus</i>	Emmantel Peyniri	Medium 11, mikroaerofilik-anaerobik, 37°C	20075, tip suşu	ATCC 15009	Bergey vd., 1925
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	Bulgar Yoğurdu	Medium 11, mikroaerofilik-anaerobik, 37°C	20081, tip suşu	ATCC 11842, NCDO 1489, WDCM 00102	Weiss vd., 1983

3.2. Yöntem

3.2.1. Standart suşlardan ürünlerin üretimi

3.2.1.1. Standart suşların aktifleştirilmesi

L. kefiranofaciens, *L. kefiri*, *L. parakefiri*, *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. bulgaricus*, *L. casei* ve *B. Bifidum* sıvı formda bulunan kültürlerinden 150 µL alınarak içerisinde 10 mL De Man, Rogosa and Sharpe(MRS) – Broth (Neogen®, A.B.D.) bulunan cam deney tüplerine aktarılmıştır. Tüpler anaerobik ortama (anaerocult®) konularak mikroorganizmaların gelişimi için uygun ortam oluşturulmuştur. Tüm mikroorganizmaların ön aktifleştirme işleminde farklı gelişim sıcaklıkları 37°C, 32°C ve 25°C uygulanmıştır. Farklı sıcaklıklarda aktifleştirmede mikroorganizma sayım sonuçları değerlendirilmiştir. Kefir fermentasyon sıcaklığının 25°C olması ve bu sıcaklıkta üretilen aroma ve diğer bileşenlerin karşılaştırılması açısından *L. kefiranofaciens*, *L. kefiri*, *L. parakefiri* ve *L. acidophilus* suşlarının 25°C’de (48 sa) geliştirilmesine karar verilmiştir. *L.helveticus*, *L. bulgaricus*, *L. casei* ve *B.bifidum*kültürleri 32°C ve 25°C’lerde gelişim göstermediği için ön aktifleştirme işlem sıcaklığı 37°C olarak uygulanmıştır.

S. thermophilus suşunun aktifleşmesi için Nutrient-Broth (Merck, Germany) kullanılmıştır. Kültürden 150 µL alınarak içerisinde 10 mL nutrient broth bulunan cam deney tüplerine aktarılmıştır. Aktifleştirme için hazırlanan kültür 37°C’de (48 sa) inkübasyona bırakılmıştır.

K. marxianus suşunun aktifleşmesi için Yeast Extract Peptone Dextrose (YPD)-Broth(LAB M, UK.) kullanılmıştır. Kültürden 150 µL alınarak içerisinde 10 mL YPD broth bulunan cam deney tüplerine aktarılmıştır. Aktifleştirme için hazırlanan kültür 25°C'de (48 sa) inkübasyona bırakılmıştır.

Ön aktifleştirme ile geliştirilen mikroorganizmalar kullanılarak ürün üretimi için gerekli inokülasyon miktarını sağlamak amacıyla ikinci aktifleştirme yapılmıştır. Her mikroorganizma için uygun MRS-broth, Nutrient-broth ve YPD-broth ortamları hazırlanmıştır. Geliştirilen *L. kefiranofaciens*, *L. kefiri*, *L. parakefiri*, *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *B. bifidum*, *S. thermophilus* ve *K. marxianus*'dan 10'ar mL alınarak 90 mL uygun ortama eklenmiştir. Mikroorganizmaların gelişimi için ön aktifleştirmede kullanılan uygun ortam ve sıcaklıkta 48 saat inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.1.2. Ürünlerin elde edilmesi

Aktifleştirilen kültürlerden % 4, 3 ve 2 oranında inokülasyon uygulanarak inokülasyon miktar çalışması yapılmış ve %3 oranın mikroorganizma içereği açısından uygun olduğuna karar verilmiştir. Tüm mikroroganizmalar için fermentasyon sıcaklığı 25°C olarak denenmiştir. Tüm mikroorganizmalar 25 °C'de ürün oluşumunu sağladığı için, 25°C'de fermentasyona bırakılmıştır. Ürünlerin pH kontrolü 15. saatten itibaren düzenli aralıklarla yapılarak, pH 4.7'de fermentasyon sonlandırılmıştır. Ürünlere +4°C'de 1 gün olgunlaştırma uygulanmıştır ve ürünlerin mikrobiyolojik analizleri, kuru madde analizi, titrasyon asitliği ve reoloji analizi yapılmıştır. Organik asit, şeker analizi ve aroma bileşenleri analizleri için ürünlerden alınan örnekler -20°C'de depolanmıştır.

3.2.2. Farklı kültürlerden kefirlerin üretimi

Aktifleştirme işlemi için starter kültür ve dane, içerisinde yarım yağlı UHT süt bulunan steril kavanoza konularak 25°C'de 6 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon tamamlandıktan sonra aktifleşen starter kültür (% 2) ve kefir

danesinde (% 2) yarım yağlı UHT süte inokülasyon yapılmıştır. 25°C'de pH 4.7'de fermentasyon sonlandırılmıştır. Fermentasyon süreci tamamlanan ürünler +4°C'deki buzdolabına alınarak 1 gün olgunlaştırmaya bırakılmıştır. Ardından ürünlerin mikrobiyolojik analizleri, kuru madde analizi, titrasyon asitliği ve reoloji analizi yapılmıştır. Organik asit, şeker analizi ve aroma bileşenleri analizleri için ürünlerden alınan örnekler -20 °C'de depolanmıştır.

3.2.3. Mikrobiyolojik analizler

Örneklerden 1 mL alınarak 9 mL peptonlu su içerisinde 10⁻⁷'ye kadar dilüsyonları hazırlanmıştır. 10⁻⁵, 10⁻⁶ ve 10⁻⁷ dilüsyonlardan steril petrilere 1 mL örnekler aktarılmıştır.

***Lactobacillus* spp. İçeriği:** Hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL örnek, steril petri kutularına pipetlendikten sonra, 45°C' ye kadar soğutulmuş 11 mL MRS agar (Biolife, İtalia) petri kutusuna ilave edilmiş ve 32°C'de 48 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda 30-300 koloni bulunduran petrilere sayım yapılmıştır.

***Streptococcus* spp. İçeriği:** Hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL örnek, steril petri kutularına alınmış ve 45°C' ye kadar soğutulmuş M17 Agar (LAB M, UK.) 'dan 11 mL petri kutusuna dökülmüştür. 37 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 30-300 koloni bulunduran petrilere koloniler sayılarak *Streptococcus* spp. sayısı bulunmuştur.

Maya İçeriği: Hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL steril petri kutularına ilave edilerek, 45°C'ye soğutulan Patato Dextrose Agar (Neogen®, A.B.D.) 11 mL inoküle edilmiştir. 25°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmış ve 30-300 arası gelişme gösteren kolonilerde sayım yapılmıştır.

3.2.4. Kimyasal analizler

3.2.4.1. pH tayini

Örneklerin pH değerleri, pH-metre (Schott Instruments Lab 860, A.B.D.) kullanılarak ölçülmüştür. pH ölçümü öncesinde pH metrenin özel tampon çözeltiler ile kalibrasyonu yapılmıştır. Sonrasında beher içerisine alınan bir miktar kefire prob daldırılarak ölçüm değeri sabitleninceye kadar beklenmiş ve göstergeden okunan sonuç pH değeri olarak kaydedilmiştir.

3.2.4.2. Asitlik tayini

Asitlik tayininde 25 mL örnek, fenol fitalein varlığında 0.25 N NaOH çözeltisi ile titre edilerek; titrasyon sonucunda harcanan miktar kaydedilmiş ve sonuçlar yüzde laktik asit cinsinden hesaplanmıştır (Anonim, 1994).

$$\% \text{ Laktik asit} = (V \times 0.009008 \times F \times 100) / m \quad (3.1)$$

V: Titrasyonda harcanan 0.25 N NaOH miktarı (mL)

F: NaOH faktörü

m: Alınan örnek miktarı (mL)

3.2.4.3. Toplam kuru madde tayini

Örneklerin kuru madde miktarı, hızlı nem tayin cihazında (Shimadzu, MOC63u, Japonya) belirlenmiştir. Cihazın içine her bir numune için ayrı alüminyum plaklar yerleştirilerek, bir pipet yardımıyla alınan 3 ml kefir örneği plak üzerine yayılmış ve cihazın kapağı kapatılarak kurutma işleminin tamamlanması beklenmiştir. İşlem tamamlandığında cihaz ekranından analiz edilen kefir örneğinin rutubet miktarı okunarak, bu değerin 100'den çıkarılması sonucu kuru madde miktarı belirlenmiştir.

3.2.5. Fermente süt ürünlerinin reolojik özelliklerinin llmesi

Bu çalışmada fermente süt ürünlerinin ve kefirlerin reolojik özellikler bakımından karşılaştırmasını yapmak amacıyla Brookfield DV-II Pro LV model viskozimetresi (Brookfield Engineering Laboratories Inc., A.B.D.) küçük örnek adapteri (small sample adapter) ile birlikte kullanılmıştır. Küçük rnek adapteri için SC4-18 spindle u kullanılmıştır. Ölçümlerin bilgisayara kaydedilmesi ve grafiklerin çizilmesi için RHEOCALC® application (Brookfield Engineering Laboratories Inc., A.B.D.) yazılımından yararlanılmıştır. Örnekler alüminyum küvetlere alınmış, SC4-18 spindle daldırılarak ölçümler yapılmıştır. lm için, rnekler 1 RPM ile başlatılıp 6'şar RPM arttırılmış ve 5. sn'de 7 kere ölçüm yapılmıştır. Aynı işlem örnek 1 dakika beklenip, ölçüm tekrarlanmıştır. Bu program ile viskozite, kayma gerilmesi ve deformasyon hızı değerleri tespit edilmiştir. Reolojik akış davranışları yorumlanmıştır.

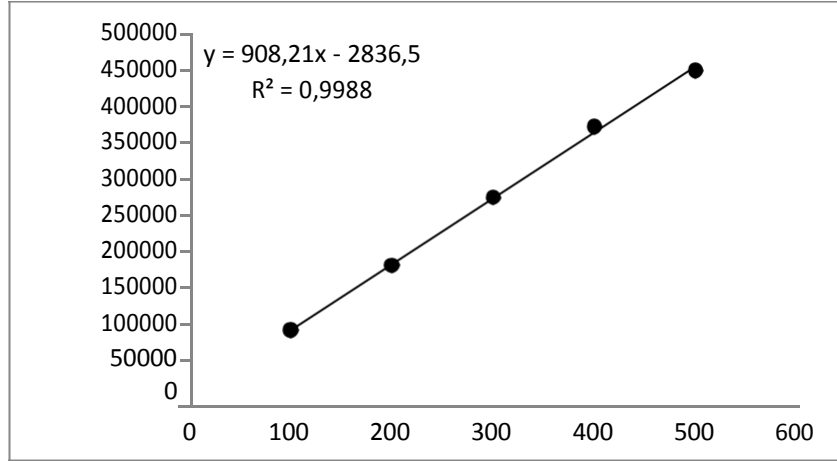
3.2.6. Organik asit tayini

Fermente süt ürünleri ve kefir rnekleri 0.01 N H₂SO₄ ile muamele edilerek 1 dakika boyunca vortekslenip protein kısmı uzaklaştırılmıştır. stte kalan kısım ependorf tüpüne alınmış 10000 rpm, 5 dakika santrifüj edilmiştir. Faz ayrılması gerçekleşen örneklerin orta fazındaki sıvı 0.45 m'lik filtreden geçirilerek cihaza verilmeye uygun hale getirilmiştir.

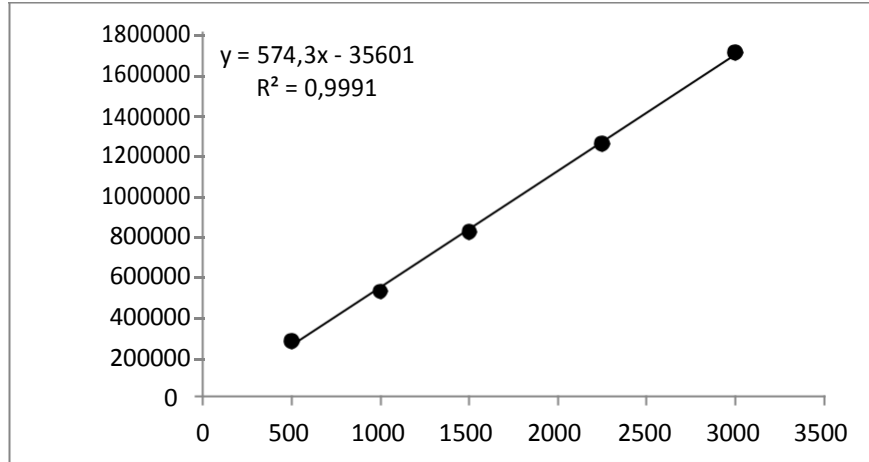
Organik asit tayini, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi cihazı (Shimadzu, Japan) ile gerçekleştirilmiştir. Sistemde, pompa (LC-20AD), UV-Visible dedektör (SPD-20A), kolon fırını (CTO-20A) bulunmaktadır. Analizde Inertsil ODS-3V C18 (GL Sciences Inc.) (250x4.60 mm, 5 m) kolonu ve 4 N NaOH ile pH 3.0'a ayarlanan 5 mM H₂SO₄ zltisi mobil faz olarak kullanılmıştır. Kolon fırını sıcaklığı 30°C'ye, mobil faz akış hızı 1.0 mL/dakikaya ayarlanmıştır. 210 nm dalga boyunda organik asit tayini gerçekleştirilmiştir.

rnek sonuçlarındaki miktarlar göz önünde bulundurularak formik, laktik, asetik ve sitrik asit standart zltileri 50 ppm ile 3000 ppm arasında

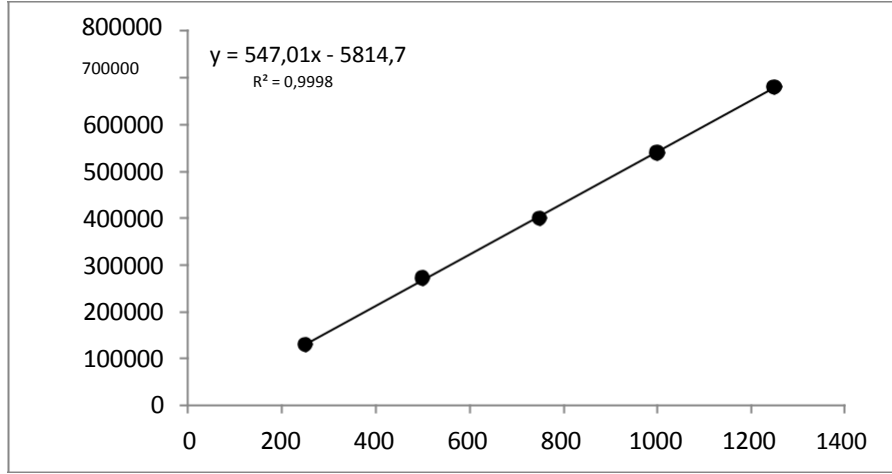
hazırlanarak cihaza enjekte edilmiş ve kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Formik, laktik, asetik ve sitrik asit standart çözeltilerine ait kalibrasyon grafikleri sırasıyla Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3 ve Şekil 3.4’de gösterilmiştir. Organik asit tayininde kullanılan standartlara ait örnek karışım kromatogramı Şekil 3.5’de verilmiştir.



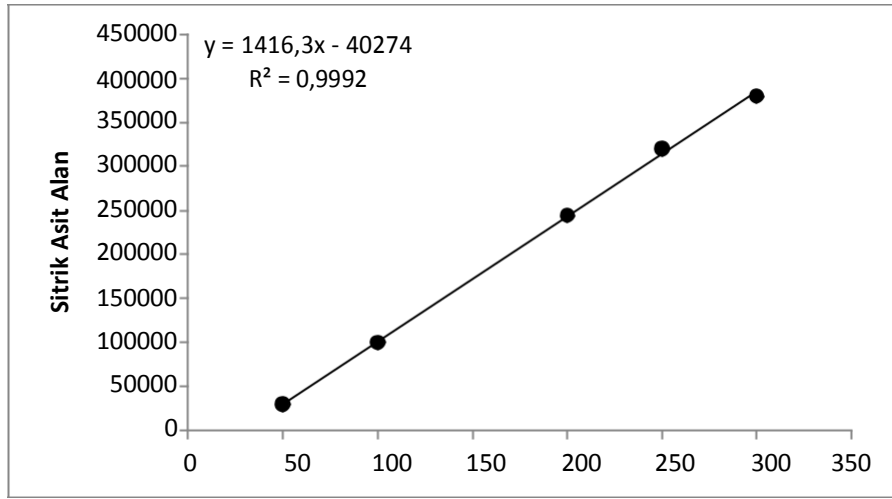
Şekil 3.1. Formik asit kalibrasyon grafiği



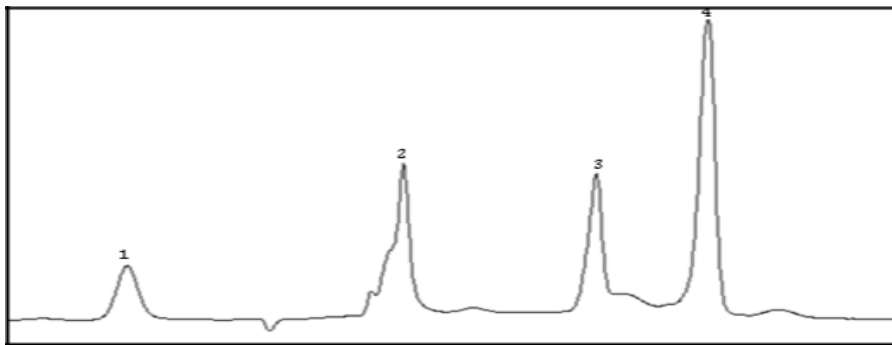
Şekil 3.2. Laktik asit kalibrasyon grafiği



Şekil 3.3. Asetik asit kalibrasyon grafiği



Şekil 3.4. Sitrik asit kalibrasyon grafiği



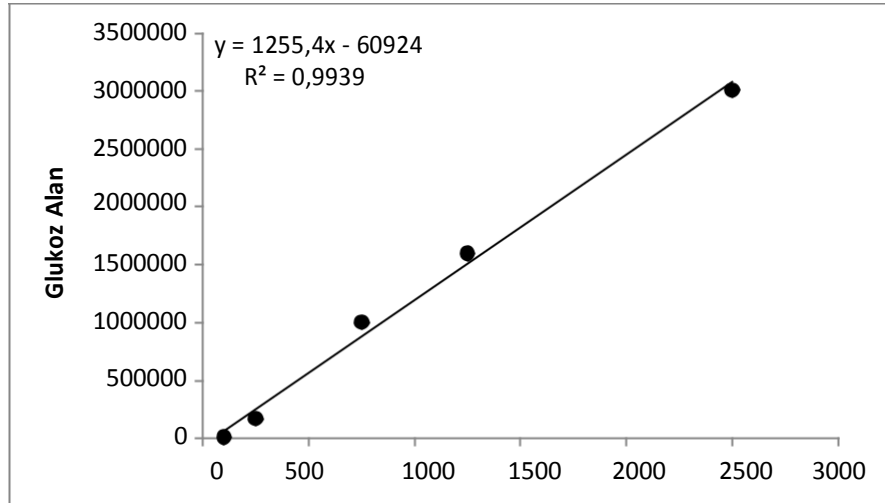
Şekil 3.5. Organik asit tayininde kullanılan standart karışımlarına ait kromatogram (1- Formik Asit, 2- Laktik Asit, 3- Asetik Asit, 4- Sitrik Asit)

3.2.7. Şeker analizi

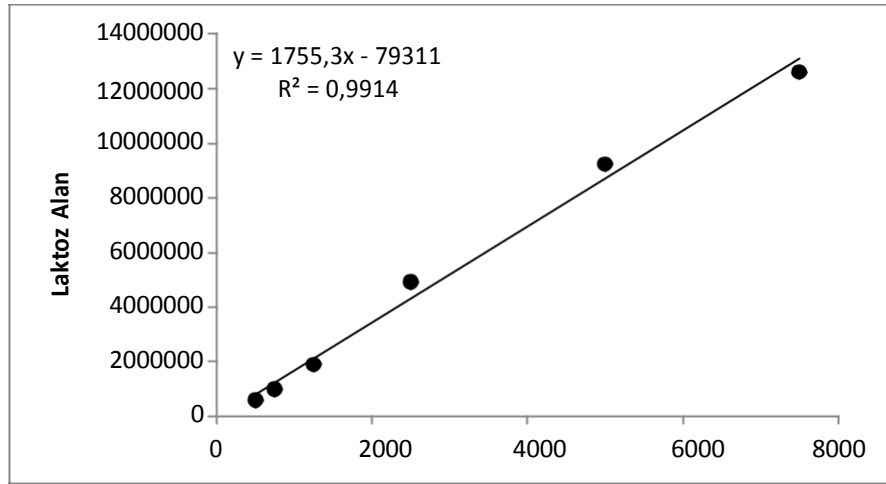
Fermente süt ürünleri ve kefir örnekleri 0.01 N H₂SO₄ ile muamele edilerek 1 dakika boyunca vortekslenip protein kısmı uzaklaştırılmıştır. Üstte kalan kısım ependorf tüpüne alınmış 10000 rpm, 5 dakika santrifüj edilmiştir. Faz ayrılması gerçekleşen örneklerin orta fazındaki sıvı 0.45 µm'lik filtreden geçirilerek cihaza verilmeye uygun hale getirilmiştir.

Karbonhidrat kompozisyonunun belirlenmesi için likit kromatografik yöntem ile HPLC (Shimatzu, Japan) kullanılmıştır. Transgenomic CarboSep COREGEL-87P kolonu, RID (Refraktif İndex Dedektörü), mobil faz olarak 0.8 mL/dakika akış hızında ultra saf su kullanılarak sıcaklık 80°C olarak belirlenmiştir.

