

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

**OLİGOFRUKTOZLA ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ SÜTTEN
ÜRETİLEN KEFİRLERİN KALİTESİ ÜZERİNE TANE
VE KÜLTÜR KULLANIMININ ETKİLERİ**

Gülşah ENDER

Süt Teknolojisi Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu: 501.10.01

Sunuş tarihi: 21/08/2009

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Necati AKBULUT

Bornova-İzmir

III

Gülşah ENDER tarafından **DOKTORA TEZİ** olarak sunulan **“Oligofruktozla Zenginleştirilmiş Sütten Üretilen Kefirlerin Kalitesi Üzerine Tane ve Kültür Kullanımının Etkileri”** başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve/08/2009 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı :

Raportör Üye :

Üye :

Üye :

Üye :

ÖZET**OLİGOFRUKTOZLA ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ SÜTTEN
ÜRETİLEN KEFİRLERİN KALİTESİ ÜZERİNE TANE VE
KÜLTÜR KULLANIMININ ETKİLERİ****ENDER, Gülşah****Doktora Tezi, Süt Teknolojisi Bölümü****Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Necati AKBULUT****Ağustos 2009, 236 Sayfa**

Bu çalışmada; fermente bir süt içeceği olan kefirde tane ve kültür kullanımının, ürünün fiziksel, biyokimyasal, mikrobiyolojik ve duysal özelliklerine etkisinin ortaya konulması, prebiyotik (fruktooligosakkarit) ilavesinin ürünün özelliklerine ve kefir organizmalarının canlılık düzeyine etkisinin belirlenmesi, prebiyotik kullanımının kefirin aroma ve tekstür başta olmak üzere duysal özellikleri üzerine etkilerinin incelenmesi ve olgunlaşma süresince ürünün probiyotik özelliğini devam ettirip ettiremeyeceğinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla kültürle, fruktooligosakkarit ilaveli süttten kültürle, taneyle ve fruktooligosakkarit ilaveli süttten taneyle olmak üzere 4 farklı kefir içeceği üretimi gerçekleştirilmiş ve kefirler 1 ay süreyle +4⁰C'de depolanmışlardır. Depolamanın 1., 10., 20. ve 30. günlerinde örneklerde fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duysal özellikler belirlenmiştir.

VI

Kefir örneklerinin pH, proteolitik aktivite ve laktoz değeri hariç diğer fiziksel ve kimyasal özellikleri arasındaki farklılığın önemli olduğu tespit edilmiştir. Depolamanın 10. gününe kadar artış gösteren *lactococcus*, *laktobacillus* ve *leuconostoc* sayılarının 20. gün itibariyle azaldığı, maya-küf ve asetik asit bakteri sayısının ise 30 günlük depolama süresince artış gösterdiği tespit edilmiştir. Asetaldehit ve diasetil miktarları kültürle elde edilen ürünlerde taneye göre daha fazla olmuştur. Kefir üretimi sırasında fermentasyon sonucu açığa çıkan ve kefirin beslenme değeri ve sağlık üzerine etkilerine ilişkin özelliklerini etkileyen maddelerden oksalik, laktik, pürivik, fumarik ve sitrik asit tespit edilmiştir. 30 günlük depolama süresince laktik asit miktarı artarken diğerlerinin azaldığı ve fruktooligosakkarit ilavesinin organik asit değerlerini arttırdığı belirlenmiştir. 4 farklı üretim yöntemiyle gerçekleştirilen kefirlerin hepsinde *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* gibi test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivite tespit edilmiştir.

Duyusal analiz sonuçlarına göre kültürden elde edilen kefir içeceği ile fruktooligosakkarit ilaveli süttten kültürle elde edilen kefir içeceği en çok beğenilen ve tercih edilen ürünler olmakla birlikte 1 ay boyunca kefir içeceğinde aranan özellikleri koruduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Kefir, fermente süt, probiyotik, prebiyotik, fruktooligosakkarit.