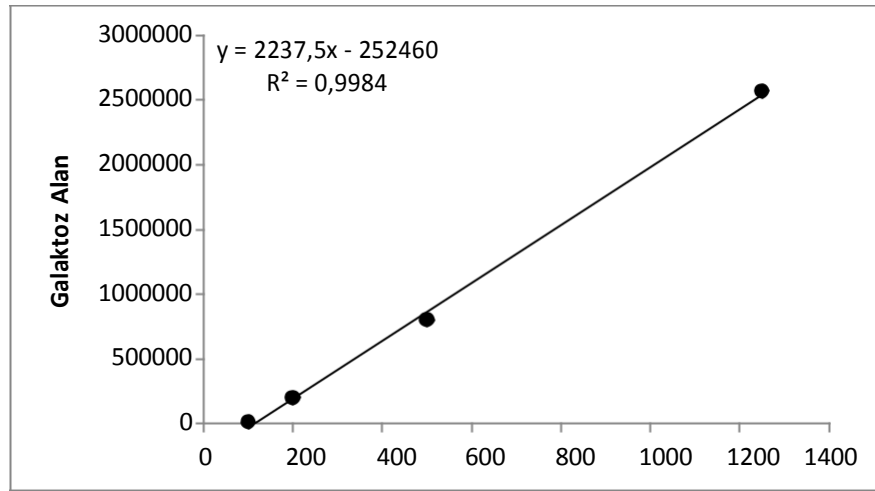
Örnek sonuçlarındaki miktarlar göz önünde bulundurularak glukoz, laktoz, galaktoz standart çözeltileri 100 ppm ile 7500 ppm arasında hazırlanarak cihaza enjekte edilmiş ve kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Glukoz, laktoz, galaktoz standart çözeltilerine ait kalibrasyon grafikleri sırasıyla Şekil 3.6, Şekil 3.7 ve Şekil 3.8'de gösterilmiştir.



Şekil 3.6. Glukoz kalibrasyon grafiği



Şekil 3.7. Laktoz kalibrasyon grafiği



Şekil 3.8. Galaktoz kalibrasyon grafiği

3.2.8. Aroma bileşenleri analizi

Uçucu aroma bileşikleri, Plessas vd (2008) tarafından uygulanan yöntem modifiye edilerek headspace analizi Solid-faz mikroekstraksiyon teknolojisi (SPME) kullanılarak Gaz Kromatografisi-Kütle spektroskopisi (GC-MS) ile belirlenmiştir. SPME analizlerinin her biri örnek 15 ml'lik bir vial alınmış, daha sonra vial 55°C'deki su banyosuna daldırılmış ve SPME elyafı (2 cm-50/30 mm DVD/Carboxen/PDMS Stable Flex Supelco, Bellefonte, PA, USA) 55 dakika headspace işlemine maruz bırakılmıştır. Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra elyaf splitsiz modda 10 dakika uçucuların termal desorpsiyonu için

250°C'ye ayarlanmış gaz kromotografisinin injeksiyon bölümüne yerleştirilmiştir. GC-MS program 40°C'de 1 dakika bekletme, dakikada 7°C'lik artışlarla 100°C'ye ulaşma ve bu sıcaklıkta 5 dakika bekletme, dakikada 2°C artışlarla 180°C'ye ulaşma ve bu sıcaklıkta 1 dakika bekletme, dakikada 15°C artışlarla 250°C'ye ulaşma ve bu sıcaklıkta 4 dakika bekletme olarak belirlenmiştir. Taşıyıcı gaz helyum ve akış oranı 3 mL/dakika olarak uygulanmıştır.

GC'den edilen uçucu bileşiklerin piklerinin tanımlanması ve standart bileşenlerin MS verileriyle karşılaştırılması MS'de yer alan NIST (National Institute of Standards and Technology, Willey Registry of Mass Spectral Data, 7th Edition, FFNSC Library), Wiley ve Aroma (FFNSC, Flavor and Fragrance Natural and Synthetic Compounds) kütüphanelerinden yararlanılarak yapılmıştır.

3.2.9. Fermente ürünlere uygulanan duyuşal analizler

Duyuşal değerdendirmede kullanılan pek çok yöntem bulunmaktadır. Bu çalışmada Tanımlayıcı Analiz Yöntemi kullanılmıştır. Hazırlanan 12 farklı fermente içecek örnekleri 1 gün süreyle 4°C'de depolandıktan sonra 50 mL'lik porsiyonlarda atılabilir bardağa (PET özellikli) konulmuştur. Rastgele 3 haneli numaralarla kodlanan örnekler, ağzı nötürlemek amacıyla üzerinde kraker ve suyun da bulunduğu beyaz bir tepsi içinde, ışığın, kokunun ve sesin ayarlandığı panel odasında 10 paneliste sunulmuştur. Analiz aynı paneliste yarım saat arayla tekrarlanarak 2 paralel olması sağlanmıştır. Panelistlerden fermente içecekleri görünüş, kıvam, koku, tat özellikleri açısından 7 puanlık hedonik skala kullanarak değerdendirmeleri ve bu değerdendirme sonunda ürünleri beğeni durumlarına göre sıralamaları istenmiştir. Bu yöntemde, beyaz renk, köpük oluşumu, serum ayrılması, acıcılık, fermente koku, yanık koku, hayvansal koku, uygun asidik tat, tatlılık, mayamsı tat, meyvemsi tat, metalimsi tat, otumsu tat, çiçeğimsi tat, ferahlatıcı tat gibi kelimeler tanımlayıcı kelimeler olarak tarafımızdan tespit edilmiştir. Duyusal değerdendirme formu Ek. 1'de verilmiştir.

3.2.10. İstatiksel değerlendirme

Bu alışma ön denemeler sonrasında iki tekerrür yapılmış ve tüm analizler her tekerrür için iki paralel olarak düzenlenmiştir. İstatistiksel değerlendirme MINITAB 19 (Trial Version, USA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonuçları tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA)ile incelenmiştir. Örnekler arasındaki farklılıklar Tukey oklu karşılaştırma testi ile ortaya konmuştur.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Standart suşlar iki kere aktifleştirme işlemi uygulanmıştır. Aktifleştirilen kültürler süt ortamında tekrar geliştirilerek ürün adı verilmiştir. Aktifleştirme ve ürünlerin mikroorganizma içerikleri Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Ürünlerin mikroorganizma içeriği için minimum 8 log kob/mL hedef alınmıştır. Ürünlerin mikroorganizma içeriği 8.09±0.46 ile 9.52±0.28 log kob/mL arasında değişmektedir.

Çizelge 4.1.Kültürlerin aktifleştirmelerinin ve ürünlerin mikroorganizma sayım sonuçları

Örnekler (log kob/mL)	1.Akt.*	2.Akt.*	Ürünler
<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> (LKF)	8.85±0.08	7.54±0.06	9.08±0.06
<i>Lactobacillus parakefiri</i> (LP)	9.02±0.02	7.52±0.21	9.08±0.06
<i>Lactobacillus kefiri</i> (LK)	8.38±0.24	8.84±0.02	8.09±0.46
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (LA)	8.65±0.10	8.55±0.03	9.17±0.03
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> (LB)	7.55±0.04	7.99±0.06	9.52±0.28
<i>Lactobacillus casei</i> (LC)	8.87±0.17	8.87±0.08	9.23±0.09
<i>Lactobacillus helveticus</i> (LH)	8.85±0.03	8.52±0.04	8.58±0.15
<i>Bifidobacter bifidum</i> (BB)	8.34±0.35	8.53±0.03	9.16±0.02
<i>Streptococcus thermophilus</i> (ST)	8.12±0.66	7.86±0.22	9.05±0.08
<i>Kluyveromyces marxianus</i> (KM)	8.21±0.17	7.74±0.48	8.83±0.07

*Akt.:Aktifleştirme

4.2. Kimyasal Analiz Sonuçları

Tüm ürünlerde kuru madde, pH, titrasyon asitliği ve fermentasyonu tamamlama süreleri Çizelde 4.2'de verilmiştir. Ürünlerin kuru madde içeriği 9.15±0.03 ile 10.02±0.04 arasında değişmektedir. Daneden tam yağlı süt kullanılarak üretilen kefirin kuru maddesini Ertekin (2008) 10.91, Koca (2016) 8.0- 11.15 olarak tespit etmiştir. Kefir danesi kullanılarak üretilen kefirin pH 4.7'ye ulaşma yani fermentasyon süresi 17 saat olarak belirlenirken, kültürler kullanılarak üretilen ürünlerin fermentasyon süreleri 13 ile 28 saat aralığında değişmektedir.

Çizelge 4.2. Ürünlerin kuru madde, pH, titrasyon asitliği ve inkübasyon süresi

Örnekler	Kuru Madde(%)	pH	Titrasyon Asitliği (%)	Süre
<i>L.kefiranofaciens</i> (LKF)	9.33±0.06	4.69±0.01	1.07±0.00 _{ab}	24
<i>L. parakefiri</i> (LP)	9.15±0.03	4.64±0.00	1.11±0.00 _a	26
<i>L. kefiri</i> (LK)	9.59±0.10	4.67±0.00	1.07±0.00 _{ab}	24
<i>L. acidophilus</i> (LA)	9.70±0.22	4.63±0.01	0.90±0.00 _{abcd}	18
<i>L. bulgaricus</i> (LB)	9.98±0.05	4.63±0.02	0.84±0.00 _{bcd}	25
<i>L. casei</i> (LC)	9.78±0.04	4.64±0.02	0.98±0.00 _{abcd}	20
<i>L. helveticus</i> (LH)	10.02±0.04	4.63±0.06	0.86±0.00 _{bcd}	28
<i>B. bifidum</i> (BB)	9.66±0.32	4.61±0.02	0.82±0.00 _{cd}	16
<i>S. thermophilus</i> (ST)	9.92±0.03	4.68±0.02	0.76±0.00 _d	28
<i>K. marxianus</i> (KM)	9.85±0.04	4.65±0.04	0.79±0.00 _{cd}	16
Dane kefir(DK)	10.02±0.04	4.625±0.01	0.99±0.00 _{abc}	17
Starter kefir(SK)	9.83±0.09	4.585±0.04	1.02±0.00 _{abcd}	13

a-d: Ortak harf içermeyen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır (P<0.05)

Ürünlerin pH 4.7'ye ulaşması ile fermentasyon tamamlanmıştır. Ancak buzdolabına alındıktan sonra pH azalma oranı bazı ürünler için daha hızlı gerçekleşmiştir. Olgunlaştırma sonrasında örneklerin pH değerleri 4.585±0.04 ile 4.69±0.01 arasında değişmektedir. Kefirin pH değerini Kaptan vd (1990) 4.51, Gürsel vd (1990) 3.94-4.04, Garcia Fontan vd (2006) 4.24, Yıldız (2009) 4.63, Uslu, (2010) 4.69, Güzel-Seydim vd (2013) 4.47-4.49, Kök Taş vd (2014) 4.39, Şen (2015) 4.33-4.70, Koca (2016) 4.1-4.95 olarak tespit etmişlerdir.

Olgunlaştırma sonrasında ürünlerin titrasyon asitliği değerleri % 0.76 - 1.11 arasında değişmektedir. Ürünlerin titrasyon asitliğine bakıldığında daneden üretilen kefir ile *S.thermophilus* kültüründen üretilen fermente süt ürünü arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunduğu görülmektedir (P<0.05). Ancak daneden üretilen kefir ile diğer örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (P>0.05). Tebliğde belirtilen titrasyon asitliği kefir için laktik asit cinsinden en az % 0.6 olarak belirtilmektedir (ANONİM, 2009.). Kefirin titrasyon asitliğini % laktik asit cinsinden Ertekin (2008) % 0.79, Kök Taş (2010) % 0.81-0.95, Şen (2015) % 0.69-0.86, Aşçı-Arslan (2015) % 0.65-0.90, Koca (2016) %0.884-0.898 aralığında belirlemiştir.

4.3. Reoloji Analizi Sonuçları

Farklı mikroorganizmalar, ticari starter kefir kültürü ve kefir danesi kullanarak üretilen ürünlerde kayma gerilmesi ve deformasyon hız değerlerine göre akış davranışı belirlenmiştir. Örneklerin 6°C'de 19 rpm'deki viskozite değerleri Çizelge 4.3'te verilmiştir. Değerler 53.0-142.75 mPas aralığında değişmekle birlikte en yüksek viskozite değeri kefir danesinden üretilen kefirde gözlemlenmiştir. En düşük viskozite değeri LP örneğinde tespit edilmiştir. DK ile LKF, LA, BB, SK örnekleri hariç diğer örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($P<0.05$). Literatürde kültürlerin farklı viskozite değerleri vermeleri EPS üretimleriyle açıklanmıştır. Fermente süt ürünlerinde EPS üreten kültürlerin inkübasyon sonunda viskoziteyi arttırdığı ve serum ayrılmasını azalttığı bildirilmektedir (Wacher-Rodarte vd., 1993; Schellhaass ve Morris, 1985; Cerning vd., 1986; Rawson ve Marshall, 1997).

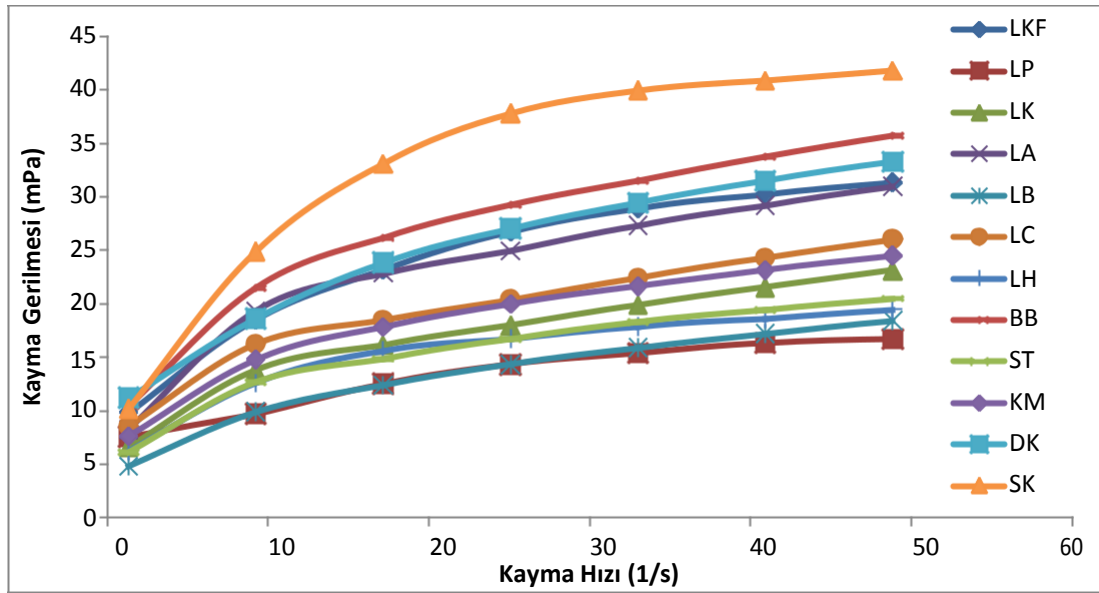
Çizelge 4.3. Örneklerin viskozite değerleri (19 rpm; 6 °C)

Örnekler	Görünür Viskozite (mPa.s)
<i>L.kefiranofaciens</i> (LKF)	106.6 _{abc}
<i>L. parakefiri</i> (LP)	53.0 _c
<i>L. kefiri</i> (LK)	71.67 _{bc}
<i>L. acidophilus</i> (LA)	99.33 _{abc}
<i>L. bulgaricus</i> (LB)	57.11 _c
<i>L. casei</i> (LC)	81.14 _{bc}
<i>L. helveticus</i> (LH)	61.37 _{bc}
<i>B. bifidum</i> (BB)	116.54 _{ab}
<i>S. thermophilus</i> (ST)	66.5 _{bc}
<i>K. marxianus</i> (KM)	79.60 _{bc}
Dane kefir(DK)	142.75 _a
Starter kefir(SK)	107.82 _{abc}

a-c: Ortak harf içermeyen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($P<0.05$)

Koçak (2014) yaptığı çalışmada farklı karbon kaynaklarında geliştirilen kefir danelerinden elde ettiği kefiran yapının reolojik özelliklerini belirlemiştir. Sonuç olarak kefir danesinden elde edilen kefiran yapının fermente süt ürünleri alanında tekstürel özellikleri geliştiren kıvam arttırıcı bir ajan olarak kullanılabileceğini gözlemlemiştir.

Akış davranışının belirlenmesinde çeşitli modeller literatürde önerilmektedir. Bunlar Herschel-Bulkley Modeli, Newtoniyen Modeli, Power Law Modeli ve Bingham Plastik Modelidir. Bu çalışmada ürünlerin reolojik özellikleri belirlemek amacıyla Power Law Modeli kullanılmıştır. Bunun nedeni akışkan tipinin Newtoniyen olmayan akış davranışı göstermesi ve eşik kayma gerilmesinin sıfır olmasından dolayıdır (Joyner ve Daubert, 2017; Penna vd., 2000). Tüm ürünlerin kayma gerilmesi/deformasyon oranlarını gösteren reogram Şekil 4.1.'de görülmektedir.

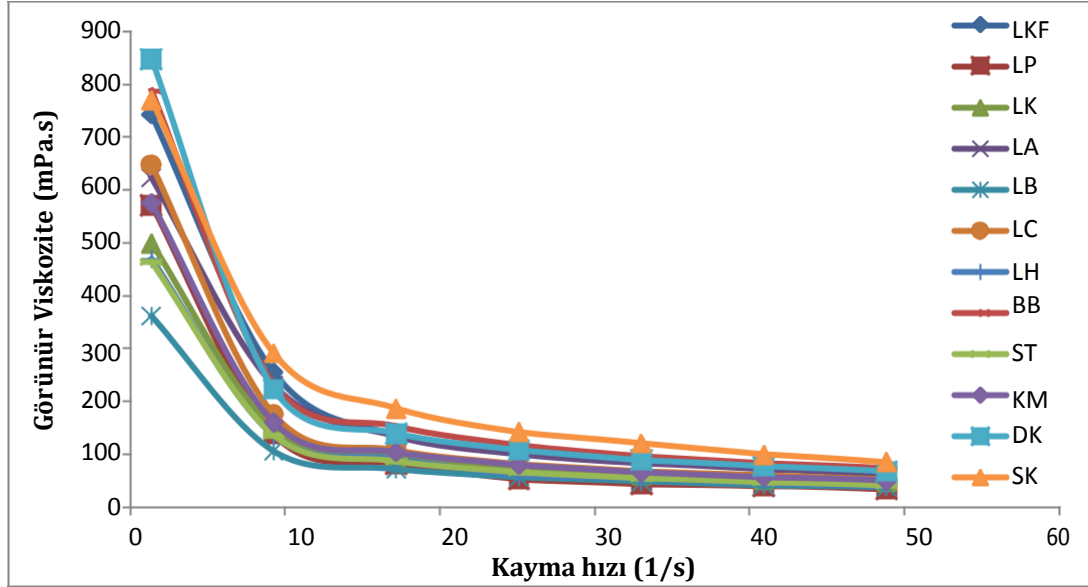


Şekil 4.1. Ürünlerin kayma gerilmesi-kayma hızı reogramı

Akış indeksi (n), Newtoniyen akış tipinde $n=1$ iken, Newtoniyen olmayan akış davranış tiplerinde $n>1$, dilatant akış tipi; $n<1$, pseudoplastik akış olarak değerlendirilmektedir (Bourne, 1982). Power Law Modeline göre $n<1$ olduğu için tüm örneklerin Newtoniyen olmayan akış davranışını gösterdiği ve pseudoplastik sıvılar grubuna girdiği tespit edilmiştir.

Viskozitenin, zamana bağlı olarak hesaplanılan deformasyon hızına oranının hesaplanmasındaki amaç, tüm örneklerde reolojik özellik açısından zamana bağlı akış davranışını tespit etmektir. Bazı sıvılar sabit deformasyon hızı şartları altında zamana bağlı olarak görünür viskozitelerinde artış ve/veya azalış göstermektedirler. Viskozitenin zamana bağlı arttığı durumlar "tikotropik

akış”, azaldığı durumlar ise “repektik akış” olarak tanımlanır. Şekil 4.2. incelenerek, Şekil 4.1.’de deformasyon hızı artarken, viskozite değerleri azaldığı için, ürünlerin tiksotropik özellikte olduğu belirlenmiştir. Ürünlerin görünür vizkozite - kayma hızı reogramı Şekil 4.2.’de verilmiştir.



Şekil 4.2. Ürünlerin görünür viskozite- kayma hızı reogramı

Yılmaz (2006) yaptığı çalışmada farklı kültür kombinasyonu ile üretilen yoğurtların viskozite değerlerini incelemiştir. Sonuç olarak en yüksek viskozite değerini *S. thermophilus*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium ssp.* ve *L. lactis* kültür kombinasyonu ile üretilen üründe, en düşük viskozite değerini ise *L. acidophilus*, *B. lactis* ve *L. casei* kültürleri ile ürettiği fermente süt ürününde gözlemlemiştir.

Sady vd. (2007) yaptığı çalışmada, ticari olarak temin edilebilen kefirlerin duyusal ve fizikokimyasal özelliklerini incelemiştir. Reolojik ve duyusal analiz, tüketicilerin yüksek viskoziteye sahip olmayan kefir tercih ettiklerini, bunun serinletici bir karaktere sahip bir içecek olarak kabul ettiklerini belirtmiştir.

Kezer (2013) kefirde karbonhidrat kaynaklı yağ ikame maddelerinin kullanımının viskoziteyi arttırdığını belirtmiştir. Ünal (2013) yağsız süt kuru maddesi miktarının artmasıyla kefirlerdeki ortalama viskozite değerlerinin yükseldiğini gözlemlemiştir. Garrote vd. (1998), kefirlerin viskozitesinin

depolama sürecinde azaldığını ifade etmiştir. Karagözlü (1990) starter kültür ile üretilen kefirlerle göre daneden elde edilen kefirlerin viskozite değerlerini daha düşük bulmuştur.

4.4. Organik Asit Sonuçları

Ürünlerin laktik, asetik, sitrik ve formik asit içeriği Çizelge 4.4’de verilmiştir. Ürünlerin laktik, asetik, sitrik ve formik asit içeriği sırasıyla 0.574-0.801 g/100mL, 0.425-0.728 g/100mL, 0.046-0.176 g/100mL, 0.116-0.164 g/100mL olarak tespit edilmiştir. Daneden üretilen kefir ve starter kültürden üretilen kefirin laktik asit içeriği ile diğer örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($P>0.05$). Kültürlerden üretilen ürünler laktik asit içeriği olarak kendi aralarında kıyaslandığında LKF, LP, LK ve LC ile ST arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık olduğu görülmektedir ($P<0.05$). Laktik asit içeriğinin diğer örnekler arasında en fazla *L. kefiranofaciens*, en az *S. thermophilus* kültürü ile hazırlanan fermente süt ürününde bulunduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.4. Ürünlerin organik asit içeriği (g/100 ml)

Örnekler (g/100mL)	Laktik Asit	Asetik Asit	Sitrik Asit	Formik Asit
<i>L. kefiranofaciens</i>	0.801±0.028_a	0.425±0.024_c	0.150±0.011 _{ab}	0.138±0.009 _{ab}
<i>L. parakefiri</i>	0.779±0.007 _{ab}	0.442±0.050 _c	0.176±0.001_a	0.140±0.001 _{ab}
<i>L. kefiri</i>	0.757±0.036 _{ab}	0.599±0.030 _{abc}	0.059±0.009 _d	0.131±0.007 _{ab}
<i>L. acidophilus</i>	0.744±0.028 _{abc}	0.543±0.065 _{bc}	0.098±0.035 _{bcd}	0.152±0.015 _{ab}
<i>L. bulgaricus</i>	0.637±0.004 _{abc}	0.523±0.003 _{bc}	0.166±0.001 _a	0.163±0.014 _a
<i>L. casei</i>	0.783±0.066 _{ab}	0.559±0.032 _{abc}	0.068±0.001 _{cd}	0.131±0.011 _{ab}
<i>L. helveticus</i>	0.668±0.016 _{abc}	0.551±0.028 _{abc}	0.125±0.007 _{abc}	0.134±0.006 _{ab}
<i>B. bifidum</i>	0.722±0.044 _{abc}	0.607±0.044 _{abc}	0.166±0.009 _a	0.164±0.009_a
<i>S. thermophilus</i>	0.574±0.044_c	0.594±0.004 _{abc}	0.168±0.012 _a	0.139±0.008 _{ab}
<i>K. marxianus</i>	0.613±0.012 _{bc}	0.652±0.020_{ab}	0.172±0.005 _a	0.161±0.004 _a
Starter kefir	0.725±0.050 _{abc}	0.549±0.054 _{abc}	0.046±0.002_d	0.116±0.007_b
Dane kefir	0.709±0.033_{abc}	0.728±0.037_a	0.047±0.001_d	0.147±0.005_{ab}

a-d: Her organik asit kendi içinde değerlendirilmiş olup ortak harf içermeyen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($P<0.05$)

Daneden üretilen kefirle LA, LB, LP ve LKF fermente ürünlerinin asetik asit miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). En düşük asetik asit miktarları LP ve LKF örneklerinde, en yüksek asetik asit miktarı daneden üretilen kefirde gözlemlenmiştir. Diğer örnekler arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($P>0.05$).

Kefirler en düşük sitrik asit miktarına sahip olmakla beraber LK, LC ve LA örnekleri hariç diğer tüm örneklerle istatistiksel olarak anlamlı farklılığa sahiptirler ($P<0.05$). En yüksek sitrik asit değeri *L.parakefiri* ve *K. marxianus* ile üretilen fermente süt ürünlerinde gözlemlenmiştir.

Örneklerin formik asit miktarları birbirine benzer olarak bulunmuştur. Ancak en düşük formik asit değerine sahip starter kültürden üretilen kefirin LB, BB ve KM fermente ürünleri ile arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık olduğu görülmektedir. ($P<0.05$).

Akın (1997) yaptığı çalışmada farklı sütler kullanarak asidofiluslu süt ve yoğurt üretmiş ve bu ürünlerdeki organik asit miktarlarını HPLC ile belirlemiştir. İnek sütü kullanılarak *L. acidophilus* kültürüyle hazırlanan asidofiluslu sütte orotik asit miktarı 70 µg/g, sitrik asit miktarı 625 µg/g, pirüvik asit miktarı 79 µg/g, laktik asit miktarı 9060 µg/g, asetik asit miktarı 104 µg/g, hippürik asit miktarı 5 µg/g; *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* kültürleriyle hazırlanan yoğurt örneğinde orotik asit miktarı 63 µg/g, sitrik asit miktarı 497 µg/g, pirüvik asit miktarı 39 µg/g, laktik asit miktarı 8538 µg/g, asetik asit miktarı 65 µg/g, hippürik asit miktarı 3 µg/g bulunmuştur.

Güzel-Seydim vd. (2000a) tarafından yapılan çalışmada 4°C de depolanan kefirin depolanma süreci boyunca organik asitlerdeki (orotik, sitrik, pirüvik, laktik, ürik, asetik, propiyonik, bütirik ve hippürik) değişimi HPLC ile analiz edilmiştir. 0. günde sitrat derişimi 1438 µg/g, pirüvik asit derişimi 18 µg/g, ürik asit miktarı 27 µg/g tespit edilmiştir. Depolama süresince asetik, propionik, bütirik ve hippurik asit tespit edilememiştir.

Turker vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada farklı sütlerden üretilen kefirin organik asit bileşimi, yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) ile analiz edilmiştir. İnek sütünden üretilen kefirde oksalik asit miktarı 169.15 mg/L, malik asit miktarı 145.65 mg/L, laktik asit miktarı 12695.65 mg/L, asetik asit miktarı 11848.55 mg/L, sitrik asit miktarı 762.24 mg/L, süksinik asit miktarı 485.63 mg/L bulunurken keçi sütünden üretilen kefirde oksalik asit miktarı 119.37 mg/L, malik asit miktarı 3082.93 mg/L, laktik asit miktarı 17641.90 mg/L, asetik asit 3831.64 mg/L, sitrik asit miktarı 25.44 mg/L, süksinik asit miktarı 264.03 mg/L olarak tespit edilmiştir.

Chramostová vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada yetiştirme koşullarının *L. acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. ve *S. thermophilus* suşlarının organik asit (laktik, asetik ve formik) üretimine etkisi belirlenmiştir. Çalışmada belirlenen optimum sıcaklık (37°C) ve inkübasyon süresinde (17 saat) toplam organik asit miktarları *Lactobacillus acidophilus*'un 79.47 mg/100g, *Bifidobacterium* spp.'un 107.10 mg/100g, *S. thermophilus*'un 133.50 mg/100g olarak tespit edilmiştir.

4.5. Şeker Analizi Sonuçları

Ürünlerin glikoz, laktoz ve galaktoz içeriği Çizelge 4.5'de verilmiştir. Ürünlerin glikoz miktarı 0.453 ± 0.180 ile 1.047 ± 0.039 g/100mL arasında değişmektedir ve ürünler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($P > 0.05$). En yüksek glikoz değeri *L. kefiranofaciens* kültürü ile üretilen fermente üründe bulunurken en düşük glikoz değeri *L. casei* kültürü kullanılarak üretilen fermente üründe görülmektedir.

Çizelge 4.5. Ürünlerin şeker kompozisyonları ve miktarları (g/100ml)

Örnekler (g/100mL)	Glikoz	Laktoz	Galaktoz
<i>L. kefiranofaciens</i> (LKF)	1.047±0.039_a	2.692±0.132 _a	0.190±0.013 _{abc}
<i>L. parakefiri</i> (LP)	0.634±0.278 _a	2.657±0.551 _a	0.107±0.007 _{bc}
<i>L. kefiri</i> (LK)	0.783±0.067 _a	2.531±0.271 _a	0.213±0.016 _{ab}
<i>L. acidophilus</i> (LA)	0.674±0.098 _a	1.963±0.322 _a	0.124±0.008 _{bc}
<i>L. bulgaricus</i> (LB)	0.672±0.333 _a	1.867±0.617 _a	0.276±0.069_a
<i>L. casei</i> (LC)	0.453±0.222_a	1.704±0.351_a	0.093±0.003_c
<i>L. helveticus</i> (LH)	0.453±0.180_a	2.151±0.393 _a	0.118±0.007 _{bc}
<i>B. bifidum</i> (BB)	0.456±0.207 _a	1.878±0.361 _a	0.103±0.004 _{bc}
<i>S. thermophilus</i> (ST)	0.592±0.258 _a	2.085±0.610 _a	0.184±0.028 _{abc}
<i>K. marxianus</i> (KM)	0.748±0.213 _a	1.811±0.156 _a	0.120±0.006 _{bc}
Starter kefir(SK)	0.861±0.065 _a	3.058±0.111_a	0.160±0.010 _{bc}
Dane kefir (DK)	0.488±0.189_a	2.867±0.192_a	0.106±0.004_{bc}

a-c: Her şeker kendi içinde değerlendirilmiş olup ortak harf içermeyen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır (P<0.05)

Laktoz içeriği en düşük 1.704±0.351 g/100mL değeri ile LC ürünüde tespit edilmiştir. En yüksek laktoz içerikleri kefir örneklerinde bulunmuştur. Örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (P<0.05).

L. bulgaricus kültüründen yapılan fermente süt ürününün galaktoz içeriği ile LK, LKF ve ST hariç diğer örneklerin galaktoz içeriği arasında anlamlı bir farklılık vardır (P<0.05). Örneklerin galaktoz değerleri 0.093±0.003 ile 0.276±0.069 g/100mL arasında değişmektedir. Kefir örnekleri ile LB hariç diğer örnekler arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (P>0.05).

Alm (1982c) tarafından yapılan çalışmada çeşitli fermente süt ürünlerinde glikoz, laktoz ve galaktoz içeriği enzimatik yöntemlerle incelenmiştir. Ortalama laktoz içeriği kefirde 3.5 g/100g, asidofiluslu sütte 2.6 g/100g, yoğurtta 2.4 g/100g; ortalama galaktoz içeriği asidofiluslu sütte 0.70 g/100g, yoğurtta 0.98 g/100g bulunmuş, kefirde bulunamamıştır.

Oktar ve Karagözlü (1992) yaptığı çalışmada farklı ısı işlem görmüş sütlerden üretilen kefirin laktoz miktarını belirlemişlerdir. Steril süt kullanılarak daneden üretilen kefirin laktoz miktarı %2.82, starter kültürden üretilen kefirin laktoz

miktarı %2.97 olarak bulunmuştur. 9 günlük depolama sürecinde laktoz miktarında düşüş gözlemlenmiştir.

Özarslan (2018) yaptığı çalışmada daneden üretilen kefirde bulunan ve birden fazla enzim üretme yeteneğine sahip *K. marxianus*'un β -galaktosidaz üretimi boyunca fermentasyon ortamında laktoz, glukoz ve galaktoz konsantrasyonlarında meydana gelen değişimi yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak tespit etmiştir. Fermentasyonun başında ortamda bulunan laktozun fermentasyon boyunca kullanılarak 60. saatte en düşük konsantrasyona ulaştığını gözlemlemiştir. Fermentasyonun başında tespit edilemeyen glukozun, 36. saatte en yüksek konsantrasyona ulaştığını ve daha sonra giderek azaldığını belirtmiştir. Galaktozun ise 24. saatten sonra tamamen tüketildiğini tespit etmiştir.

Güler vd. (2019) yaptıkları çalışmada daneden üretilen kefire yoğurt kültürü ekleyip süzerek elde ettikleri ürünün karbonhidrat (glukoz, laktoz ve galaktoz) içeriğini analiz etmişlerdir. Üründeki toplam karbonhidrat miktarı 1. günde 3.59 ± 0.32 g/100g olarak bulunmuştur. 14 günlük depolama sürecinde laktoz ve glukozda azalma, galaktoz miktarında artma gözlemlenmiştir. Ancak 21. ve 28. günler arasında laktoz ve glukoz miktarı değişmezken galaktoz tespit edilememiştir.

4.6. Aroma Analizi Sonuçları

Örneklerin aroma bileşenlerinin sonuçları Çizelge 4.6'da verilmiştir. Farklı mikroorganizmalar, ticari starter kefir kültürü ve kefir danesi ile üretilen fermente süt ürünlerinde toplam 62 adet uçucu bileşen belirlenmiştir. Bu bileşenlerden sadece 6 tanesi tüm ürünlerde tespit edilmiştir. Bunlar; aldehit grubundan 2-metilbütanal, keton grubundan 2-heptanon, 2-nonanon metil heptil keton ve dekan, alkol grubundan etanol, asit grubundan heksanoik asittir.

Çizelge 4.6. Ürünlerin aroma bileşenleri ve miktarları

Uçucu bileşen ismi (µg/L)	LKF	LP	LK	LA	LB	LC	LH	BB	ST	KM	SK	DK	SÜT
Aldehit													
Asetaldehit	0.27	0.52	0.87	0.21	1.28	-	0.6	1.64	0.4	0.6	0.35	0.23	-
Benzaldehit	0.15	0.39	0.42	0.23	0.13	-	2.68	0.08	0.15	-	0.3	0.41	-
2-Metilbütanal	10.86	3.64	3.37	2.24	5.06	6.1	7.39	0.76	1.26	1.84	0.39	5.39	6.72
İzoveraldehit	-	-	0.04	0.02	0.19	0.06	0.2	0.24	0.36	0.14	0.17	-	-
Heptanal	0.24	-	0.31	-	-	-	-	-	-	0.57	-	-	-
Heksanal	0.21	0.18	0.23	0.09	0.08	-	-	-	-	0.23	0.09	0.05	0.15
Nonanal	1.01	0.44	1.23	0.5	0.29	-	0.5	0.11	0.15	2.11	0.5	0.51	0.82
Oktanal	0.34	0.08	0.23	-	0.11	-	-	-	0.05	0.17	0.1	-	0.16
Keton													
2-Furanon	-	-	0.53	-	0.11	-	-	-	-	-	0.07	0.08	0.13
Diasetil	-	-	-	-	-	-	-	0.14	0.54	-	-	0.68	-
Asetoin	-	-	0.04	0.15	0.29	2.35	0.05	1.1	1.17	0.04	3.94	13.59	0.03
Metil isopropil keton	-	-	-	0.25	0.32	-	-	-	0.5	-	0.96	0.41	-
2-Heptanon	0.23	0.17	0.11	1.31	1.46	3.37	3.47	0.49	1.57	1.14	1.14	2.27	1.42
Metil heptil keton	0.7	0.45	0.1	1	1.71	6.27	3.58	0.5	1.41	0.9	0.69	2.8	1.55
Metil propil keton	-	-	0.18	0.11	-	0.72	0.34	0.06	-	0.41	-	-	-
Aseton	0.07	0.19	-	0.44	0.34	0.27	0.59	0.09	0.3	0.33	-	0.56	0.23
Sülketon	-	-	-	-	-	-	-	-	0.08	0.14	0.08	-	-
Asetil propiyonil	-	-	-	-	-	-	-	-	0.71	-	-	-	-
Dekan	0.54	0.49	0.22	0.32	0.29	0.3	0.43	0.73	0.43	0.46	0.35	0.49	0.83
Dodekan	0.72	0.99	0.36	0.54	0.4	0.46	0.54	1.98	-	0.54	0.57	-	0.61

Çizelge 4.6. Ürünlerin aroma bileşenleri ve miktarları (Devam)

Uçucu bileşen ismi (µg/L)	LKF	LP	LK	LA	LB	LC	LH	BB	ST	KM	SK	DK	SÜT
Keton													
Metil undesil keton	0.12	0.15	-	0.27	0.12	0.14	0.39	0.09	0.4	0.07	0.19	0.41	0.4
Metil nonil keton	0.96	0.3	-	0.87	0.71	1.2	1.16	0.26	1.07	0.68	0.37	1.45	1.09
Oktan	-	0.35	-	-	-	-	-	-	0.12	-	0.1	0.17	-
Alkol													
İzoamil Alkol	0.11	-	0.12	-	0.04	0.07	-	44.42	0.07	2.01	-	0.1	-
Izobütil alkol	-	-	-	-	-	-	-	4.2	-	0.21	-	-	-
Furfuril alkol	0.39	0.87	7.19	0.1	1.84	0.1	0.6	-	-	0.57	1.17	1.44	1.84
Amil metil karbinol	0.63	0.81	1.84	-	-	-	-	-	-	-	0.41	-	-
Feniletil alkol	-	-	-	-	-	-	-	77.68	-	0.33	-	-	-
Kapril alkol	0.51	0.19	0.22	-	-	-	-	0.34	-	-	-	0.06	-
Etanol	43.61	23.51	18.35	0.58	0.24	0.12	0.46	64.07	1.3	3.04	1.02	1.53	0.22
Heksanol	0.15	0.25	0.11	-	-	-	-	0.76	3.64	-	-	-	-
Lauril alkol	0.32	-	-	0.18	-	-	-	-	-	0.11	-	-	0.17
2-Nonanol	0.83	0.62	1.78	-	0.32	-	-	-	-	0.06	0.38	-	-
Asit													
Asetik asit	-	0.68	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.03	-
Bütanoik asit	-	-	0.86	1.02	0.55	-	-	-	0.67	0.35	0.45	0.37	-
Heksanoik asit	11.9	7.67	8.41	10.46	6.41	8.14	11.14	2.96	7.09	6.84	7.52	10.21	-

Çizelge 4.6. Ürünlerin aroma analizi sonuçları (Devam)

Uçucu bileşen ismi (µg/L)	LKF	LP	LK	LA	LB	LC	LH	BB	ST	KM	SK	DK	SÜT
Ester													
Izoamil asetat	-	-	-	-	-	-	-	0.67	-	0.22	-	-	-
Feniletil asetat	-	-	-	-	-	-	-	1.21	-	0.38	-	-	-
Etil asetat	0.17	0.36	0.38	-	-	-	-	1.51	-	4.36	-	-	-
Etil bütirat	0.14	-	0.05	-	-	-	-	-	-	0.19	-	-	-
Etil dekanat	-	-	0.8	-	-	-	-	2.1	-	-	-	-	-
Etil kaproat	0.43	0.34	1.2	-	-	-	-	-	-	0.14	-	-	-
Etil oktanat	0.06	-	1.14	-	-	-	-	1.27	-	0.05	-	-	-
Etil kaprilat	0.1	0.17	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-
Terpen													
Mirsen	0.39	0.12	0.07	-	0.19	0.29	0.31	0.02	-	0.03	-	1.13	0.15
D-Limonen	0.41	0.31	0.09	0.06	0.14	0.77	0.46	0.08	0.17	0.05	-	1.19	0.76
Thiol													
3-Metil-2-butanetiol	0.08	0.29	0.1	-	-	-	-	-	-	0.04	-	-	-
Pirazin													
2,5-Dimetilpirazin	-	-	-	-	0.25	0.21	0.35	-	-	-	-	-	-
Metilpirazin	-	-	-	-	0.32	0.21	0.42	-	-	-	-	-	-

Uçucu bileşen miktarı en yüksek BB örneğinde belirlenirken en düşük LA ve SK örneğinde tespit edilmiştir. Örnekler arasında; aldehitlerden asetaldehit ve nonanal LC, ketonlardan metil undesil keton ve metil nonil keton LK, terpenlerden D-limonen SK örneğinde tespit edilemezken diğer tüm örneklerde bulunmaktadır. Asetil propionil sadece ST örneğinde tespit edilmiştir.

Toplam aldehit miktarının en yüksek LKF örneğinde, en düşük SK örneğinde bulunduğu görülmektedir. Benzaldehit en yüksek LH örneğinde bulunmuş, LC ve KM örneklerinde tespit edilememiştir. 2-metilbütanal miktarı en fazla LKF örneğinde 10.86 µg/L olarak, en düşük ise starter kültürden üretilen kefirde 0,39 µg/L olarak tespit edilmiştir.

Örneklerde bulunan toplam keton miktarı 2.11 µg/L ile 23.03 µg/L arasında değişmektedir. Daneden üretilen kefir, örnekler arasında en yüksek keton içeriğine sahiptir. Asetoin miktarı en yüksek daneden üretilen kefirde belirlenirken LKF ve LP örneğinde bulunmadığı gözlemlenmiştir.

BB örneği 191.49 µg/L ile en yüksek alkol içeriğine sahiptir, sıralamayı 46.56 µg/L ile LKF örneği takip etmektedir. İzamil alkol 44.42 µg/L ile en yüksek BB örneğinde belirlenirken LP, LA, LH ve starter kültürden üretilen kefirde bulunmamaktadır. Furfuril alkol en yüksek LK örneğinde 7.19 µg/L olarak bulunmakla birlikte BB ve ST örneklerinde tespit edilememiştir. Fenil alkol BB örneğinde 77.68 µg/L, KM örneğinde 0.33 µg/L olarak belirlenmiştir ve diğer örneklerde bulunmamaktadır. En düşük etanol miktarı LA, LB, LC ve LH örneklerinde tespit edilmiştir.

Toplam asit miktarı 2.96 µg/L ile 11.90 µg/L arasında değişmekle birlikte BB örneği en düşük asit içeriğine sahiptir. Asetik asit sadece LP ve daneden üretilen kefirde bulunmuştur. Hekzanoik asit en yüksek LKF ve LH örneklerinde, en düşük BB örneğinde tespit edilmiştir.

LA, LB, ST ve starter kültürden üretilen kefirde ester belirlenemezken en yüksek ester içeriği BB ve KM örneklerine aittir. Kefirlerde bulunmayan etil asetat en

yüksek KM örneğinde belirlenmiştir. Starter kültür ile üretilen kefirde terpenler bulunmazken daneden üretilen kefirde 2.50 µg/L olarak bulunmuştur. Pirazin sadece LB, LC ve LH örneklerinde belirlenmiştir. Örneklerde lakton tespit edilememiştir. Ürünlerde 2-etil-1-butanol, kaprik asit, kaprilik asit, 4-metil-2-pentil asetat, benzil asetat, benzil benzoat, etil palmitat, 1-p-menten-9-al, δ-dekalakton tespit edilemeyen bileşenlerdir.

Zareba vd. (2014) yaptıkları çalışmada *L. casei* kültürü ile inokülasyondan sonra fermente edilen ve edilmeyen 2 farklı süt ürünü elde ederek bu örneklerin uçucu bileşen profilini headspace katı fazlı mikro ekstraksiyon -gaz kromatografisi – kütle spektrometrisi ile analiz etmişlerdir. *L. casei* kültürü ile fermente edilen süt örneğinin 0. günde pik alan değerleri 2-butanone % 1.49, 2-pentanone % 4.68, 2-heptanone % 6.84, 2-nonanone % 1.45, acetoin % 0.32, ethanol %3.00 olarak bulunmuştur.