ABSTRACT

**THE EFFECTS OF USING GRAIN AND CULTURE ON THE
QUALITY OF KEPHIR PRODUCED BY OLIGOFRUCTOSE
ENRICHED MILK**

Ender, Gülşah

PhD Thesis in Dairy Technology

Supervisor: Prof. Dr. Necati AKBULUT

August 2009, 236 pages

In this study, the purpose was to determine the effect of using grain and culture in kephir that is a fermented milk drink, its effect on the physical, biochemical, microbiological and sensory properties, its effect on prebiotic (fructooligosaccharide) addition on the product's properties and effect of kephir on organisms' vitality, investigating effect of using prebiotic on sensory properties of kephir, aroma and texture, and whether the prebiotic properties of the product stay intact during ripening.

In this manner, 4 different kephir drinks were produced including culture with fructooligosaccharide, grains and fructooligosaccharide with grains additions, and were stored in +4⁰C for 1 month. Physical, chemical, microbiological and sensory properties were investigated by samples taken in day 1, 10, 20 and 30.

It is determined that the difference in physical and chemical properties except pH, proteolytic activity and lactose values of kephir

VIII

samples were important. *Lactococcus*, *Lactobacillus* and *Leuconostoc* amounts that have risen until day 10 started decreasing in day 20, mold-yeast and acetic acid bacteria amount has risen in 30 day of storage. Acetaldehyde and diacetyl amounts were higher in culture production than in grains production. Oxalate, lactic, pyruvic, and citric acid were found to appear after the fermentation in kephir production and affect kephir's nutrition values and effects on health. All except lactic acid lowered in 30 days of storage and fructooligosaccharide additive was seen to increase organic acid values. Kephirs that were produced in 4 different methods had shown antimicrobial activity against test microorganisms such as *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*.

According to sensory analysis results kephir produced with culture and kephir drink produced with culture with fructooligosaccharide addition were most liked and preferred ones, and they preserved the properties that kephir drinks have for 1 month.

Key Words: Kephir, fermented milk, probiotic, prebiotic, fructooligosaccharide.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince büyük ilgi ve desteğini gördüğüm, kıymetli görüşlerinden ve deneyimlerinden yararlandığım, bugüne gelmemde büyük emeği olan değerli danışmanım Prof.Dr.Necati AKBULUT'a en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Öneri ve eleştirileriyle çalışmalarına katkıda bulunan Tez İzleme Komitesinin değerli üyeleri Prof.Dr. Sibel Akalın ve Yrd.Doç.Dr. Nural Karagözlü'ye ve çalışmamın her aşamasında yardım, yönlendirme ve motivasyonla sürekli katkılarını gördüğüm Prof.Dr.Özer Kınık'a ayrıca çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım esnasında yardımlarından dolayı Zir.Yük. Müh.'i Oktay Yerlikaya'ya ve duyuşsal analizlerin gerçekleşmesini sağlayan Süt Teknolojisi Bölümü Öğretim Üyesi ve Araştırma Görevlisi arkadaşlarım ile yardımları nedeniyle tüm bölüm personeline ve antimikrobiyal aktivite konusunda değerli görüşlerinden faydalandığım E.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Doç.Dr. Mustafa Ateş'e, organik asit tayinindeki yardımlarından dolayı CBÜ Mühendislik Fakültesi Öğretim Görevlisi Dr.Kemal Seçkin'e teşekkür ederim.

Çalışmayı maddi yönden destekleyen E.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na ve ayrıca Pınar Süt A.Ş., Maysa Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş.(Kozyatağı, İstanbul), Oligofruktoz (Fibrulose 97) Fruktooligosakkaritleri Cosucra (Cosucra S.A., B-7643 Fontenoy, Belçika) ve Plaş Plastik A.Ş.'e şükranlarımı sunarım.