Şen (2015), farklı dane ve kültürlerden ürettiği kefirlerin aroma-aktif bileşenlerini incelemiştir. Dane ile üretilen kefirde dimetil sülfür, diasetil, asetik asit, bütirik asit, etil 3-metil bütirat, metiyonal, 1-Okten 3-on, hekzanoik asit tespit edilmiştir. Starter kültür ile üretilen kefirde daneden üretilen kefirde farklı olarak dimetil sülfür, etil 3-metil bütirat, hekzanoik asit saptanamazken homofuraneol bulunmuştur.

Dertli ve Çon (2017), yaptıkları çalışmada farklı bölgelerden toplanan dört kefir danesinin mikrobiyal florasını tanımlayarak bu danelerden üretilen kefirlerin gaz kromatografisi kullanarak uçucu bileşiklerini belirlemişlerdir. İzovalerik asit, etanol, 2-heptanol, 3-metil-1-metanol, benzen etanol, 3-metilbütanal, asetaldehit, karboksilik asit, benzoik asit, karbamik asit, asidik asit, propiyonik asit, bütanoik asit, heksanoik asit, oktanoik asit, dekanolik asit, dodekanoik asit, 1,2-benzendikarboksilik asit dietil ester, 2-hidroksi-izokaproik asit metil ester, asetik asit etil ester, 2-heptanon, 2-bütanon, 2-nonanon, 2,6-dimetil-4-heptanon, dimetil sülfon danelerde tespit edilen uçucu bileşiklerdir.

Dan vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada *L. bulgaricus* kültürüyle üretilen fermente süt ürününün katı-faz mikro-ekstraksiyon (SPME) yöntemi kullanılarak gaz kromatografisi – kütle spektrofotometresi (GC-MS) ile uçucu bileşikleri belirlenmiştir. Fermente süt ürününde 17 karboksilik asit, 14 aldehit, 13 keton, 29 alkol, 8 esterler ve 5 aromatik hidrokarbon bileşiği de dahil olmak üzere toplamda 86 uçucu lezzet bileşiği tanımlanmıştır. Çeşitli uçucu aroma bileşikleri (asetaldehit, 3-metil-butanal, 2-pentenal, heksanal, 2-oktenal, nonanal, 2,3-butandion, asetoin, 2-heptanon, 2-nonanon, formik asit etenil ester) yüksek koku aktivite değerleri (>1) nedeniyle tespit edilmiştir.

Li vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada *S. thermophilus* ile *L. plantarum* veya *B. animalis*'in çeşitli kültür kombinasyonları ile hazırlanan fermente sütlerin Katı Fazlı Mikro Ekstraksiyon-Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (SPME-GC-MS) kullanılarak uçucu bileşenleri analiz edilmiştir. *S. thermophilus* kültürü ile üretilen fermente içecekte 2,3 bütandion %0.52, asetilbenzen %0.46, benzaldehit %2.08, nonanal %0.29, ethanol %0.39, 1-heksanol, 2-etil %4.82, benzilalkol %2.20, 3-pentanol, 2-metil %0.99, toplam hidrokarbon %3.06 olarak tespit edilmiştir.

Zhou vd. (2019) yaptıkları çalışmada *L. helveticus* kültürü ekleyerek ürettikleri yoğurtlarda uçucu aroma bileşiklerini SPME-GC-MS kullanarak tespit etmişlerdir. *L. helveticus* ilaveli yoğurdun bütanoik asit, 3-metilheksadekanoik asit, n-dekanoik asit, propilen glikol, 1-heksanol, süksindialdehit, 2,3-bütandion, metil izobutil keton, benzaldehit, formik asit heptil ester, delta-nonalakton, heksandiamid, N, N'-di-benzoiloksi ve türevlerine sahip olduğu görülmüştür.

4.7. Ürünlerin Duyusal Analiz Sonuçları

Panelistlerden kefirler ve tek suşlu kültürden üretilen fermente içeceklerin görünüş, yapı, koku ve tat özelliklerinin değerlendirilmesi istenmiştir. Görünüş olarak beyaz renk, köpük oluşumu ve serum ayrılması ürünler için uygun kelimeler olarak belirlenmiştir. Beyaz renk için örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($P>0.05$).

Ürünlerin köpük oluşumu değerleri 2.480 ile 6.545 arasında değişmektedir. En yüksek değeri daneden üretilen kefir alırken en düşük değeri LB örneği almıştır. LB örneği ile diğer tüm ürünler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($P<0.05$). LKF örneğinin köpük oluşumu değeri de diğer örneklerden istatistiksel olarak farklıdır ve ikinci en düşük değeri almıştır ($P<0.05$).

Analizimizde serum ayrılması değerinin tam puan (7) alması ayrılmanın gerçekleşmediği anlamına gelmektedir. En yüksek değeri LB ve daneden üretilen kefir almıştır. LP örneği en düşük değeri alarak kefirler ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($P<0.05$). Ürünlerin akıcılık değeri 4.500 ile 6.657 arasında değişmektedir. En yüksek değeri LC örneği ve onu takiben kefirler almıştır. En düşük değeri LB örneği almış ve diğer tüm örnekler ile arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($P<0.05$). Ürünlerin duyuşsal analiz sonuçları Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Ürünlerin duyuusal analiz sonuçları

	LKF	LP	LK	LA	LB	LC	LH	BB	ST	KM	SK	DK	
Görünüş													
Beyaz Renk	6.30±0.13	6.33±0.13		6.38±0.10	6.21±0.12	6.45±0.13	6.68±0.11	6.21±0.17	6.56±0.12	6.69±0.08	6.29±0.13	6.43±0.12	6.55±0.11
Köpük Oluşumu	4.30±0.17	4.67±0.19		5.40±0.21	6.36±0.15	2.48±0.24	5.91±0.12	5.90±0.12	6.06±0.13	5.59±0.17	5.70±0.15	6.32±0.13	6.55±0.15
Serum Ayrılması	6.82±0.08	6.67±0.10	6.86±0.08	6.94±0.04	6.98±0.02	6.92±0.04	6.92±0.04	6.95±0.04	6.87±0.05	6.95±0.04	6.95±0.04	6.97±0.03	
Yapı													
Akıcılık	5.46±0.16	5.51±0.13	5.63±0.18	6.11±0.16	4.50±0.22	6.66±0.08	6.06±0.14	5.92±0.17	5.62±0.18	6.13±0.15	6.27±0.10	6.62±0.12	
Koku													
Fermente	5.48±0.19	5.31±0.18		5.44±0.16	5.44±0.16	4.27±0.17	5.94±0.13	5.59±0.17	5.21±0.16	4.94±0.17	5.09±0.21	6.17±0.14	6.59±0.11
Yanıklı	4.48±0.25	1.54±0.22		4.54±0.26	5.74±0.20	0.90±0.18	1.90±0.22	5.40±0.22	3.25±0.34	2.12±0.23	1.85±0.23	1.00±0.18	0.97±0.17
Meyvemsi	5.18±0.22	4.96±0.24		1.80±0.23	1.59±0.19	1.38±0.20	2.00±0.29	1.57±0.23	0.91±0.20	1.11±0.22	1.19±0.19	1.50±0.21	1.86±0.24
Metalimsi	0.76±0.18	0.80±0.15		1.16±0.20	1.69±0.24	1.81±0.26	0.89±0.15	0.57±0.16	0.50±0.15	0.43±0.14	0.53±0.14	0.41±0.11	0.19±0.06
Hayvansal	1.32±0.21	0.97±0.17	1.48±0.23	1.31±0.20	1.17±0.18	1.50±0.20	0.84±0.18	0.94±0.19	1.15±0.18	0.89±0.17	0.81±0.18	1.19±0.21	
Tat													
Fermente	5.97±0.17	5.94±0.17		5.66±0.18	5.27±0.16	1.68±0.16	6.14±0.11	5.47±0.16	5.37±0.17	4.26±0.20	3.70±0.25	5.86±0.13	6.11±0.16
Uygun Asidik Tat	4.70±0.20	5.41±0.19		5.42±0.19	5.69±0.18	1.64±0.24	5.56±0.18	5.58±0.16	5.78±0.16	1.48±0.23	4.97±0.22	6.11±0.12	6.21±0.18
Tatlılık	4.24±0.21	4.64±0.20		4.32±0.22	5.40±0.20	1.24±0.11	4.58±0.18	5.20±0.16	5.00±0.18	5.40±0.19	4.77±0.18	5.38±0.17	6.03±0.13
Mayamsı	2.69±0.30	4.63±0.18		2.48±0.23	1.61±0.21	0.53±0.14	1.21±0.15	1.42±0.19	2.98±0.30	1.00±0.19	5.07±0.22	5.08±0.22	4.83±0.25
Yanıklı	4.96±0.21	4.38±0.21		5.21±0.22	6.00±0.18	1.44±0.17	2.28±0.19	4.39±0.24	1.89±0.23	1.20±0.27	1.80±0.20	1.24±0.17	0.94±0.16
Meyvemsi	5.35±0.19	4.64±0.25		4.77±0.26	4.65±0.18	0.39±0.09	2.83±0.42	3.05±0.36	1.63±0.21	0.70±0.18	1.17±0.21	1.42±0.23	4.73±0.24
Metalimsi	0.81±0.16	1.67±0.24		1.55±0.25	1.06±0.22	5.41±0.25	0.90±0.20	0.82±0.17	0.58±0.14	0.84±0.21	0.66±0.15	0.43±0.11	0.33±0.08
Hayvansal	1.10±0.18	1.32±0.20		1.57±0.23	1.41±0.25	0.81±0.19	1.22±0.20	0.97±0.17	1.53±0.20	1.31±0.25	1.29±0.20	0.74±0.16	1.19±0.19
Otumsu	1.03±0.17	1.53±0.23		1.33±0.20	1.16±0.19	0.61±0.15	1.00±0.19	0.92±0.17	0.84±0.18	0.74±0.18	1.06±0.18	0.80±0.17	0.74±0.14
Çiçeğimsi	1.25±0.21	4.68±0.25		1.78±0.22	0.93±0.15	0.34±0.09	2.83±0.38	1.35±0.20	0.93±0.19	0.86±0.18	2.55±0.34	1.33±0.19	5.31±0.18
Ferahlatıcı	4.50±0.25	4.71±0.24	4.61±0.22	4.22±0.20	0.18±0.08	4.84±0.20	1.66±0.24	2.25±0.21	1.18±0.19	2.29±0.20	4.66±0.19	6.06±0.16	
Genel Beğeni													
	3.23±0.32	3.85±0.34	4.55±0.32	5.28±0.35	1.28±0.09	4.88±0.35	4.38±0.38	4.68±0.36	2.93±0.26	3.98±0.31	5.38±0.31	6.65±0.36	

Analizde koku özelliği açısından fermente, yanık, meyvemsi, metalimsi ve hayvansal kokular ürünlere uygun tanımlayıcı kelimeler olarak belirlenmiştir. Fermente koku değeri 4.267 ile 6.595 arasında değişmektedir. En yüksek değeri daneden üretilen kefir alırken en düşük değeri LB örneği almıştır. Kefirlere en yakın fermente koku değeri LC örneğine aittir. BB, KM, ST, LB örnekleri ile kefirler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($P<0.05$). Yanık koku değerleri 0.900 ile 5.741 değerleri arasında değişmektedir. En yüksek değeri sırayla LA, LH, LK ve LKF örnekleri almıştır ve diğer örnekler ile arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($P<0.05$). En düşük değerler ise LB ve kefir örneklerine aittir. Meyvemsi koku değerleri en yüksek LKF ve LP örneklerinde bulunmakla birlikte bu örnekler ile diğer örnekler arasında da istatistiksel olarak farklılık bulunmuştur ($P<0.05$). Ürünlerde metalimsi koku istenmeyen bir özelliktir. En yüksek değeri 1.806 ile LB örneği almış ve LA, LK örnekleri hariç diğer tüm örnekler ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($P<0.05$). Daneden üretilen kefir 0.185 ve starter kültürden üretilen kefir 0.412 ile en düşük değerleri almıştır. Ürünlerin hayvansal koku değerleri 0.813 ile 1.500 arasında değişmektedir ve örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($P<0.05$).

Ürünlerin tat özellikleri için fermente, uygun asidik tat, tatlılık, mayamsı, yanık, meyvemsi, metalimsi, hayvansal, otumsu, çiçeğimsi, ferahlatıcı olmak üzere 11 farklı tanımlayıcı kelime belirlenmiştir. Fermente tat değerleri 1.677 ile 6.135 arasında değişmektedir. En yüksek değeri LC örneği ve onu takiben daneden üretilen kefir almıştır. En düşük değer LB örneğine aittir ve diğer tüm örnekler ile arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmuştur ($P<0.05$). LB örneğinden sonraki en düşük değerleri KM ve ST almış bulunmakla birlikte bu örneklerin de diğer tüm örnekler ile arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($P<0.05$).

Örneklerin uygun asitlik tat değerleri 1.485 ile 6.211 arasında değişmektedir. En yüksek uygun asitlik tat değerlerini kefir örnekleri almıştır. ST ve LB örnekleri en düşük değerleri almakla birlikte diğer örnekler ile arasında istatistiksel

olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($P<0.05$). Tatlılık değerini en yüksek 6.028 ile daneden üretilen kefir almıştır. LB örneği ise 1.243 değerini alarak en düşük tatlılık değerini alan örnek olmuştur. LB ile diğer tüm örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($P<0.05$). LB örneğinden sonra en düşük tatlılık değerini alan örnek 4.240 değeri ile LKF örneğidir.

Mayamsı tat değerleri 0.526 ile 5.077 arasında değişmektedir. En yüksek değerleri sırasıyla starter kültürden üretilen kefir, *K. marxianus* kültürü ile üretilen fermente ürün, daneden üretilen kefir ve *L. parakefiri* kültürü ile üretilen fermente ürün almıştır. Bu örneklerin diğer tüm örnekler ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($P<0.05$). Yanıksı tat değerleri 0.939 ile 6.000 arasında değişmektedir. En düşük yanıksı tat değerini daneden üretilen kefir almıştır. En yüksek değeri ise *L. acidophilus* kültürü ile yapılan fermente ürün almıştır. Meyvemsi tat değerleri 0.394 ile 5.348 arasında değişmektedir. En yüksek değerleri sırasıyla LKF, LK, daneden üretilen kefir, LA ve LP almıştır. Bu örnekler ile diğer tüm örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($P<0.05$). En düşük değerleri ise LB, ST, KM ve starter kültürden üretilen kefir almakla birlikte bu örnekler ile diğer tüm örnekler arasında da istatistiksel olarak farklılık bulunmuştur ($P<0.05$).

Metalimsi tat ürünlerde istenmeyen bir özelliktir. En yüksek metalimsi tat değerini 5.409 puanı ile *L. bulgaricus* kültüründen üretilen fermente ürün almıştır ve tüm diğer örnekler ile arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($P<0.05$). LB örneğini takip eden örnek 1.667 puan alan *L. parakefiri* kültürü ile üretilen fermente üründür. En düşük metalimsi tat değerlerini ise kefir örnekleri almıştır. Örneklerin hayvansal tat değerleri 0.735 puan alan LK ile 1.567 puan alan starter kültürden üretilen kefir arasında değişmektedir. Örnekler arasında hayvansal tat değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($P>0.05$).

Örneklerin otumsu tat değerleri ortalama 0,979 ile düşük puan almıştır. 1.528 puan ile en yüksek değeri alan LP ve 0.605 puan ile en düşük değeri alan LB arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($P<0.05$). Diğer

örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($P>0.05$).

Çiçeğimsi tat değerini en yüksek 5.308 puan ile daneden üretilen kefir alırken onu takip eden örnek 4.684 puan alan LP örneğidir. Daneden üretilen kefir ve *L. parakefiri* kültürü ile üretilen fermente ürün ile diğer tüm örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($P<0.05$). En düşük çiçeğimsi tat değerini alan örnek 0.342 puan ile LB örneğidir.

Ferahlatıcı tat, kefirde beklenen ve istenen bir özelliktir. Örnekler arasında da en yüksek ferahlatıcı tat değerini daneden üretilen kefir almıştır ve diğer tüm örnekler ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur. Daneden üretilen kefiri takip eden örnekler sırasıyla 4.839 puan ile LC, 4.714 puan ile LP, 4.655 puan ile starter kültürden üretilen kefir, 4.607 puan ile LK, 4.500 puan ile LKF ve 4.219 puan ile LA örneğidir. Bu örneklerin ferahlatıcı tat puanının birbirine benzer olduğu gözlemlenmiş ve diğer örnekler ile arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($P<0.05$). En düşük puanı alan örnek LB ve onu takiben ST örneğidir.

Panelistlerin örneklere verdiği genel beğeni puanı 0.275 ile 6.457 arasında değişmektedir. En beğenilen ürün daneden üretilen kefir olarak belirlenmiş ve bu örneğin diğer tüm örnekler ile arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($P<0.05$). Starter kültür ile üretilen kefir 4.375 puan ile ikinci sırayı almıştır. Tek suşlu kültürlerden üretilen fermente ürünler arasında en yüksek beğeniyi *L. acidophilus* kültürü ile üretilen fermente süt ürünü almıştır. En düşük genel beğeni puanını LB örneği almış olmakla birlikte diğer tüm örnekler ile arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($P<0.05$).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kefir beslenmede önemli bir yeri bulunan ve beğenilerek tüketilen fermente süt ürünüdür. Kefir danesi kompleks bir yapıya sahiptir ve çeşitlilik gösterir. Bu nedenle kefir danesine ait aroma bileşenleri de farklılık göstermektedir. Kefirde bulunan aroma bileşenleri ve uçucu bileşikler; üretiminde kullanılan sütün bileşenlerine, danenin orjinine ve içinde bulundurduğu mikroorganizmaların çeşidi ve oranına, fermentasyon süresi ve sıcaklığına, depolama sıcaklığı ve süresine göre değişim göstermektedir. Kefirde bulunan aroma maddeleri ile ilgili çok sınırlı çalışma bulunmaktadır. Kefire özgü mikroorganizmaların ayrı ayrı ürettiği aroma bileşenleri ve yolları bilinmemektedir. Bu çalışmada kefire özgü olan on farklı mikroorganizmadan üretilen fermente süt ürünlerinin ve biri daneden diğeri starter kültürden olmak üzere üretilen iki farklı kefir çeşidinin reolojik özelliği incelenmiş organik asit, şeker miktarı ve aroma bileşenleri tespit edilmiştir.

Standart kültürler kullanılarak üretilen ürünlerin mikroorganizma içeriği için minimum 8 log kob/mL hedef alınmıştır. Bu ürünlerin mikroorganizma içeriği 8.09 ± 0.46 ile 9.52 ± 0.28 log kob/mL arasında değişmiştir. Ürünlerin kuru madde içeriği 9.15 ± 0.03 ile 10.02 ± 0.04 arasında bulunmuştur. En yüksek viskozite değeri daneden üretilen kefirde gözlemlenirken en düşük viskozite değeri LP örneğinde tespit edilmiştir. Tüm ürünlerin newtonian olmayan akış tipini gösterdiği ve pseudoplastik sıvılar grubuna dahil olduğu belirlenmiştir. Ürünlerde deformasyon hızı artarken, viskozite değerleri azaldığı için, ürünlerin tiksotropik özellikte olduğu belirlenmiştir.

Laktik asit içeriğinin diğer örnekler arasında en fazla *L. kefiranofaciens*, en az *S. thermophilus* kültürü ile hazırlanan fermente süt ürününde bulunduğu gözlemlenmiştir. En düşük asetik asit miktarları LP ve LKF örneklerinde, en yüksek asetik asit miktarı daneden üretilen kefirde gözlemlenmiştir. Laktoz içeriği en düşük 1.704 ± 0.351 g/100mL değeri ile LC ürünüde tespit edilmiştir. En yüksek laktoz içerikleri kefir örneklerinde bulunmuştur. En yüksek galaktoz değeri *L. bulgaricus* ile üretilen fermente süt ürünüde belirlenmiştir.

Farklı mikroorganizmalar, ticari starter kefir kültürü ve kefir danesi ile üretilen fermente süt ürünlerinde toplam 62 adet uçucu bileşen belirlenmiştir. Bu bileşenlerden sadece 6 tanesi tüm ürünlerde tespit edilmiştir. Bunlar; aldehit grubundan 2-metilbütanal, keton grubundan 2-heptanon, 2-nonanon metil heptil keton ve dekan, alkol grubundan etanol, asit grubundan heksanoik asittir. 2-etil-1-butanol, dekanoik asitkaprik asit, oktanoik asit kaprilik asit, 4-metil-2-pentil asetat, asetik asit fenilmetil ester benzil asetat, benzil benzoat, etil palmitat heksadekanoik asit, etil ester, 1-p-menten-9-al, δ -dekalakton, 5-pentil pentan-5-olide ürünlerde tespit edilemeyen bileşenlerdir. Uçucu bileşen miktarı en yüksek BB örneğinde belirlenirken en düşük LA ve SK örneğinde tespit edilmiştir. Örnekler arasında; aldehitlerden asetaldehit etanal ve nonanal LC, ketonlardan 2,2-dimetildekan, metil undesil keton ve nonil metil keton LK, terpenlerden D-limonen SK örneğinde tespit edilemezken diğer tüm örneklerde bulunmaktadır. Tetradekan sadece BB, 2-nonen-4-on sadece LB, 3-undeken-2-on sadece LC, 2,3-pentandionasetil propionil ve 1-propanol sadece ST, isopropil miristet sadece DK örneğinde tespit edilmiştir. Duyusal olarak standart kültürlerden üretilen fermente ürünler arasında en yüksek beğeniyi *L. acidophilus* kültürü ile üretilen fermente süt ürünü almıştır.

Sonuç olarak kefir danesinde bulunan mikroorganizmanın bazı özellikleri, farklı kültürler ile üretilen kefirlerle karşılaştırılmıştır. Standart mikroorganizmalar kullanılarak üretilen ürünlerde organik asitler, şeker içerikleri ve aroma bileşenlerinin ayrı ayrı yorumlanması ve kefir ile karşılaştırılması ilk kez bu araştırma projesinde gerçekleştirilmiştir. Kefire özgü mikroorganizmalardan elde edilen ürünlerdeki bileşenlerin farklı miktarlarda olduğu gözlemlenmiş ve kefir aromasını etkilediği bu çalışma ile desteklenmiştir. Standart kültürlerden üretilen ürünler ile kefirler arasındaki aroma farklılıkları, mikroorganizmaların sinerjik etkilerinden kaynaklandığını düşündürmektedir. Kefir danesine özgü mikroorganizmaların ayrı ayrı bileşenlerinin hesaplanması ve kefir danesi kullanılarak üretilen kefir ile karşılaştırılarak yorumlanması literatüre katkı sağlamaktadır.