Doktora öğrenimimde destek ve yönlendirmelerinden yararlandığım Uzm.Dr. Serdar Baysal'a, gösterdiği manevi destek ve yol için değerli büyüğüm Uğur Şafak Coşkun'a, öğrenim hayatım süresince sevgi ve maddi manevi desteklerini hiç eksik etmeyen kıymetli anne ve babama en içten sevgilerle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VII
TEŞEKKÜR.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XV
ÇİZELGELER DİZİNİ	XVIII
RESİMLER DİZİNİ.....	XX
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	15
2.1. Kefir Tanımı ve Genel Özellikleri	15
2.2. Probiyotik Olarak Kefir.....	19
2.2.1. Kefirin Sağlık Üzerine Etkileri	19
2.2.1.1. Laktoza İntolerans.....	21
2.2.1.2. Bağışıklık Sisteminin Uyarılması	22
2.2.1.3. Antimutajenik ve Antikarsinojenik Etkileri.....	24
2.2.1.4. Antimikrobiyal ve Antagonistik Etki.....	29
2.2.1.5. Kolesterol Düşürücü Etki.....	32
2.2.1.6. Bakteriyel Kolonizasyon.....	35
2.2.1.7. Besin Maddeleri Sentezi ve Biyolojik Değeri Arttırma Fonksiyonları	36
2.2.1.8. Diğer Yararlı Etkileri	36
2.3. Kefir Tanesi ve Kefir Kültürünün Yapısı.....	37
2.4. Prebiyotiklerin Genel Özellikleri	71

3. MATERYAL ve METOT	77
3.1. Materyal	77
3.1.1. Süt ve Süttozu	77
3.1.2. Prebiyotik	77
3.1.3. Kültür	77
3.1.4. Kefir Tanesi	77
3.1.5. Test Mikroorganizmaları	78
3.1.6. Etanol Analiz Kiti	78
3.1.7. Ambalaj Materyali	78
3.2. Metot	78
3.2.1. Kefir Tanesinin Aktive Edilmesi	78
3.2.2. Kefir Kültürünün Aktive Edilmesi	79
3.2.3. Test Mikroorganizmalarının Aktive Edilmesi	79
3.2.4. Kefir Üretimi	79
3.2.5. Analiz Metotları	82
3.2.5.1. Kefire İşlenecek Süte Uygulanan Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Analizler	82
3.2.5.2. Kefir Tanesinde Ağırlık Artışı	82
3.2.5.3. Kefire Uygulanan Fiziksel Analizler	83
3.2.5.4. Kefire Uygulanan Biyokimyasal Analizler	83
3.2.5.4.1. Proteolitik (Tirozin Değeri) Aktivite	83
3.2.5.5. Aroma Maddeleri Tayini	85
3.2.5.5.1. Asetaldehit Tayini	85
3.2.5.5.2. Diasetil Tayini	85
3.2.5.5.3. Alkol Tayini	86
3.2.5.6. Organik Asit Tayini	88

XIII

3.2.5.7. Kefire Uygulanan Mikrobiyolojik Analizler	89
3.2.5.7.1. Antimikrobiyal Aktivite.....	90
3.2.5.8. Duyusal Değerlendirme	91
3.2.5.9. İstatistiksel Analiz Yöntemleri	91
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	93
4.1. Kefir Üretiminde Kullanılan Sütün Bileşimi	93
4.2. Kefir Üretiminde Kullanılan Kefir Kültürü ve Tanesinin Özellikleri.....	94
4.2.1. Kefir Kültürünün Özellikleri.....	95
4.2.2. Kefir Tanesinin Özellikleri.....	96
4.2.2.1. Kefir Tanesinde Ağırlık Artışı.....	98
4.3. Kefirlerin Fiziksel Özellikleri	99
4.3.1. Serum Ayrılması	100
4.3.2. Viskozite.....	103
4.4. Kefirlerin Biyokimyasal Özellikleri.....	106
4.4.1. Kefirlerin Bileşimi ve Kimyasal Özellikleri	106
4.4.1.1. Kurumadde.....	108
4.4.1.2. Yağ.....	110
4.4.1.3. Laktoz	114
4.4.1.4. Protein.....	116
4.4.1.5. Proteolitik (Tirozin Değeri) Aktivite	119
4.4.1.6. Asitlik (SH).....	122
4.4.1.7. pH.....	126
4.4.2. Aroma Maddeleri	129
4.4.2.1. Asetaldehit	131
4.4.2.2. Diasetil	135