KAYNAKLAR

- Akın, N., 1997. İnek, Koyun ve Keçi Sütlerinden Üretilen Fermente Süt Ürünlerinin Organik Asit Miktarları. Gıda, 22 (1), 35-41.
- Akın, N., 2006. Modern Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi. Damla Ofset. 456 s.
- Akuzawa. R., Surono, I.S., 2002. Fermented milks/Asia. Encyclopediallopedia of Dairy Sciences. Elsevier Science Ltd., 1045.
- Alewijn, M., 2006. The formation of fat-derived flavour compounds during the ripening of Gouda-type cheese. PhD Thesis. Wageningen Universisty. The Netherlands.
- Alm, L., 1982a. Effect of fermentation on L(+) and D(-) lactic acid in milk. Journal of Dairy Science, 65, 515-520.
- Alm, L. (1982b). Effect of fermentation on proteins of Swedish fermented milk products. . Journal of Dairy Science, 65, 1696-1704.
- Alm, L. (1982c). Effect of Fermentation on Lactose, Glucose, and Galactose Content in Milk and Suitability of Fermented Milk Products for Lactose Intolerant Individuals. Journal of Dairy Science, 65 (3), 346-352.
- Alpkent. Z., Demir, M., 2004. Kefir ve Kefirin Sağlık Üzerine Etkileri. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu. 23-24 Eylül. Van.
- Alptekin, D., Uyar, S., 1997. Değişik İnkubasyon Sıcaklıklarının Kefir ve Kefir Danelerinin Kimi Özelliklerine Etkisi Üzerinde Bir Araştırma (Tez). Ege Üniversitesi. Ziraat Fakültesi. Süt Teknolojisi Bölümü.
- Anonim, 1994. TS-1018 Çiğ İnek Sütü Standardı, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 15 s.
- Anonim, 2009. Türk Gıda Kodeksi. Fermente Süt Ürünleri Tebliği. T.C. Resmi Gazete; Sayı: 27143. 16 Şubat 2009
- Angulo, L., Lopez, E., Lema, C., 1993. Microflora present in kefir grains of the Galician region (North-West of Spain). Journal of Dairy Research, 60(2), 263-7.
- Arıhara, K., Toba, T., Adachi, S., 1990. Immunofluorescence microspic studies on distribution of *L. kefiranofaciens* and *L. kefir* in kefir grains. International Journal of Food Microbiology, 11, 127-134.
- Aşçı-Arslan, A., 2015. Üretim Parametrelerinin Kefirin Fizikokimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi ile Üretilen Kefirlerin

Peptid Profilinin Belirlenmesi. Akdeniz Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. 210. Antalya.

Atamer, M., Sezgin, E., Yetişmeyen, A., 1988. Torba Yoğurdunun Bazı Niteliklerinin Araştırılması. Gıda, 13, 283-288.

Atılğan, S., 2018. Kefir Danesi Ve Kefir Starter Kültürü İle Üretilen Kefirlerin *In Vivo* Olarak Probiyotik Potansiyellerinin Qpcr İle Belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. YL. Tezi. 71. Isparta.

Avşar, Y.K., Karagül-Yüceer, Y., Hayaloğlu, A.A., 2011. Peynirde Aroma. Özer. B., Hayaloğlu. A.A. (Ed.). Peynir Biliminin Temelleri (264-284). Sidas Yayınları. 643s. İzmir.

Axelsson, L., 1998. Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects. Salminen S. and von Wright A. (Ed.). Marcel Dekker Inc., 1-72. New York. ABD.

Aydar, K., 1994. Geleneksel fermente süt ürünlerimizin teknolojileri ve raf ömürleri. Seminer. Ankara Üniversitesi. Ziraat Fakültesi. Süt Teknolojisi Bölümü, 29-38.

Aydın, M., 2000. Endodonti. Barış, T. (Ed.), Endodontik mikrobiyoloji (313-391). Alacam Yayın Evi. Ankara.

Bandell, M., Lhotte, M.E., Marty- Teyssset, C., Veyrat, A., Prevost, H., Dartois. V., Divies, C., Konings, W.N., Lolkema, J.S., 1998. Mechanism of the citrate transporters in carbohydrate and citrate cometabolism in *Lactococcus* and *Leuconostoc* species. Applied and Environmental Microbiology, 64, 1594-1600.

Barefoot, S.S., Nettles, C.G., 1993. Antibiosis revisited. Bacteriocins produced by dairy starter cultures. Journal of Dairy Science, 76, 2366-2379.

Barrett, E., Mattarelli, P., Simpson, P.J., O'Toole, P.W., Fitzgerald, G.F., Ross, R.P. Stanton, C., 2011. Culture Media for the Detection and Enumeration of Bifidobacteria in Food Production. In Handbook of Culture Media for Food and Water Microbiology, 199-227.

Beshkova, D.M., Simova, E.D., Frengova, G.I., Simov, Z.I., Dimitrov, Z.P., 2003. Production of volatile aroma compounds by kefir starter cultures. International Dairy Journal, 13, 529-535.

Beshkova, D.M., Simova, E.D., Simov, Z.I., Frengova, G.I., Spasov, Z.N., 2002. Pure Cultures for Making Kefir. Food Microbiology, 19p, 537-544.

Bourne, M., 1982. Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement, 199-245.

- Bosset, J.O., Liardon, R., 1984. The aroma composition of Swiss Gruyere cheese
 II. The neutral volatile componenets. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie*, 17, 359-362.
- Bottazi, V., Dellaglio, F., 1967. Acetaldehyde and diacetyl production by *Streptococcus thermophilus* and other lactic streptococci. *Journal of Dairy Research*, 34, 109-113.
- Cais-Sokolinska, D., Dankow, R., Pikul, J., 2008. Physicochemical and sensory characteristics of sheep kefir during storage. *Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria*, 7, 63-73.
- Cerning, J., Bouillanne C., Desmazeaud, M.J., Landon, M., 1986. Isolation and characterization of exocellular polysaccharide produced by *Lactobacillus bulgaricus*. *Biotechnology Letters*. 8, 625-628.
- Chen, H.C., Wang, S.Y., Chen, M.J., 2008. Microbiological study of lactic acid bacteria in kefir grains by culture-dependent and culture-independent methods. *Food Microbiology*, 25, 492-501.
- Chen, Y.P., Hsiao, P.J., Hong, W.S., Dai, T.Y., Chen, M.J., 2012. *Lactobacillus kefiranofaciens* M1 isolated from milk kefir grains ameliorates experimental colitis *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Dairy Science*, 95, 63-74.
- Chramostová, J., Mošnová, R., Lisová, I., Pešek, E., Drbohlav J., Němečková I., 2014. Influence of Cultivation Conditions on the Growth of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* sp., and *Streptococcus thermophilus*, and on the Production of Organic Acids in Fermented Milks. *Czech Journal of Food Sciences*, 32 (5), 422-429
- Cogan, T.M., Hill, C., 1993. Cheese Starter Culture. Fox, P.F. (Ed.), *Cheese: Chemistry* (193-255). *Physics and Microbiology*. Chapman and Hall. London. 2. Ed.
- Collins, Y.F., McSweeney, P.L.H., Wilkinson, M.G., 2003. Evidence of a relationship between autolysis of starter bacteria and lipolysis in Cheddar cheese during ripening. *Journal of Dairy Research*, 70, 105-113.
- Curioni, P.M.G., Bosset, J.O., 2002. Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatographyolfactometry. *International Dairy Journal*, 12, 959-984.
- Curtin, A.C., McSweeney, P.L.H, 2004. Catabolism of amino acids in cheese during ripening. Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., Cogan, T.M., Guinee, T.P. (Ed.), *Cheese: Chemistry* (435-454). *Physics and Microbiology*. Vol. 1. Elsevier Academic Press. London.

- Daeschel, M. A., 1989. Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. *Food Technology*, 164-167.
- Dayısoylu, K. S., 1997. Çeşitli Laktik Kültür Kombinasyonlarının Yoğurt ve Benzeri Fermente Süt Ürünleri Yapımında Kullanılması ve Elde Edilen Bu Ürünlerin Bazı Özellikleri Üzerine Depolama Sürelerinin Etkisi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora tezi (Yayınlanmamış). 144s.
- Dan, T., Ren, W., Liu, Y., Tian, J., Chen, H., Li, T., Liu, W., 2019. Volatile Flavor Compounds Profile and Fermentation Characteristics of Milk Fermented by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *Frontiers Microbiology* 10:2183. doi: 10.3389/fmicb.2019.02183
- Demirci, M., Şimşek, O., 1997. Süt İşleme Teknolojisi. Hasad Yayıncılık, İstanbul.
- Dertli E., Çon, A.H., 2017. Microbial diversity of traditional kefir grains and their role on kefir aroma. *LWT - Food Science and Technology*, 85, 151-157.
- Dick, M., Costa, T., Gomaa, A., Subirade, M., Rios, A.O., Flores, S.H., 2015. Edible film production from chia seed mucilage: Effect of glycerol concentration on its physicochemical and mechanical properties. *Carbohydrate Polymers*, 130, 198-205.
- Dobson, A., O'Sullivan, O., Cotter, P. D., Ross, P., Hill, C., 2011. High-throughput sequence-based analysis of the bacterial composition of kefir and an associated kefir grain. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters*, 320, 56-62.
- Drinan, D.F., Tobin, S., Cogan, T.M., 1976. Citric acid metabolism in hetero and homofermentative lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 31(4), 481-486.
- Ender, G., Karagözlü, C., Yerlikaya, O., Akbulut, N., 2006. Dünyada ve Türkiye’de Tüketimi Artan Fermente Süt İçecekleri. Türkiye 9. Gıda Kongresi. Bolu.
- Ertekin, B., 2008. Yağlıkame Maddeleri Kullanımının Kefir Kalite Kriterleri Üzerine Etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. YL Tezi. 89. Isparta.
- Ertekin, B., Okur, Ö.D., Güzel-Seydim, Z.B., 2009. Peynirde aminoasit katabolizması ile lezzet bileşenlerinin oluşumu. *Gıda*, 1, 43-50.
- Farnworth, E.R., 1999. Kefir: From Folklore To Regulatory Approval. *Journal of Nutraceuticals Functional & Medical Foods*, 1(4), 57-68.

- Farnworth, E.R., 2005. Kefir- a complex probiotic. Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods, 2(1), 1-17.
- Farnworth, E.R., 2008. Hvebook of Fermented Functional Foods, 2, 89-118.
- Farrow, J.A.E., Collins, M.D., 1984. DNA-base composition. DNA-DNA homology and long chain fatty acids studies on *Streptococcus thermophilus* and *Streptococcus salivarius*. Journal of General Microbiology, 130, 357-362.
- Fonden, R., Mogensen, G., Tanaka, R., Salminen, S., 2000. Culture containing dairy products effect of intestinal microflora human nutrition and health-current knowledge and future perspectives. Bulletin of the International Dairy Federation, 352.
- Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M., McSweeney, P.L.H., 2000. Fundamentals of cheese Science. An Aspen Publication. Gaithersburg. Maryland. 585 p.
- Fox, P.F., Singh, T.K., McSweeney, P.L.H., 1995. Chemistry of Structure/ Function Relationships in Cheese Plenum Pres. Malin, E.L., Tunick, M.H. (Ed.), Biogenesis of flavour compounds in cheese (59-98). New York.
- Fox, P.F., Wallace, J.M., 1997. Formation of flavour compounds. Advances in Applied Microbiology, 45, 17-85.
- Fujisawa, T., Adachi, S., Toba T., Arihara, K., Mitsuoka, T., 1988. *Lactobacillus kefiranofaciens* spp. nov. isolated from kefir grains. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 38, 12-14.
- Garbers, I., Britz, T., Witthuhn, R., 2004. PCR-based denaturing gradient gel Electrophoretic typification and identification of the microbial consortium present in kefir grains. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 20, 687-693.
- Garcia Fontan, M. C., Martinez, S., Franco, I., Ve Carballo, J. (2006). Microbiological and Chemical Changes During The Manufacture of Kefir Made From Cows' Milk, Using A Commercial Starter Culture. International Dairy Journal, 16, 762-767.
- Garofalo, C., Osimani, A., Milanovic, V., Aquilanti, L., De Filippis, F., Stellato, G., 2015. Bacteria and yeast microbiota in milk kefir grains from different Italian regions. Food Microbiology, 49, 123-133.
- Garrote, G.L., Abraham, A.G., De Antoni, G.L., 1998. Characteristics of kefir prepared with different grain: milk ratios. Journal of Dairy Research, 65, 149-154.

- Garrote, G.L., Abraham, A.G., De Antoni, G.L., 2001. Chemical and microbiological characterisation of kefir grains. *Journal of dairy research*, 68, 4, 639-52.
- Gatti, M., Trivisano, C., Fabrizi, E., Neviani, E., Gardini, F., 2004. Biodiversity among *Lactobacillus helveticus* strains isolated from different natural whey starter cultures as revealed by classification trees. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 182-190.
- Giraffa, G., Gatti, M., Rossetti, L., Senini, L., Neviani, E., 2000. Molecular diversity within *Lactobacillus helveticus* as revealed by genotypic characterization. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 1259-1265.
- Gomes, A.M.P., Malcata, F.X., 1999. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological biochemical technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science and Technology*, 10, 139-157.
- Gulitz, A., Stadie, J., Wenning, M., Ehrmann, M.A., Vogel, R.F., 2011. The microbial diversity of water kefir. *International Journal of Food Microbiology*, 151, 284-288.
- Güler, Z., Tekin, A., Dursun A., 2019. Chemical changes in strained dairy product produced with organic milk by using kefir grains and yogurt culture during refrigerated storage. *Akademik Gıda*, 17(3), 306-316.
- Gürsel A., Gürsoy A., Ergül E., Erdoğan N.G., 1990. Sütlerle Uygulanan Farklı Isı İşlemi Koşullarının Kefir Kalitesi Üzerine Araştırmalar, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 14 (1), 166-177.
- Güzel-Seydim, Z.B., Seydim, A.C., Greene, A.K., 2000a. Organic acids and volatile flavor components evolved during refrigerated storage of kefir. *Journal of Dairy Science*, 83, 275-277.
- Güzel-Seydim, Z.B., Seydim, A.C., Greene, A.K., Bodine, A.B., 2000b. Determination of organic acids and volatile flavor substances in kefir during fermentation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13, 35-43.
- Güzel-Seydim, Z.B., Wyffels, J.T., Seydim, A.C., Greene, A.K., 2005. Turkish kefir and kefir grains: microbial enumeration and electron microscobic observation. *International Journal of Dairy Technology*, 58(1), 25-29.
- Güzel-Seydim, Z., Kök-Taş, T., Greene, A.K., 2010. Kefir and koumiss: Microbiology and Technology. In: "Development and Manufacture of Yogurt and Other Functional Dairy Products". 143-164. ISBN 978-1-4200-8207-4.

- Güzel-Seydim, Z.B., Kök-Taş, T., Greene, A.K., Seydim, A.C., 2011. Functional properties of Kefir. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(3), 261-268.
- Güzel- Seydim Z.B., Seydim A.C., Özer B., Kök-Taş T., 2013. Effects of Different Fermentation Parameters on Quality Characteristics of Kefir, *American Dairy Science Association*, 96: 780-789.
- Güzel-Seydim, Z.B., Kök-Taş, T., 2019. Kefir. Anlı, R.E., Şanlıbaba, P., (Ed.) *Fermente Gıdalar* (233-249). Nobel Yayınları, Ankara.
- Halkman, K., 1991. Tarım Mikrobiyolojisi. A.Ü. Ziraat Fak. Yayınları. No:1214. 82s.. Ankara.
- Hamet, M.F., Londero, A., Medrano, M., Vercammen, E., Van Hoorde, K., Garrote, G.L., 2013. Application of culture- dependent and culture-independent methods for the identification of *Lactobacillus kefiranoferiens* in microbial consortia present in kefir grains. *Food Microbiology*, 36, 327-334.
- Hammes, W.P., Vogel, R.F., 1995. The genus *Lactobacillus*. Wood, B.J.B., Holzapfel, W.H. (Ed), *The Genera of Lactic Acid Bacteria* (19-54). Chapman & Hall. London. UK.
- Herve-Jimenez, L., Guillouard, I., Guedon, E., Gautier, C., Boudebbouze, S., Hols, P., Monnet, V., Rul, F., Maguin, E., 2008. Physiology of *Streptococcus thermophilus* during the late stage of milk fermentation with special regard to sulfur amino-acid metabolism. *Proteomics*, 8, 4273-4286.
- Hutkins, R.W., Ponne, C., 1979. Lactose uptake drive by galactose efflux in *Streptococcus thermophilus* evidence or a galactose-lactose antiporter. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(4), 941-944.
- Irigoyen, A., Ortigosa, M., Torre, P., Ibanez, F. C., 2003. Influence of Different Technological Parameters in the Evolution of pH During Fermentation of Kefir. *Milchwissenschaft*, 58, 631-633.
- Irigoyen, A., Arana, I., Castiella, M., Torre, P., Ibanez, F.C., 2005. Microbiological, physicochemical and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chemistry*, 90, 613-620.
- Jones, D., Collins, M.D., 1986. Irregular, nonsporing Gram-positive rods. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E., Holt, J.G. (Ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bakteriology*(1261-1434).Williams and Wilkins Co. Baltimore.
- Joyner H.S., Daubert, C.R., 2017. Rheological Principles for Food Analysis. Nielsen, S.S. (Ed), *Food Analysis*(551-571). Springer International Publishing. 648s. İsviçre.

- Kabak, B., Dobson, A.D.W., 2011. An Introduction to the Traditional Fermented Foods and Beverages of Turkey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 248-260.
- Kandler, O., Kanuth, P., 1983. *Lactobacillus kefir* sp. nov., a component of the microflora of kefir. *Systematic and Applied Microbiology*, 4, 286-294.
- Kaneke, T., Suzuki, H., Takahashi, T., 1987. The effects of metalions on diacetyl production by *Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis* 3022. *Agricultural and Biological Chemistry*, 51(9), 2315-2320.
- Kaptan. N., Gürsel, A., Gürsoy, A., (1990). Inkübasyon Sıcaklığının Kefirin Bazı Nitelikleri Üzerine Etkisi, *Gıda* 15 (5) 291-298 Ankara.
- Karagözlü, C., 1990. Farklı ısı işlem uygulanmış inek sütlerinden kefir kültürü ve kefir danesi ile üretilen kefirlerin dayanıklılığı ve nitelikleri üzerinde araştırmalar. Ege Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. YL Tezi. İzmir
- Karagözlü, C., Kavas, G., 2000. Alkollü fermente süt içecekleri: Kefir ve kırmızın özellikleri ve insan beslenmesindeki önemi. *Gıda*, 6(7), 86-93.
- Karagözlü, C., Dumanoglu, Z., 2011. Türkiye’de Endüstriyel Kefir Tüketiminin Arttırılması: Avrupa’da Yakult Pazarlaması Örneği. *Gıda Teknolojisi Dergisi*, 15(11), 48-51.
- Karagül-Yüceer Y., Güneşer O., 2010. Keçi Sütünün Kefir Üretiminde Kullanılması: Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özellikler. Ulusal Keçicilik Kongresi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Matbaası Terzioğlu Kampüsü. 336 s. Çanakkale.
- Kezer, G., 2013. İnek ve Keçi Sütü Karışımından Yapılan Kefirlerin Fizikokimyasal, Mikrobiyal Ve Duyusal Özellikleri Üzerine Yağ İkame Maddelerinin Etkisi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, YL Tezi, 73s, Samsun.
- Kılıç, S., 2008. Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No: 542. İzmir.
- Kınık, Ö., Akalın, A.S., Gönç, S., 1998. Kefir üretimi ve depolama sırasında organik asitlerin değişimi üzerine bir araştırma. V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu. Geleneksel Süt Ürünleri. Milli Prodüktivite yayınları: 621, 361-368. Ankara.
- Kim, D.H., Jeong, D., Kim, H., Kang B., Chon, J.W., Song, K.Y., Seo, K.H., 2016. Antimicrobial Activity of Kefir against Various Food Pathogens and Spoilage Bacteria. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36(6), 787-790.

- Klupsch, H.J., 1984. Produktverbesserung am Beispiel Kefir. Deutsche Molkerei Zeitung, 15, 466-473.
- Koca, H., 2016. Farklı Kefir Danelerinin Mikrobiyal Dinamiğinin Açığa Çıkarılması. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. YL Tezi. 70. Kahramanmaraş.
- Konar, A., Şahan, N., 1989. İnek, keçi ve koyun sütlerinden üretilen kefirlerin özellikleri ve bu özelliklere olgunlaştırma süresinin etkisi üzerine bir araştırma. Bursa I. Uluslararası Gıda Sempozyumu, 184-187.
- Koroleva, N.S., 1988a. Technology of kefir and kumys, science and technology of fermented milks. Bulletin of the International Dairy Federation, 227.
- Koroleva, P.J., 1988b. Starters for fermented milks, section 4: Kefir and kumys starters. Bulletin of the International Dairy Federation, 227, 35-40.
- Koroleva, N., Robinson, R., 1991. Products prepared with lactic acid bacteria and yeasts. Therapeutic Properties of Fermented Milks, 159-179.
- Korsak, N., Taminiau, B., Leclercq, M., Nezer, C., Crevecœur, S., Ferauche, C., Detry, E., Delcenserie, V., Daube, G., 2015. Short communication: Evaluation of the microbiota of kefir samples using metagenetic analysis targeting the 16S and 26S ribosomal DNA fragments. Journal of Dairy Science, 98, 3684–3689.
- Kök-Taş, T., 2010. Kontrollü atmosfer uygulamasının kefir danesi ve kefir üzerine etkilerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 122 s.
- Kök-Taş, T., Ekinci Y., Güzel-Seydim, Z.B., 2012. Identification of microbial flora in kefir grains produced in Turkey using PCR. International Journal of Dairy Technology, 65, 126-131.
- Kök-Taş, T., İlay, E., ve Öker, A., (2014). Pekmez ve Erik Kullanılarak Üretilen Kefirlerin Bazı Kalite Kriterlerinin Belirlenmesi. Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 2, 86–91 (in Turkish).
- Kranenburg, R.V., Kleerebezem, M., Vlieg, J.V.H., Ursing, B.M., Boekhorst, J., Smit, B.A., Siezen, R.J., 2002. Flavor formation from amino acids by lactic acid bacteria: predictions from genome sequence. International Dairy Journal, 12, 111-121.
- Kurmann, J.A., Rasic, J.L., 1988. Technology of fermented special products. Fermented Milks: Science and Technology. International Dairy Federation Bulletin, 227, 101-109.