XIV

4.4.2.3. Alkol	138
4.4.3. Organik Asitler.....	142
4.5. Kefirlerin Mikrobiyolojik Özellikleri	151
4.5.1. Antimikrobiyal Aktivite	151
4.5.2. Mikrobiyolojik Sayımlar	165
4.5.2.1. Laktobasil Sayısı.....	166
4.5.2.2. Laktokok Sayısı	171
4.5.2.3. Leukonostok Sayısı.....	176
4.5.2.4. Asetik Asit Bakterileri Sayısı	178
4.5.2.5. Maya Sayısı	182
4.6. Kefirlerin Duyusal Özellikleri	187
5. SONUÇ	195
KAYNAKLAR	198
EKLER.....	229
Ek 1: Leukonostok Sayımı İçin Besiyeri	229
Ek 2: Arginin Broth Besiyeri	230
Ek 3: Asetik Asit Bakterileri Sayımı İçin Besiyeri.....	231
Ek 4: Varyans Analiz Tablosu	232
Ek 5: Organik Asit Standartları Kromatogramı	234
Ek 6: Kefirdeki Organik Asitlerin Kromatogramı	235
ÖZGEÇMİŞ	236

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa No</u>
2.1. Kefirin Probiyotik Etkisi (Farnworth, 2005).....	20
4.1. Kefirlerin Serum Ayrılması Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi.....	101
4.2. Kefirlerin Viskozite Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi	104
4.3. Kefirlerin Kurumadde Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi	108
4.4. Kefirlerin Yağ Oranlarının Depolama Süresi Boyunca Değişimi	111
4.5. Kefirlerin Laktoz Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi	114
4.6. Kefirlerin Protein Miktarlarının Depolama Süresi Boyunca Değişimi	117
4.7. Kefirlerin Tirozin Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi	120
4.8. Kefirlerin Asitlik Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi	122
4.9. Kefirlerin pH Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi	127
4.10. Kefirlerin Asetaldehit Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi.....	132
4.11. Kefirlerin Diasetil Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi	135

4.12. Kefirlerin Alkol Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca	
Değişimi.....	139
4.13. Kefirlerin Oksalik Asit Değerlerinin Depolama Süresi	
Boyunca Değişimi.....	145
4.14. Kefirlerin Laktik Asit Değerlerinin Depolama Süresi	
Boyunca Değişimi.....	146
4.15. Kefirlerin Pürivik Asit Değerlerinin Depolama Süresi	
Boyunca Değişimi.....	147
4.16. Kefirlerin Fumarik Asit Değerlerinin Depolama Süresi	
Boyunca Değişimi.....	148
4.17. Kefirlerin Sitrik Asit Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca	
Değişimi.....	149
4.18. Kefirlerin <i>Salmonella typhimurium</i> 'a Karşı Gösterdiği	
Antimikrobiyal Aktivitenin Depolama Süresi Boyunca	
Değişimi.....	153
4.19. Kefirlerin <i>Staphylococcus aureus</i> 'a Karşı Gösterdiği	
Antimikrobiyal Aktivitenin Depolama Süresi Boyunca	
Değişimi.....	154
4.20. Kefirlerin <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'ya Karşı Gösterdiği	
Antimikrobiyal Aktivitenin Depolama Süresi Boyunca	
Değişimi.....	156
4.21. Kefirlerin <i>Escherichia coli</i> 'e Karşı Gösterdiği	
Antimikrobiyal Aktivitenin Depolama Süresi Boyunca	
Değişimi.....	157
4.22. Depolama Süresi Boyunca Kefirlerin Laktobasil Sayılarında	
Meydana Gelen Değişimler	167

XVII

4.23. Depolama Süresi Boyunca Kefirlerin Laktokok Sayılarında	
Meydana Gelen Değişimler.....	172
4.24. Depolama Süresi Boyunca Kefirlerin Leukonostok	
Sayılarında Meydana Gelen Değişimler	176
4.25. Depolama Süresi Boyunca Kefirlerin Asetik Asit Bakterileri	
Sayısında Meydana Gelen Değişimler	179
4.26. Depolama Süresi Boyunca Kefirlerin Maya Sayılarında	
Meydana Gelen Değişimler.....	182
4.27. Depolama Süresi Boyunca Kefirlerin Tat-Aroma Puanlarında	
Görülen Değişimler	189
4.28. Depolama Süresi Boyunca Kefirlerin Kıvam Puanlarında	
Görülen Değişimler	191
4.29. Kefirlerin Genel Olarak Duyusal Değerlendirmesinde	
Depolama Süresi Boyunca Görülen Değişimler	192