- Kurmann, J.A., Rasic, J.L., Kroger, M., 1992. Encyclopedia of Fermented Fresh Milk Products. Published by Van Nostrand Reinhold, 156-161, New York.
- Kurtzman, C.P., Fell, J.W., Boekhout, T., 2011. The yeasts : a taxonomic study. Amsterdam: Elsevier.
- Lane, M.M., Morrissey, J.P., 2010. *Kluyveromyces marxianus*: A yeast emerging from its sister's shadow. Fungal Biology Reviews, 24 (1–2), 17–26.
- Lane, M.M.; Burke, N., Karreman, R., Wolfe, K.H., O'Byrne, C.P., Morrissey, J.P., 2011. Physiological and metabolic diversity in the yeast *Kluyveromyces marxianus*. Antonie van Leeuwenhoek, 100 (4), 507–519.
- Law, B.A., 1984. Davies, F.L., Law, B.A. (Ed.), Advances in the Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk. Elsevier Applied Science Publishers, 187, London.
- Le Quere, J.L., Molimard, P., 2002. Roginsk, H., Fuquay, J.W., Fox, P.F. (Ed.), Cheese Flavour (330-340). Encyclopedia of Dairy Science. Academic Press. London.
- Leite, A.M.O., Mayoa, B., Rachid, C.T., Peixoto, R.S., Silva, J.T. and Paschoalin, V.M., 2012. Assessment of the microbial diversity of Brazilian kefir grains by PCR-DGGE and pyrosequencing analysis. Food Microbiology, 31, 215-221.
- Leite, A.M.O., Miguel, M.A.L., Peixoto, R.S., Rosado, A.S., Silva, J.T. and Paschoalin, V.M.F., 2013. Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage. Brazilian Journal of Microbiology, 44(2), 341- 349.
- Lewus, C.B., Montville, T.J., 1991. Detection of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. Journal of Microbiological Methods, 13 (2), 145-150.
- Li, S., Tang, S., He, Q., Gong, J., Hu, J., 2019. Physicochemical, textural and volatile characteristics of fermented milk co-cultured with *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis* or *Lactobacillus plantarum*. International Journal of Food Science and Technology. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14279>
- Libudzisz, Z., Piatkiewicz, A., 1990. Kefir production in Poland. Dairy Industries International, 55(7), 31-33.
- Liu, J.R., Lin, C.W., 2000. Production of kefir from soymilk with or without added glucose, lactose, or sucrose. Journal of Food Science, 65(4), 716-719.
- Liu, S.Q., Holland, R., Crow, V.L., 2004. Esters and their biosynthesis in fermented dairy products: A review. International Dairy Journal, 14, 923-945.

- Liu, J.R., Wang, S.Y., Chen, M.J., Chen, H.L., Yueh, P.Y., Lin, C.W., 2006. Hypocholesterolaemic effects of milk-kefir and soyamilk-kefir in cholesterol-fed hamsters. *British journal of nutrition*, 95(05), 939-946.
- Lodder, J., Kreger-van Rij, N.J.W., 1952. *The yeasts: a taxonomic study*. North-Holland Publishing Company, 713s, Amsterdam.
- Magalhaes, K.T., de Pereira, G.V., Dias, D.R., Schwan, R.F., 2010. Microbial communities and chemical changes during fermentation of sugary Brazilian kefir. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26, 1241-1250.
- Marshall, V.M., Cole, W.M., 1985. Methods for making kefir and fermented milks based on kefir. *Journal of Dairy Research*, 52, 451-456.
- Marshall, V., 1993. Kefir. In: *Encyclopedia of Food Science and Technology*. Eds: Hui Y. John Wiley & Sons, Chichester, UK.
- McSweeney, P.L.H., Sousa, M.J., 2000. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: a review. *Le Lait*, 80, 293-324.
- Metin, M., 1996. *Süt Teknolojisi*. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları No:33. Bornova. İzmir.
- Metin, M., Tavlaş, B., 1986. Kefir tanesi ve kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin kalitesi üzerine olgunlaşma koşullarının etkisi. *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 4(1), 51-68.
- Miguel M.G.d.C.P., Cardoso, P.G., Lago, L.d.A., Schwan, R.F., 2010. Diversity of bacteria present in milk kefir grains using culture-dependent and culture-independent methods. *Food Research International*, 43(5), 1523-8.
- Molimard, P., Spinnler, H.E., 1996. Review: compounds involved in the flavour of surface mold-ripened cheeses: origins and properties. *Journal of Dairy Science*, 79, 169-184.
- Motaghi, M., Mazaheri, M., Moazami, N., Farkhondeh, A., Fooladi, M.H., Goltapeh, E.M., 1997. Short communication: Kefir production in Iran. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 13, 579-581.
- Muir, D.D., Tamime, A.Y., Wszolek, M., 1999. Comparison of the sensory profiles of kefir, buttermilk and yogurt. *International Journal of Dairy Technology*, 52(4), 129-134.
- Mumcu, Z. N., (1997). Kefirden izole edile bazı laktik asit bakterilerinin metabolik, antimikrobiyal ve plazmid DNA'larının incelenmesi. YL Tezi. Gazi Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara.

- Murphy, G.M., Candan, S., 1984. Comporisan of aerobic growth of *Lactobacillus plantarum* in glucose medium. Archives of Microbiology, 138(1), 4.
- Nalbantoğlu, U., Cakar, A., Dogan, H., Abaci, N., Ustek, D., Sayood, K., 2014. Metagenomic analysis of the microbial community in kefir grains. Food Microbiology, 41, 42-51.
- Nale, Z., 2013. Prebiyotik eklenmiş kefirin püskürterek kurutulması ve ürünün kalite özelliklerinin belirlenmesi. YL Tezi. Akdeniz Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Antalya. 117 s.
- Naser, S.M., Hagen, K.E., Vancanneyt, M., Cleenwerch, I., Swings, J., Tompkins, T.A., 2006. *Lactobacillus suntoryeus* Cachat and Priest 2005 is a later synonym of *Lactobacillus helveticus* (Orla-Jensen 1919) Bergey et al. 1925 (Approved Lists 1980). International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 56, 355-360. doi: 10.1099/ijs. 0.64001-0
- Nielsen, M.S., Martinussen, T., Flambard, B., Sørensen, K.I., Otte, J., 2009. Peptide profiles and angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity of fermented milk products: Effect of bacterial strain, fermentation pH and storage time. International Dairy Journal, 19, 155-165.
- Oktar, E., Karagözlü, C., 1992. Farklı ısı işlem görmüş inek sütlerinden kefir kültürü ve tanesi ile üretilen kefirlerin nitelikleri ve dayanıklılığı üzerine araştırmalar. Gıda, 17(4), 259-265.
- Otsoa, F.L., Rementeria, A., Elgueazabal, N., Garaizar, J., 2006. Kefir: A Symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. Revista Iberoamericana de Micología, 23, 67-74.
- Ötles, S., Cagindi, O.E., 2003. Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. Pakistan journal of nutrition, 2(2), 54-9.
- Ötles, S., Çagindi, Ö., Akçicek, E.S., Cagindi, O., Akcicek, E., 2003. Probiotics and Health. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 4, 369-372.
- Özarslan, S., 2018. Kefir Danesinden İzole Edilen *Kluyveromyces Marxianus*'dan Üretilen B-Galaktosidaz Enziminin Kısmi Saflaştırılması ve Karakterizasyonu. Süleyman Demirel Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. YL. Tezi. 120. Isparta.
- Özden, A., 2008. Diğer Fermente Süt Ürünleri (Biyoyoğurt-Probiyotik Yoğurt). Güncel Gastroenteroloji, 12(3), 169-181.
- Özer, B., 2006. Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi. Sidas Yayınevi. 488. İzmir.
- Özkaya, F.D., Coşansu, S., Ayhan, K., 2015. Her Yönüyle Gıda. Sidas Yayınları, 452s, İzmir.

- Özsoy, İ., Vatansever, F., Orhan, T.Y., Özkarabacak, Ö., 1998. Kefirin *in vivo* Koşullarda Bağırsak Mikroflorası Üzerine Etkisi (Diploma Tezi). Ege Üniversitesi. Ziraat Fakültesi. Süt Teknolojisi Bölümü.
- Penna, A.L.B., Sívieri, K., Oliviera, M.N., 2001. Relation between quality and rheological properties of lactic beverages, *Journal of Food Engineering*, 49(1), 7-13.
- Petit, C., Vilchez, F., Marczak, R., 1989. Formation and stabilization of diacetyl and acetoin concentration in fully grown cultures of *Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis*. *Biotechnology Letters*, 19, 319-323.
- Pintado, M.E., Da Silva, J.A., Fernandes, P.B., Malcata, F.X., Hogg, T.A., 1996. Microbiological and rheological studies on portuguese kefir grains. *International Journal of Food Science Technology*, 31, 15-26.
- Plessas S., Fisher A., Koureta K., Psarianos C., Nigam P., Koutinas A.A., 2008. Application of *Kluyveromyces marxianus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *L. helveticus* for sourdough bread making, *Food Chemistry*, 106, 985-990.
- Powell, J., Witthuhn, R., Todorov, S., Dicks, L., 2007. Characterization of bacteriocin ST8KF produced by a kefir isolate *Lactobacillus plantarum* ST8KF. *International Dairy Journal*, 17(3) 190-198.
- Prescott, C.S., Dunn, G.C., 1987. *Industrial Microbiology*. Published on Distributors, Delhi 882, India.
- Rasic, J.L., Kurman, J.A., 1978. *Yoghurt Technology. Manufacture and Preparation*. D. K-27. 20. Vanlose. Copenhagen.
- Ratnayake, F.P., O'Connell, O., 2011. Fermented Milks Kefir. In: J.W. Fuquay (Ed.). *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Academic Press. pp. 518-524. San Diego. USA.
- Rawson, H.L., Marshall, V.M., 1997. Effect ofropy strains of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* on rheology of stirred yoghurt. *International Journal of Food Science and Technology*. 32, 213-220.
- Raya, R.R., Manca de Nadra, M.C., Ruiz-Holgado, A.P., Oliver, G., 1986. Acetaldehyde metabolism in lactic acid bacteria. *Milchwissenschaften*, 14(7), 397-399.
- Rehm, H.J., 1983. Starter cultures for other purposes. In *biotechnology*. 3, 203-208 (Eds H. J. Rehm and V. CH. Reed). Weinheim: Verlag Chemie.

- Robinson, R.K., Tamime, A.Y., 1990. Microbiology of fermented milks. In: Robinson RK (ed.) Dairy Microbiology. 2. The Microbiology of Milk Products. 2nd edn. 291-343. London: Elsevier Applied Science.
- Rocha. Saul Nitsche; Abrahão-Neto. José; Gombert. Andreas Karoly (6 July 2011). "Physiological diversity within the *Kluyveromyces marxianus* species". *Antonie van Leeuwenhoek*. 100(4), 619–630.
- Rossi, J., Gobbetti, M., 1992. Multistarter for Making Kefir by Continuous Process. *Annali di Microbiologia ed Enzimologia*, 41 (2), 223-226.
- Sable, S., Cottenceau, G., 1999. Current knowledge of soft cheeses flavor and related compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4825-4836.
- Sady, M., Domagala, J., Grega, T., Najgebauer-Lejko D., 2007. Sensory and physico-chemical properties of commercially available kefir. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 23(5-6), 199 – 206.
- Santos, A., San Mauro, M., Sanchez, A., Torres J.M., Marquina, D., 2003. The antimicrobial properties of different strains of *Lactobacillus* spp. isolated from kefir. *Systematic and Applied Microbiology*, 26, 434-443.
- Schellhaass, S.M., Morris, H.A., 1985. Rheological and scanning electron microscope examination of skim milk gels obtained by fermenting with ropy and non-ropy strains of lactic acid bacteria. *Food Microstructure*. 4, 279-287.
- Simova, E., Beshkova, D., Angelov, A., Hristozova, Ts., Frengova, G., Spasov, Z., 2002. Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 28, 1–6.
- Sinha, R.P., 1991. Effect of carbohydrate on the viability of *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Food Protection*, 54(7), 537-541.
- Starrenburg, M.J.C., Hugenholtz, J., 1991. Citrate Fermentation by *Lactococcus* and *Leuconostoc* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 57, 3535-3540.
- Stepaniak, L., Fetlinski, A., 2002. Fermented Milks/Kefir. *Encyclopedia of dairy Sciences*. Elsevier Science Ltd., 1049.
- Surono, I., Hosono, A., 2002. Fermented Milks/Starter Cultures. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Elsevier Science Ltd.. 1023.
- Surono, I., Hosono, A., 2011. Fermented milks Types and standards of identity. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Eds: Fuquay J, Fox P, McSweeney PLH, 2nd Ed. London: Academic Press, 470- 82.

- Şen, İ., 2015. Kefir Kültürü Kullanılarak Üretilen Fermente Süt Ürünlerinin Aroma Aktif Bileşenlerinin Ve Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi. Onsekiz Mart Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. YL Tezi. 84. Çanakkale.
- Takizawa, S., Kojima, S., Tamura, S., Fujinaga, S., Benno, Y., Nakase, T., 1994. *Lactobacillus kefirgranum* sp. nov. and *Lactobacillus parakefir* sp. nov..two new species from kefir grains. International Journal of Systematic Bacteriology, 44(3), 435-439.
- Takizawa, S., Kojima, S., Tamura, S., Fujinaga, S., Benno, Y., Nakase, T., 1998. The composition of the *Lactobacillus* flora in kefir grains. Systematic and Applied Microbiology, 21(1), 121-7.
- Tamime, A.Y., 1978. The production of yoghurt and concentrated yoghurt from hydrolysed milk. Cultured Dairy Products Journal, 13(3), 16-21.
- Tamime, A.Y., Deeth, H.C., 1980. Yoghurt: Technology and Biochemistry. Journal of Food Protection, 43, 939-976.
- Tamime, A.Y., Robinson, R.K., 1999. Yoghurt: Science and Technology. 2nd edn. Cambridge: Woodhead.
- Tamime, A.Y., Robinson, R.K., 2001. Yoghurt Science and Technology. New York. USA: CRC Press.
- Tamime, A.Y., 2006 Production of Kefir, Koumiss and Other Related Products. In: Tamime, AY (ed.), Fermented Milk Blackwell Science Ltd., Oxford, UK, p.174-216.
- Tamime, A.Y., Robinson, R.K., 2007. Yogurt science and technology. 3rd edition. 791. Woodhead Publishing. Oxford.
- Tazanetaki, E.L., Mastrojonnaki, A.V., 1988. Diacetyl and acetaldehyde concentrations during ripening of kefolotyri cheese. Journal of Food Science, 53(2), 663-664.
- Tekinşen, O.C., Atasever, M., 1994. Süt Ürünleri Üretiminde Starter Kültür. Selçuk Üniversitesi. Veterinerlik Fakültesi Yayını, 150s, Konya
- Tomar, O., 2015. Farklı yağ oranlarına sahip inek ve manda sütleri kullanılarak iki ayrı üretim metoduyla üretilen kefir örneklerinin depolama süresince bazı kalite karakteristiklerinin belirlenmesi. Doktora Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 176, Afyonkarahisar.
- Torino, M.I., Taranto, M.P., Font De Valdez, G., (2005). Citrate catabolism and production of acetate and succinate by *Lactobacillus helveticus* ATCC15807. Appl. Microb. Biotech. 69. 79-85

- Tratnik, L., Bozanıç R., Herceg Z., Drgalıç, I., 2006. The quality of plain and supplemented kefir from goat's and cow's milk. *International Journal of Dairy Technology*, 59, 40-46.
- Tunail, N., Köşker, Ö., 1989. Süt Mikrobiyolojisi. A.Ü. Ziraat Fak. Yayınları. No:1116. 138s., Ankara
- Tunay, R.T., 2018. Kefir Danesinden Üretilen Kefir Tüketiminin Anne Sütündeki Probiyotik Mikroorganizmalara Etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. YL. Tezi. 89. Isparta.
- Türk Gıda Kodeksi, 2009. Fermente Süt Ürünleri Tebliği. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. Tebliğ No: 2009/25
- Türker, G., Kızılkaya, B., Arifoğlu, N., 2014. Determination of organic acid composition and free radical scavenging capacity of kefir. *Asian Journal of Chemistry*, 26(8), 2443-2446.
- Uslu, G., (2010). Ankara Piyasasında Satılan Kefirlerin Mikrobiyolojik, Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özellikleri Üzerine Bir Araştırma, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi
- Ünal, F.G., 2013. Kuru Madde Oranları Farklı Sütlerden Starter Kültür Ve Dane İle Üretilen Set Tipi Kefirlerin Duyusal, Fizikokimyasal Ve Mikrobiyolojik Özellikleri. Akdeniz Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, YL tezi, 63s, Antalya
- Ünlütürk, A., Turantaş, F., 1998. Gıda Mikrobiyolojisi. Mengi Tan Basımevi. 1. Baskı. s.: 467.
- Vardjan, T., Lorbeg, P.M., Rogelj, I., Majhenič, A.Č., 2013. Characterization and stability of lactobacilli and yeast microbiota in kefir grains. *Journal of dairy science*, 96(5), 2729-2736.
- van der Walt, J.P., 1956. *Kluyveromyces*- a new yeast genus of the Endomycetales. *Antonie van Leeuwenhoek*, 22, 265-272.
- Viljoen, B.C., 2001. The interaction between yeasts ve bacteria in dairy environments. *International Journal of Food Microbiology*, 69, 37-44.
- Vinderola, G., Matar, C., Palacios, J., Perdigon, G., 2007a. Mucosal immunomodulation by the non- bacterial fraction of milk fermented by *L. helveticus* R389. *International Journal of Food Microbiology*, 115, 180-186.
- Wacher-Rodarte, C., Galvan, M.V., Farres, A., Gallardo, F., Marshall, V.M.E., Garcia-Garibay M., 1993. Yoghurt production from reconstituted skim milk

- powder using different polymer and non-polymer forming starter cultures. *Journal of Dairy Research*. 60, 247-254.
- Wang, S.Y., Chen, H.C., Liu, J.R., Lin, Y.C., Chen, M.J., 2008. Identification of Yeasts and Evaluation of Their Distribution in Taiwanese Kefir and Vili starters. *Journal of Dairy Science*, 91, 3798-3805.
- Weis, W., Burgbacher, G., 1986. 100 Jahre Kefir in Deutschland nach wie vor ein aktuelles Thema. *Deutsche Molkerei Zeitung*, 4, 81- 89.
- Wiese, W., 1986. Kefir. ein Sauermilcherzeugnis im Widerstreit zwischen Hersteller. *Lebensmittelüberwachung und Verbraucher*. *Deutsche Molkerei Zeitung*, 9, 227-229.
- Witthuhn, R.C., Schoeman, T., Britz, T.J., 2004. Isolation and characterization of microbial population of different South African kefir grains. *International Dairy Journal*, 57, 33-37.
- Witthuhn, R.C., Schoeman, T., Britz, T.J., 2005. Characterization of microbial population at different stages of Kefir production and Kefir grain mass cultivation. *International Dairy Journal*, 15, 383-389.
- Wojtowski, J., Dankow, R., Skrzypek, R., Fahr, R.D., 2003. The fatty acid profile in kefirs from sheep, goat and cow milk. *Milchwissenschaft*, 58, 633-636.
- Wszolek, M., Tamime, A., Muir, D., Barclay, M., 2001. Properties of kefir made in Scotland and Poland using bovine, caprine and ovine milk with different starter cultures. *LWT- Food Science and Technology*, 34, 251-261. doi: 10.1006/fstl.2001.0773
- Wu, R., Wang, W., Yu, D., Zhang, W., Li, Y., Sun, Z., Wu, J., Meng, H., Zhang, H., 2009. Proteomics analysis of *Lactobacillus casei* Zhang, a new probiotic bacterium isolated from traditional home-made Koumiss in Inner Mongolia of China. *Mol Cell Proteomics*, 8(10), 2321-2338.
- Yang, C., Hu, S., Zhu, S., Wang, D., Gao, X., Hong, J., 2015. Characterizing yeast promoters used in *Kluyveromyces marxianus*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(10), 1641-1646.
- Yaygın, H., 1994. Kefir ve Özellikleri. III. Milli Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu. 2-3 Haziran. İstanbul.
- Yaygın, H., 1999. Yoğurt Teknolojisi. T.C. Akdeniz Üniversitesi yayın No:75. Akdeniz Üniversitesi Basımevi, 331 s., Antalya.
- Yetişmeyen, A., 1995. Süt Teknolojisi. A.Ü. Ziraat Fak Yayınları, 229s., Ankara

- Yıldız F., 2009. Farklı Yağ Oranlarının ve Farklı Starter Kültürlerin Kefirin Nitelikleri Üzerine Etkisi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 200 s. Ankara.
- Yılmaz, L., 2006. Yoğurt Benzeri Fermente Süt Ürünleri Üretiminde Farklı Probiyotik Kültür Kombinasyonlarının Kullanımı. Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 156s, Bursa.
- Yılmaz, L., Yılsay, T.O., Bayazıt, A.A., 2006. The sensory characteristics of berry flavoured kefir, czech. Journal of Food Science, 24, 26-32.
- Yılmaz-Ersan, L., Özcan, T., Akpınar-Bayizit, A., Şahin, S., 2016. The Antioxidative Capacity of Kefir Produced from Goat Milk. International Journal of Chemical Engineering and Applications, 7(1), 22.
- Yöney, Z., 1967. Yoğurt Teknolojisi. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları. Ankara.
- Yvon, M., Rijnen, L., 2001. Cheese flavour formation by amino acid catabolism. International Dairy Journal, 11, 185-201.
- Zanirati, D.F., Abatemarco, M., Cicco Sandesb, S.H., Nicolia, J.R., Nunes, A.C., Neumann, E., 2015. Selection of lactic acid bacteria from Brazilian kefir grains for potential use as starter or probiotic cultures. Anarobe, 32, 70-76.
- Zareba, D., Ziarno, M., Scibisz, I., Gawron J., 2014. The importance of volatile compound profile in the assessment of fermentation conducted by *Lactobacillus casei* DN-114 001. International Dairy Journal, 35, 11-14.
- Zhou, J., Liu, X., Jiang, H., Dong, M., 2009. Analysis of the microflora in Tibetan kefir grains using denaturing gradient gel electrophoresis. Food Microbiology, 26(8), 770-775.
- Zhou, T., Huo, R., Kwok, L.Y., Li, C., Ma, Y., Mi, Z., Chen, Y., 2019. Effects of applying *Lactobacillus helveticus* H9 as adjunct starter culture in yogurt fermentation and storage. Journal of Dairy Science, 102, 223-235.
- Zourari, A., Anıfantakıs, E.M., 1988. Le ke'fir: Caractères physicochimiques, microbiologiques et nutritionnels. In: Fontan, M.C.G., Martinez, S., Franco, I., Carballo, J. (2006). Microbiological and chemical changes during the manufacture of kefir made from cow's milk. using a commercial starter culture. International Dairy Journal, 16, 762-767.

EKLER

EK 1. Duyusal analiz formu

Duyusal Değerlendirme Form

Panelist Adı: Tarih: Saat: Tekerrür: Paralel:

Deney Adı: Kefirden izole edilen bazı mikroorganizmaların aroma bileşenlerinin belirlenmesi

- Her başlığın altında ürün için **tanımlayıcı kelime** belirtilmiştir. Aşağıda yedi puanlı skala kullanılmıştır. Değerlendirmede altı örnek sunulacaktır. Örnek üzerindeki kodları kullanarak skala üzerinde belirtiniz.
- Örnekler arasında su----kraker----su şeklinde ağızımızı çalkalamaya özen gösteriniz.

GÖRÜNÜŞ

Beyaz Rengi

1	2	3	4	5	6	7

Köpük Oluşumu

(kefirdeki devamlı gördüğümüz köpük miktarı normaldir)

Az (Olumsuz)										Normal					Çok (Olumsuz)				
0	1	2	3	4	5	6	7	6	5	4	3	2	1	0					

Serum ayrılması

(olumsuz bir özelliktir, fazla olması istenmemektedir)

Fazla						Normal	
1	2	3	4	5	6	7	

YAPI

Akıcılık

(Kefir devamlı gördüğümüz akıcılık normaldir)

Az (Olumsuz)							Normal							Çok (Olumsuz)	
0	1	2	3	4	5	6	7	6	5	4	3	2	1	0	

KOKU

Fermente Koku

Zayıf

Kuvvetli

1	2	3	4	5	6	7

Yanık Koku

Zayıf

Kuvvetli

0	1	2	3	4	5	6	7

Meyvemsi Koku (elma gibi)

Zayıf

Kuvvetli

0	1	2	3	4	5	6	7

Metalimsi Koku

Zayıf

Kuvvetli

0	1	2	3	4	5	6	7

Hayvansal Koku

Zayıf

Kuvvetli

0	1	2	3	4	5	6	7

TAT

Fermente Tat

Zayıf

Kuvvetli

1	2	3	4	5	6	7

Uygun Asidik Tat

Az

(Olumsuz)

Normal

Çok

(Olumsuz)

0	1	2	3	4	5	6	7	6	5	4	3	2	1	0

Tatlılık

Zayıf

Kuvvetli

1	2	3	4	5	6	7

Mayamsı Tat

Zayıf

Kuvvetli

0	1	2	3	4	5	6	7

Yanık Tat

Zayıf

Kuvvetli

0	1	2	3	4	5	6	7

Meyvemsî Tat

Zayıf

Kuvvetli

0	1	2	3	4	5	6	7

Metalimsî Tat

Zayıf

Kuvvetli

0	1	2	3	4	5	6	7

Hayvansal Tat

Zayıf

Kuvvetli

0	1	2	3	4	5	6	7

Otumsu Tat

Zayıf

Kuvvetli

0	1	2	3	4	5	6	7

Çiçeğimsî Tat

Zayıf

Kuvvetli

0	1	2	3	4	5	6	7

Ferahlatıcı Tat

Zayıf

Kuvvetli

0	1	2	3	4	5	6	7

Ürün ile ilgili düşünceleriniz;

.....

.....

.....

GENEL BEĞENİ

Zayıf

Kuvvetli

0	1	2	3	4	5	6	7

EK 2. LKF, LP, LK, LA, LB, LC ve LH ürünlerinin aroma bileşenleri sonuçları ve standart sapması

Uçucu bileşen ismi (µg/L)	LKF	LP	LK	LA	LB	LC	LH
Aldehit							
Acetaldehyde (CAS) Ethanal	0.27±0.08	0.52±0.01	0.87±0.54	0.21±0.29	1.28±0.49	-	0.6±0.11
Benzaldehyde (CAS) Phenylmethanal	0.15±0.21	0.39±0.09	0.42±0.19	0.23±0.33	0.13±0.18	-	2.68±1.92
2-Methylbutanal	10.86±4.4	3.64±2.47	3.37±2.58	2.24±2.15	5.06±5.18	6.1±1.18	7.39±3.38
3-Methylbutanal	-	-	0.04±0.06	0.02±0.03	0.19±0.07	0.06±0.01	0.2±0.09
Decanal	-	-	-	-	-	-	-
Heptanal	0.24±0.33	-	0.31±0.44	-	-	-	-
Hexanal	0.21±0.3	0.18±0.25	0.23±0.33	0.09±0.13	0.08±0.05	-	-
Nonanal	1.01±1.43	0.44±0.1	1.23±1.44	0.5±0.71	0.29±0.05	-	0.5±0.21
Octanal	0.34±0.47	0.08±0.11	0.23±0.15	-	0.11±0.04	-	-
Tetradecane	-	-	-	-	-	-	-
Toplam Aldehid	13.08	5.24	6.71	3.30	7.14	6.17	11.37
Keton							
1,2-Cyclopentanedione	-	-	0.59±0.11	-	-	-	-
2(5H)-Furanone	-	-	0.53±0.07	-	0.11±0.15	-	-
2,3-Butanedione- (CAS) diacetyl	-	-	-	-	-	-	-
2-Butanone, 3- hydroxy- (CAS) Acetoin	-	-	0.04±0.05	0.15±0.21	0.29±0.01	2.35±0.65	0.05±0.07
3-Methyl-2- butanone	-	-	-	0.25±0.35	0.32±0.06	-	-
2-Heptanone	0.23±0.07	0.17±0.04	0.11±0.16	1.31±0.5	1.46±0.16	3.37±0.71	3.47±1.53
2-Nonanone (CAS) Methyl heptyl ketone	0.7±0.34	0.45±0.06	0.1±0.02	1±0.58	1.71±0.18	6.27±1.55	3.58±1.55
2-Nonen-4-one	-	-	-	-	0.44±0.04	-	-
2-Pentanone (CAS) Methyl propyl ketone	-	-	0.18±0.09	0.11±0.15	-	0.72±0.11	0.34±0.17
2-Propanone (CAS) Acetone	0.07±0.1	0.19±0.27	-	0.44±0.2	0.34±0.13	0.27±0.1	0.59±0.1
2-Tridecanone	0.27±0.38	-	-	-	0.09±0.13	0.24±0.34	-
3-Undecen-2-one	-	-	-	-	-	0.27±0.09	-
6-Methyl-5-hepten- 2-one	-	-	-	-	-	-	-
2,3-Pentanedione (CAS) Acetyl propionyl	-	-	-	-	-	-	-
Decane	0.54±0.25	0.49±0.07	0.22±0.02	0.32±0.19	0.29±0.06	0.3±0.04	0.43±0.26
2,2-Dimethyldecane	0.09±0.06	0.11±0.01	-	0.03±0.04	0.03±0.04	0.07±0.09	0.07±0.1
Dodecane	0.72±0.49	0.99±0.07	0.36±0.03	0.54±0.46	0.4±0.1	0.46±0.2	0.54±0.29
Methyl undecyl ketone	0.12±0.17	0.15±0.21	-	0.27±0.18	0.12±0.17	0.14±0.2	0.39±0.22
Nonyl methyl ketone	0.96±0.55	0.3±0.42	-	0.87±0.52	0.71±0.18	1.2±0.22	1.16±0.68
Octane	-	0.35±0.49	-	-	-	-	-
Toplam Keton	3.70	3.20	2.11	5.29	6.29	15.67	10.62
Alkol							
1-Butanol	-	-	-	0.02±0.03	-	0.04±0.06	-

EK 2. LKF, LP, LK, LA, LB, LC ve LH ürünlerinin aroma bileşenleri sonuçları ve standart sapması (Devamı)

Uçucu bileşen ismi (µg/L)	LKF	LP	LK	LA	LB	LC	LH
2-Ethyl-1-butanol	-	-	-	-	-	-	-
3-Methyl-1-butanol (impure)	0.11±0.16	-	0.12±0.06	-	0.04±0.05	0.07±0.1	-
1-Propanol (CAS) Propanol	-	-	-	-	-	-	-
1-Propanol, 2-methyl- (CAS) Isobutyl alcohol	-	-	-	-	-	-	-
2-Furanmethanol (CAS) Furfuryl alcohol	0.39±0.24	0.87±1.23	7.19±1.41	0.1±0.15	1.84±0.9	0.1±0.14	0.6±0.32
2-Heptanol (CAS) Amyl methyl carbinol	0.63±0.32	0.81±0.54	1.84±0.37	-	-	-	-
Benzeneethanol (CAS) Phenethyl alcohol	-	-	-	-	-	-	-
Capryl alcohol	0.51±0.21	0.19±0.27	0.22±0.32	-	-	-	-
Ethanol	43.61±22.47	23.51±0.54	18.35±0.35	0.58±0.27	0.24±0.08	0.12±0.17	0.46±0.17
Hexanol	0.15±0.21	0.25±0.08	0.11±0.15	-	-	-	-
Lauryl alcohol	0.32±0.45	-	-	0.18±0.25	-	-	-
Nonan-2-ol	0.83±0.42	0.62±0.19	1.78±0.39	-	0.32±0.01	-	-
Toplam Alkol	46.56	26.25	29.61	0.88	2.44	0.33	1.06
Asit							
Acetic acid (CAS) Ethyllic acid	-	0.68±0.96	-	-	-	-	-
Butanoic acid	-	-	0.86±0.21	1.02±1.44	0.55±0.06	-	-
Decanoic acid (CAS) Capric acid	-	-	-	-	-	-	-
Hexanoic acid	11.9±7.03	7.67±0.09	8.41±0.79	10.46±4.58	6.41±0.81	8.14±3.01	11.14±6.25
Octanoic acid (CAS) Caprylic acid	-	-	-	-	-	-	-
Toplam Asit	11.90	8.35	9.27	11.47	6.96	8.14	11.14
Ester							
1-Butanol, 3-methyl-acetate (CAS) Isoamyl acetate	-	-	-	-	-	-	-
4-Methyl-2-pentyl acetate	-	-	-	-	-	-	-
(Z)-5-Dodecenyl acetate	-	-	-	-	-	0.19±0.27	0.22±0.32
Acetic acid, 2-phenylethyl ester	-	-	-	-	-	-	-
Ethyl butyrate (CAS) Acetic acid, ethyl ester	0.17±0.02	0.36±0.12	0.38±0.19	-	-	-	-
Acetic acid, phenylmethyl ester (CAS) Benzyl acetate	-	-	-	-	-	-	-
Benzyl benzoate	-	-	-	-	-	-	-
Ethyl butyrate (CAS) Butanoic acid, ethyl ester	0.14±0.2	-	0.05±0.07	-	-	-	-
Ethyl decanoate	-	-	0.8±1.13	-	-	-	-
Ethyl palmitate (CAS) Hexadecanoic acid, ethyl ester	-	-	-	-	-	-	-

EK 2. LKF, LP, LK, LA, LB, LC ve LH ürünlerinin aroma bileşenleri sonuçları ve standart sapması (Devamı)

Uçucu bileşen ismi (µg/L)	LKF	LP	LK	LA	LB	LC	LH
Ethyl caproate (CAS)							
Hexanoic acid, ethyl ester	0.43±0.26	0.34±0.1	1.2±0.33	-	-	-	-
Isopropyl myristate	-	-	-	-	-	-	-
Ethyl Octanoate	0.06±0.08	-	1.14±0.24	-	-	-	-
Octanoic acid, ethyl ester (CAS)							
Ethyl caprylate	0.1±0.15	0.17±0.07	-	-	-	-	-
Toplam Ester	0.91	0.87	3.57	0.00	0.00	0.19	0.22
Terpen							
β-Myrcene	0.39±0.4	0.12±0.16	0.07±0.1	-	0.19±0.14	0.29±0.19	0.31±0.16
1-p-menthen-9-al	-	-	-	-	-	-	-
D-Limonene	0.41±0.58	0.31±0.11	0.09±0.12	0.06±0.09	0.14±0.2	0.77±0.33	0.46±0.27
Sabinene	0.08±0.12	0.05±0.08	-	-	0.05±0.07	0.08±0.12	0.09±0.12
(E)-Geraniol	-	0.1±0.14	0.09±0.12	-	-	-	-
Toplam Terpen	0.88	0.58	0.25	0.06	0.37	1.15	0.86
Thiol							
3-Methyl-2-butanethiol	0.08±0.11	0.29±0.05	0.1±0.15	-	-	-	-
Pirazin							
2,5-Dimethylpyrazine	-	-	-	-	0.25±0.01	0.21±0.13	0.35±0.24
Methylpyrazine	-	-	-	-	0.32±0.01	0.21±0.09	0.42±0.22
Laktone							
δ-Decalactone (CAS)							
5-pentyl pentan-5-olide	-	-	-	-	-	-	-
Toplam uçucu bileşen miktarı							
	154.12	89.25	103.15	42.01	47.00	63.71	71.31

EK 3. BB, ST, KM, SK, DK ve süt ürünlerinin aroma bileşenleri sonuçları ve standart sapması

Uçucu bileşen ismi (µg/L)	BB	ST	KM	SK	DK	SÜT
Aldehit						
Acetaldehyde (CAS) Ethanal	1.64±2.03	0.4±0.06	0.6±0.59	0.35±0.08	0.23±0.32	-
Benzaldehyde (CAS) Phenylmethanal	0.08±0.11	0.15±0.21	-	0.3±0.03	0.41±0.32	-
2-Methylbutanal	0.76±0.54	1.26±0.21	1.84±1.23	0.39±0.17	5.39±1.57	6.72±2.81
3-Methylbutanal	0.24±0.23	0.36±0.03	0.14±0.07	0.17±0.16	-	-
Decanal	-	0.07±0.1	0.2±0.29	-	-	0.08±0.12
Heptanal	-	-	0.57±0.8	-	-	-
Hexanal	-	-	0.23±0.33	0.09±0.01	0.05±0.07	0.15±0.12
Nonanal	0.11±0.15	0.15±0.22	2.11±2.45	0.5±0.19	0.51±0.13	0.82±0.81
Octanal	-	0.05±0.07	0.17±0.16	0.1±0.15	-	0.16±0.13
Tetradecane	2.01±2.84	-	-	-	-	0.02±0.03
Toplam Aldehit	4.83	2.44	5.86	1.90	6.60	7.96
Keton						
1,2-Cyclopentanedione	-	-	0.18±0.26	0.17±0.24	-	0.1±0.14
2(5H)-Furanone	-	-	-	0.07±0.1	0.08±0.12	0.13±0.19
2,3-Butanedione- (CAS) diacetyl	0.14±0.2	0.54±0.77	-	-	0.68±0.96	-
2-Butanone. 3- hydroxy- (CAS) Acetoin	1.1±1.36	1.17±0.04	0.04±0.05	3.94±2.17	13.59±13.2 2	0.03±0.03
3-Methyl-2- butanone	-	0.5±0.71	-	0.96±0.21	0.41±0.58	-
2-Heptanone	0.49±0.69	1.57±0.21	1.14±0.25	1.14±0.36	2.27±1.22	1.42±0.65
2-Nonanone (CAS) Methyl heptyl ketone	0.5±0.7	1.41±0.2	0.9±0.31	0.69±0.24	2.8±1.97	1.55±0.8
2-Nonen-4-one	-	-	-	-	-	-
2-Pentanone (CAS) Methyl propyl ketone	0.06±0.08	-	0.41±0.42	-	-	-
2-Propanone (CAS) Acetone	0.09±0.12	0.3±0.09	0.33±0.33	-	0.56±0.38	0.23±0.02
2-Tridecanone	-	-	-	-	-	-
3-Undecen-2-one	-	-	-	-	-	-
6-Methyl-5-hepten- 2-one	-	0.08±0.11	0.14±0.2	0.08±0.12	-	-
2,3-Pentanedione (CAS) Acetyl propionyl	-	0.71±0.02	-	-	-	-
Decane	0.73±0.75	0.43±0.05	0.46±0.43	0.35±0.05	0.49±0.16	0.83±0.46
2,2-Dimethyldecane	0.03±0.04	0.09±0.13	0.41±0.57	0.12±0.17	0.12±0.17	0.21±0.13
Dodecane	1.98±2.16	-	0.54±0.38	0.57±0.14	-	0.61±0.29
Methyl undecyl ketone	0.09±0.13	0.4±0.26	0.07±0.09	0.19±0.01	0.41±0.19	0.4±0.35
Nonyl methyl ketone	0.26±0.37	1.07±0.52	0.68±0.32	0.37±0.09	1.45±0.79	1.09±0.77
Octane	-	0.12±0.17	-	0.1±0.15	0.17±0.24	-
Toplam Keton	5.47	8.39	5.29	8.77	23.03	6.61
Alkol						
1-Butanol	0.02±0.03	0.66±0.3	-	-	0.03±0.04	-

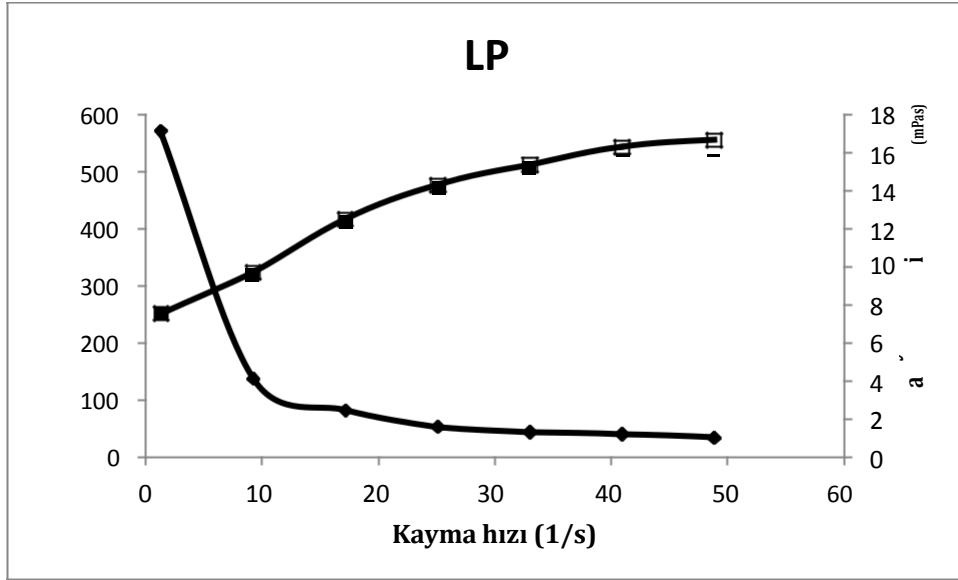
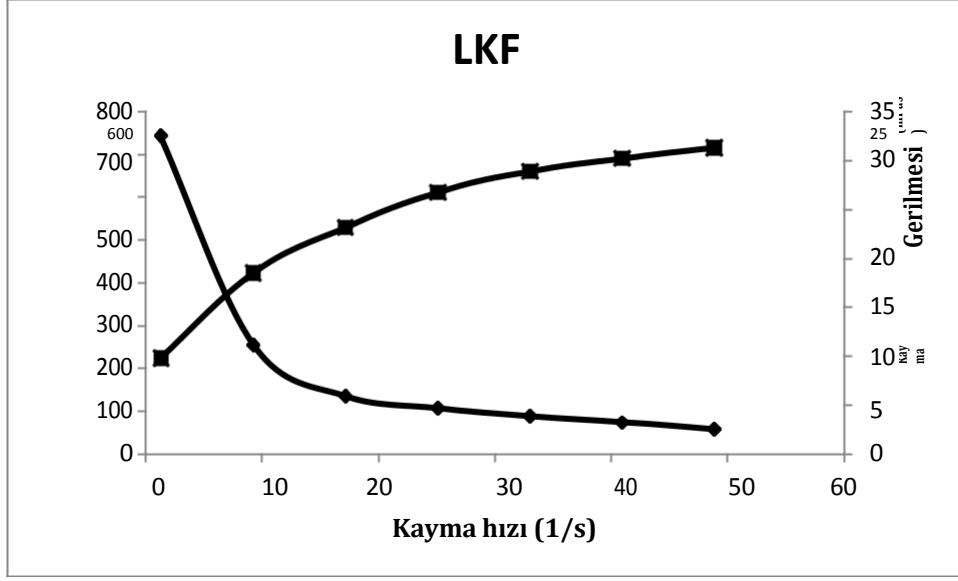
EK 3. BB, ST, KM, SK, DK ve süt ürünlerinin aroma bileşenleri sonuçları ve standart sapması (Devam)