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa No</u>
1.1. Türkiye’de Süt Üretimi	1
1.2. Kişi Başına Yıllık Süt Tüketimi.....	2
1.3. Fermente Süt Ürünlerinin Tarihçesi	6
1.4. Fermente Süt Ürünlerinin ve Süt İçeceklerinin Farklı Ülkelerdeki Tüketimi	8
1.5. Fermente Süt Ürünlerinin ve Süt İçeceklerinin Farklı Ülkelerde Kişi Başına Tüketimi	9
2.1. Kefirin Besinsel Özellikleri.	17
2.2. Kefirin Teröpatik Özellikleri	20
2.3. Kefir Tanesi, Kefir Kültürü ve Kefir İçeceğinin Mikroflorası	39
2.4. Fermentasyonda Rol Oynayan Mikroorganizmaların Genel Özellikleri	41
2.5. Fermentasyonda Rol Oynayan Mikroorganizmaların Metabolik Aktiviteleri.....	42
2.6. Kefirde ve Kefir Tanelerinde Bulunan Mayalar	43
2.7. Kefirde ve Kefir Tanelerinde Bulunan Bakteriler	45
3.1. Kefirde Alkol Tayini.....	86
3.2. Kefirde Duyusal Değerlendirme Skalası	91
4.1. Kefir Üretiminde Kullanılan Sütün Özellikleri	93
4.2. Kefir Kültürünün Mikrobiyolojik Özellikleri	95
4.3. Kefir Tanesinin Mikrobiyolojik Özellikleri.....	96

XIX

4.4. Kefir Tanesinde İnokülasyondan Önce ve Sonra Ağırlık Artışı.....	98
4.5. Kefirlerin Fiziksel Özellikleri	100
4.6. Kefirlerin Bileşimi ve Kimyasal Özellikleri	106
4.7. Kefirlerde Aroma Maddeleri.....	130
4.8. Kefirde Organik Asitler.....	143
4.9. Kefirlerin Antimikrobiyal Aktiviteleri.....	152
4.10. Kefirlerin Mikrobiyolojik Özellikleri	165
4.11. Kefirlerin Duyusal Özellikleri.....	187

RESİMLER DİZİNİ

<u>Resim</u>	<u>Sayfa No</u>
2.1. Kefir Tanelerinin Görünümü	40
3.1. Kültür ile Kefir Üretimi	81
3.2. Fruktooligosakkarit İlaveli Sütten Kültür ile Kefir Üretimi	81
3.3. Süt ve Fruktooligosakkarit İlaveli Sütten Tane ile Kefir Üretimi	82
3.4. Viskozite Tayininde Kullanılan Rotational Viskozimetre	84
3.5. Aroma Maddeleri, Alkol ve Tirozin Tayininde Kullanılan Spektrofotometreler	88
4.1. Kültürle Üretilen Kefirlerde Antimikrobiyal Aktivite (arkadan görünüş)	162
4.2. Kültürle Üretilen Kefirlerde Antimikrobiyal Aktivite (önden görünüş)	163
4.3. Kültürle Üretilen Kefirlerde Antimikrobiyal Aktivite (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'da floresans oluşumu)	163
4.4. Kültürle ve Taneyle Kefir Üretiminde Antimikrobiyal Aktivite	164
4.5. Kültürle ve Taneyle Kefir Üretiminde Antimikrobiyal Aktivite	164
4.6. Kefirde Bulunan Laktobasillerin Petri Kutusunda Görünümü	169
4.7. Kefirde Bulunan Laktokokların Petri Kutusunda Görünümü	173

4.8. Kefirde Bulunan Leukonostokların Petri Kutusunda	
Görünümü	177
4.9. Leukonostok Besiyerinde Gelişen Şüpheli Kolonilerin	
Arginin Broth'ta (Mor Renk Oluşumu) Görünümü	177
4.10. Kefirde Bulunan Asetik Asit Bakterilerinin Petri	
Kutusundaki Görünümü	180
4.11. Kefirde Bulunan Mayaların Petri Kutusundaki Görünümü	184