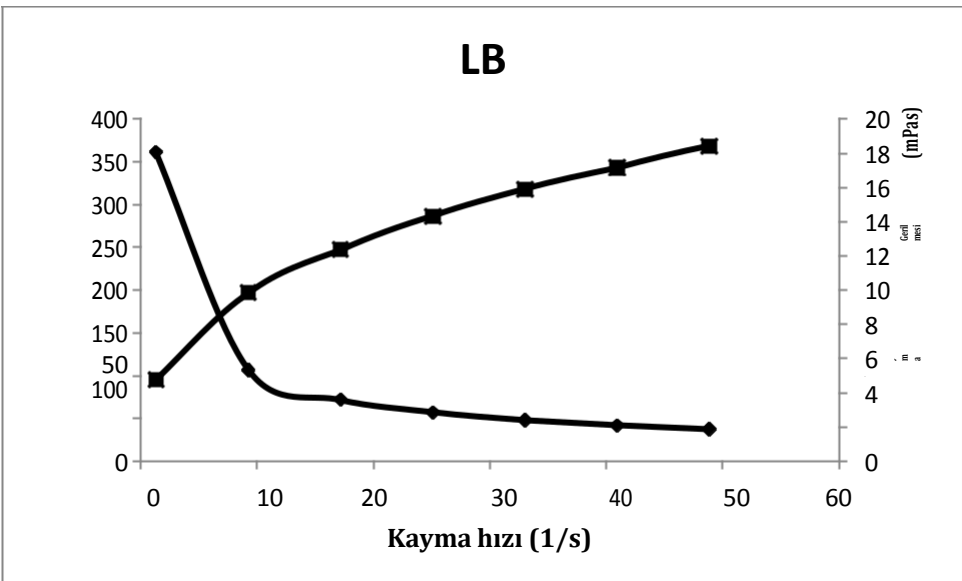
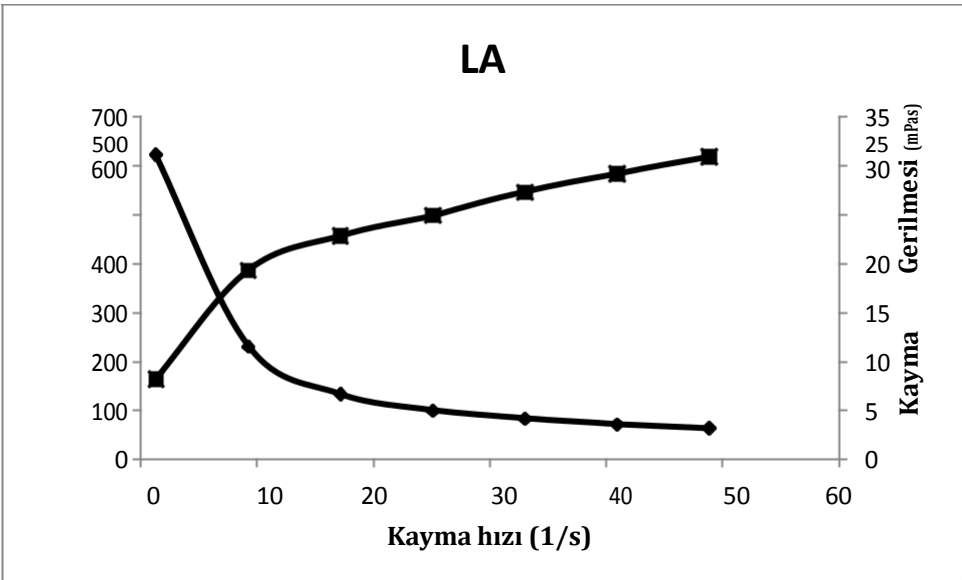
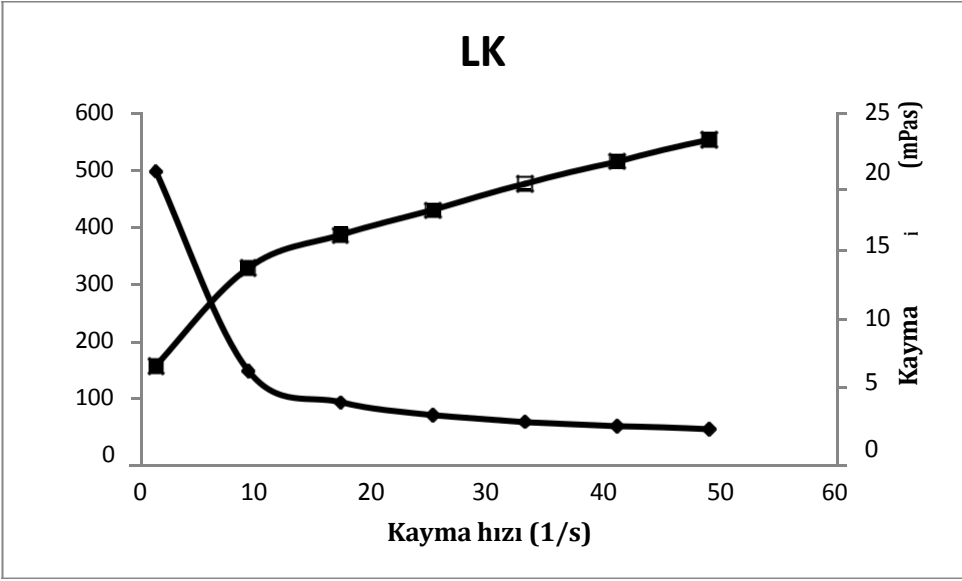
Uçucu bileşen ismi (µg/L)	BB	ST	KM	SK	DK	SÜT
2-Ethyl-1-butanol	-	-	-	-	-	0.19±0.09
3-Methyl-1-butanol	44.42±16.1	0.07±0.1	2.01±2.85	-	0.1±0.14	-
(impure)	5					
1-Propanol (CAS)	-	0.45±0.09	-	-	-	-
Propanol						
1-Propanol. 2-methyl- (CAS)	4.2±5.94	-	0.21±0.04	-	-	-
Isobutyl alcohol						
2-Furanmethanol (CAS) Furfuryl alcohol	-	-	0.57±0.52	1.17±1.65	1.44±0.37	1.84±0.32
2-Heptanol (CAS)						
Amyl methyl carbinol	-	-	-	0.41±0.35	-	-
Benzeneethanol (CAS) Phenethyl alcohol	77.68±8.04	-	0.33±0.16	-	-	-
Capryl alcohol	0.34±0.48	-	-	-	0.06±0.09	-
Ethanol	64.07±90.2 3	1.3±0.14	3.04±1	1.02±0.36	1.53±1.02	0.22±0.1
Hexanol	0.76±1.07	3.64±0.08	-	-	-	-
Lauryl alcohol	-	-	0.11±0.16	-	-	0.17±0.23
Nonan-2-ol	-	-	0.06±0.09	0.38±0.1	-	-
Toplam Alkol	191.49	6.12	6.33	2.97	3.16	2.42
Asit						
Acetic acid (CAS)	-	-	-	-	1.03±1.45	-
Ethyllic acid						
Butanoic acid	-	0.67±0.95	0.35±0.5	0.45±0.64	0.37±0.52	-
Decanoic acid (CAS)	-	-	-	-	-	-
Capric acid						
Hexanoic acid	2.96±4.18	7.09±2.25	6.84±2.28	7.52±2.45	10.21±4.38	-
Octanoic acid (CAS)	-	-	-	-	-	-
Caprylic acid						
Toplam Asit	2.96	7.76	7.20	7.98	11.61	0.00
Ester						
1-Butanol. 3-methyl-acetate (CAS)	0.67±0.94	-	0.22±0.07	-	-	-
Isoamyl acetate						
4-Methyl-2-pentyl acetate	-	-	-	-	-	-
(Z)-5-Dodecenyl acetate	-	-	-	-	-	-
Acetic acid. 2-phenylethyl ester	1.21±1.71	-	0.38±0.09	-	-	-
Ethyl butyrate (CAS)						
Acetic acid. ethyl ester	1.51±2.13	-	4.36±2.83	-	-	-
Acetic acid. phenylmethyl ester	-	-	-	-	-	-
(CAS) Benzyl acetate						
Benzyl benzoate	-	-	-	-	-	-
Ethyl butyrate (CAS)						
Butanoic acid. ethyl ester	-	-	0.19±0.26	-	-	-
Ethyl decanoate	2.1±2.98	-	-	-	-	-
Ethyl palmitate (CAS)						
Hexadecanoic acid. ethyl ester	-	-	-	-	-	-

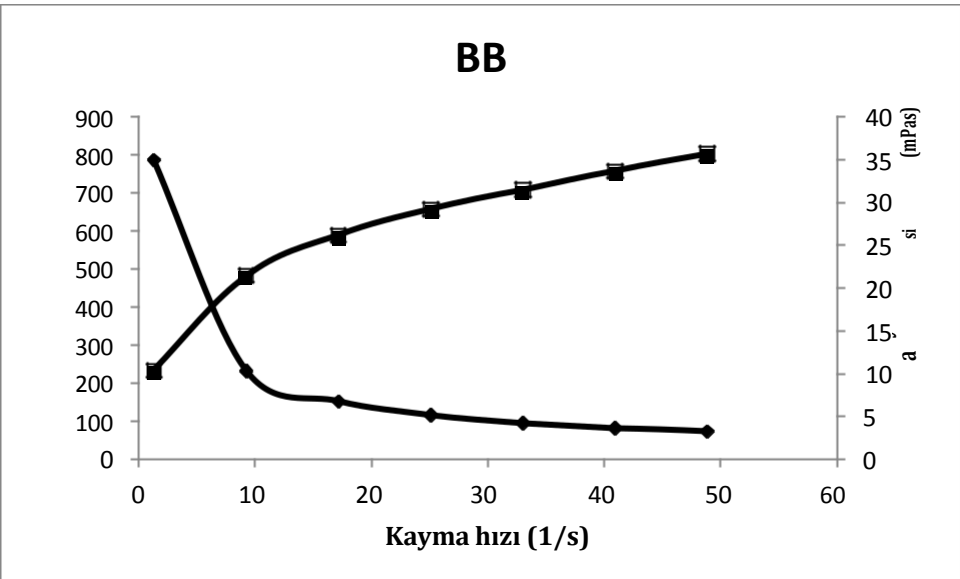
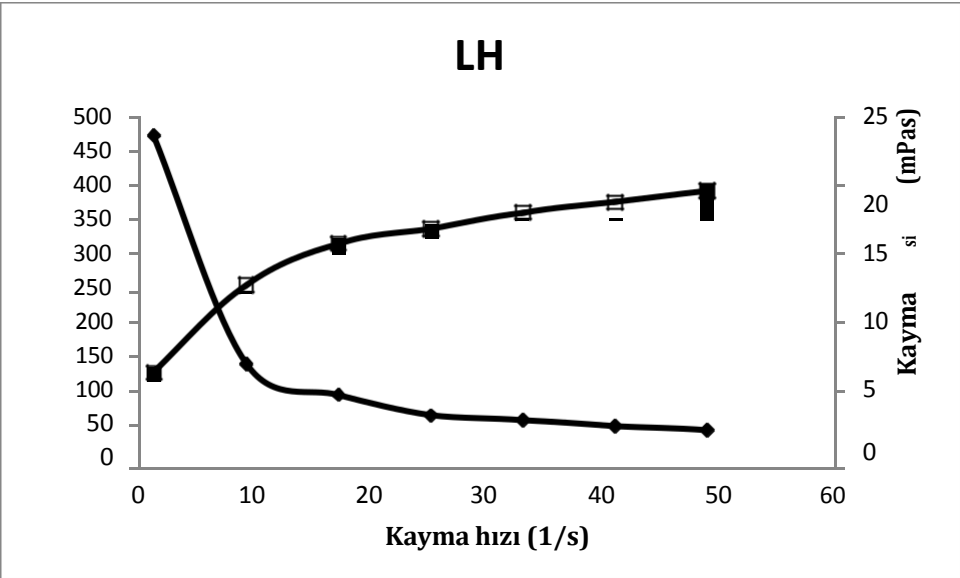
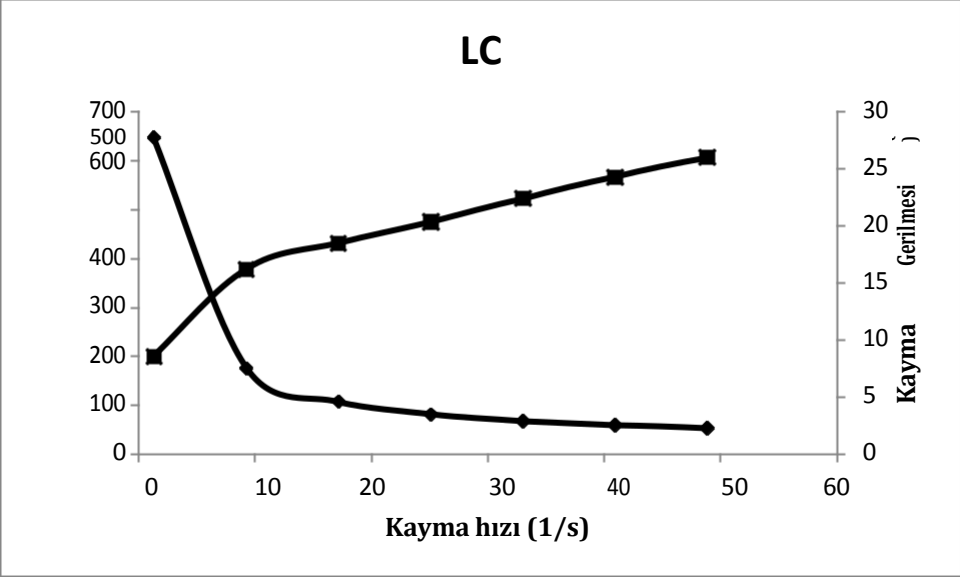
EK 3. BB, ST, KM, SK, DK ve süt ürünlerinin aroma bileşenleri sonuçları ve standart sapması (Devam)

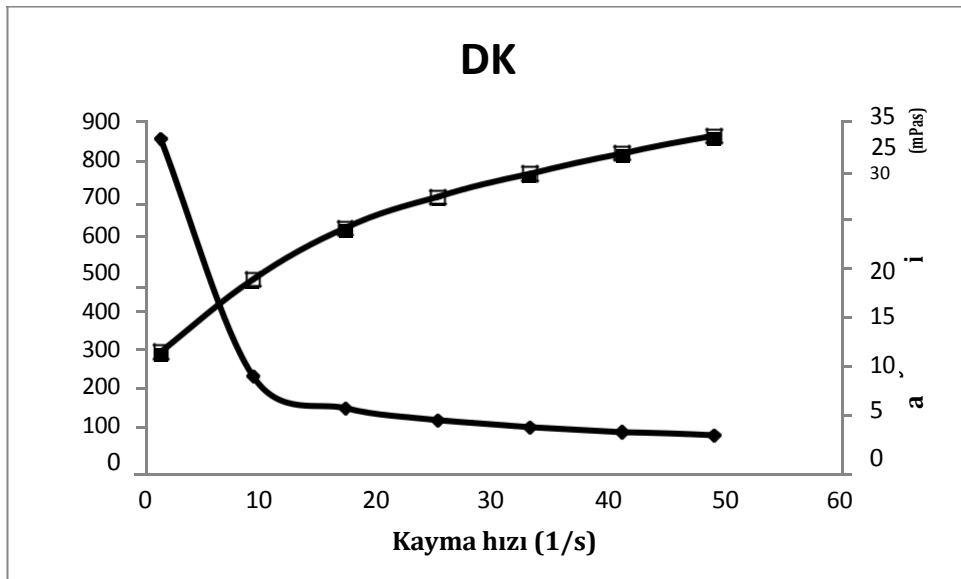
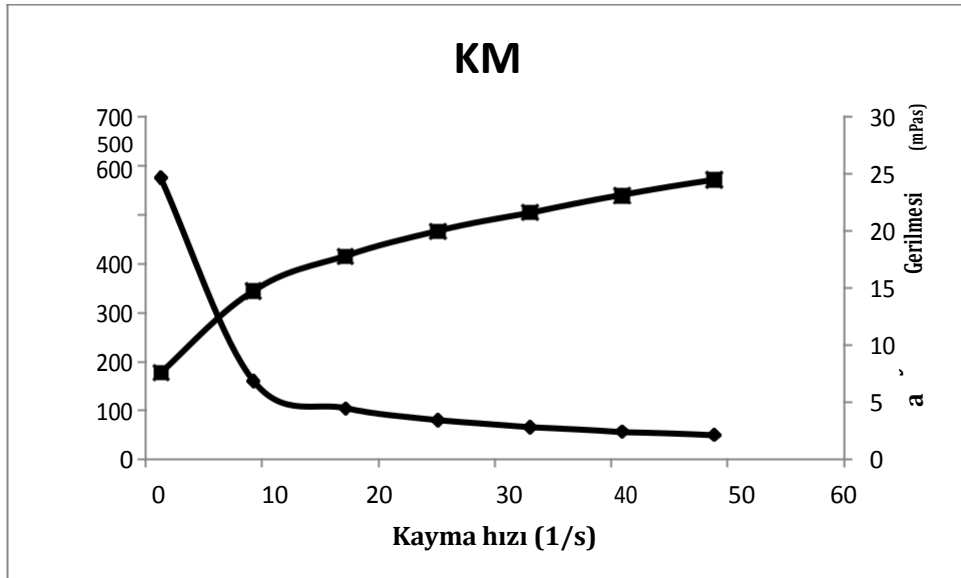
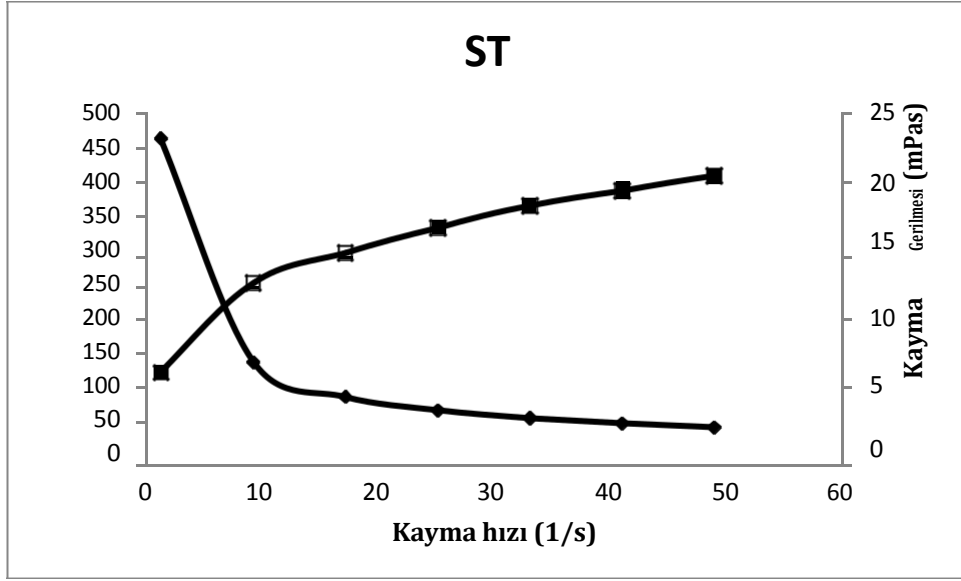
Uçucu bileşen ismi (µg/L)	BB	ST	KM	SK	DK	SÜT
Ethyl caproate (CAS) Hexanoic acid. ethyl ester	-	-	0.14±0.06	-	-	-
Isopropyl myristate	-	-	-	-	0.14±0.2	-
Ethyl Octanoate	1.27±1.8	-	0.05±0.08	-	-	-
Octanoic acid. ethyl ester (CAS) Ethyl caprylate	-	-	0.1±0.14	-	-	-
Toplam Ester	6.76	0.00	5.44	0.00	0.14	0.00
Terpen						
β-Myrcene	0.02±0.02	-	0.03±0.04	-	1.13±1.59	0.15±0.05
1-p-menthen-9-al	-	-	-	-	-	-
D-Limonene	0.08±0.12	0.17±0.1	0.05±0.07	-	1.19±1.09	0.76±0.75
Sabinene	-	-	-	-	0.18±0.25	0.07±0.02
(E)-Geraniol	-	-	-	-	-	-
Toplam Terpen	0.10	0.17	0.07	0.00	2.50	0.98
Thiol						
3-Methyl-2- butanethiol	-	-	0.04±0.06	-	-	-
Pirazin						
2,5- Dimethylpyrazine	-	-	-	-	-	-
Methylpyrazine	-	-	-	-	-	-
Laktone						
δ-Decalactone (CAS) 5-pentyl pentan-5- olide	-	-	-	-	-	-
Toplam uçucu bileşen miktarı						
	423.21	49.78	60.43	43.23	94.07	35.93

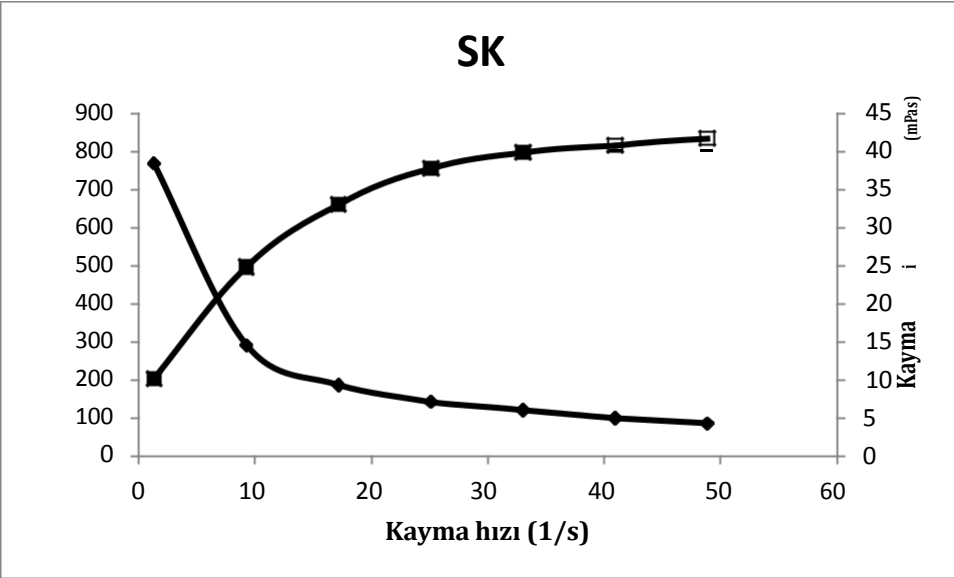
EK 4. Ürünlerin kayma gerilmesi/ kayma hızı ve görünür viskozite / kayma hızı reogramları











ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı :Fatma Ecemnur DURAN

Doğum Yeri ve Yılı : Kumluca / 26.01.1994

Medeni Hali :Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : ecemnurduran@gmail.com



Eğitim Durumu

Lise : KUMLUCA GÜL-ÇETİN KAUR ANADOLU LİSESİ.2007-2011

Lisans : Atatürk Üniversitesi. Ziraat Fakültesi. Gıda Mühendisliği.
2011-2016

Mesleki Deneyim

ISUBU Eğirdir Meslek Yüksekokulu

Eylül 2018- Şubat 2019