1. GİRİŞ

Beslenme; “büyüme ve yaşamın sürdürülmesi, sağlığın korunması için besinlerin alınıp organizmada yararlı bir biçimde kullanılmasıdır” şeklinde tanımlanmaktadır. Beslenmenin temel öğelerinden olan süt de protein, karbonhidrat, yağ, vitaminler ve mineral maddelerce zengin önemli bir besin kaynağı olması ve beslenme için gerekli birçok besin öğesini, dengeli ve yeterli olarak bünyesinde bulundurması açısından yeni doğan canlılar ile her yaştaki insanlar için mükemmel ve eksiksiz bir besin olarak karşımıza çıkmaktadır. Yararlarından dolayı tüm dünyada olduğu gibi ülkemiz beslenmesinde de önemli bir yer tutan sütün, Türkiye’deki üretim değerinin 1999 – 2004 yılları arasında yaklaşık 10 milyon ton olduğu ve Türkiye’deki toplam arz ve nüfus bilgileri göz önüne alındığında ise kişi başına yıllık süt tüketim değerinin ortalama 150 kg olduğu aşağıdaki çizelgelerde görülmektedir (Çizelge 1.1 ve Çizelge 1.2). (Us, 2006; Anonymous, 2006).

Çizelge 1.1. Türkiye’de Süt Üretimi(ton) (Us, 2006; Anonymous, 2006)

Cinsler	1999	2000	2001	2002	2003	2004
İnek	8.965.490	8.732.041	8.489.082	7.490.633	9.514.138	9.609.327
Koyun	804.696	774.380	723.346	657.387	769.959	771.716
Keçi	236.581	220.211	219.795	209.621	278.136	259.087
Manda	75.243	67.330	63.327	50.925	48.778	39.279
Toplam	10.082.010	9.793.962	9.495.550	8.408.566	10.611.011	10.679.409

Çizelge 1.2. Kişi Başına Yıllık Süt Tüketimi (Us, 2006; Anonymous, 2006)

	2002	2003	2004	2005*
KBTük. Kg/yıl	147	158	150	149

*2005 yılı rakamları tahmindir.

Sağlıklı beslenmede diyetin öncelikli görevi, metabolik gereksinimleri karşılamak ve vücudun çalışması için gerekli enerji ve besin öğelerini yeterli miktarda sağlamaktır. Beslenme bilimindeki son gelişmeler, diyetin sadece optimal sağlığın oluşumu ve gelişiminde değil bazı hastalık riskini azaltmada da potansiyel bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bu bağlamda sağlıklı ve dengeli beslenme ile buna bağlı olarak yaşam kalitesini artırma açısından fonksiyonel gıdalar gittikçe önem kazanmaktadır (Grajek et al., 2005; Roberfroid, 2000).

Fonksiyonel gıda kavramı ilk olarak 1980’lerde beslenme, duyuşal doygunluk, fortifikasyon (takviye etme), fizyolojik sistemlerin modülasyonu arasındaki ilişkilerle çalışan Japon bilim adamları tarafından geliştirilmiş (Siro et al; 2008), ilk kez 1984’te Japonya’da özel bileşenlerle güçlendirilen fizyolojik etkili gıda ürünleri için kullanılmıştır (Hardy, 2000; Stanton et al., 2005).

Günümüzde tüketici bilincinin ve sağlıklı gıdalara olan yönelimin artmasıyla beraber tüketiciler, kalorisini düşük ve duyuşal özelliklerinin üstün olmasının yanında sağlık açısından yararlı gıdaları tercih etmekte ve gıdalarla sağlık arasındaki ilişkiye daha çok dikkat etmektedirler. Bu nedenle de fonksiyonel gıdalar, gıda pazarının önemli ve hızla gelişen bir

bölümü haline gelmiş ve fonksiyonel gıdaların üretimi hız kazanmıştır. Özellikle de probiyotik ve prebiyotik içeren gıdaların popüleritesi gün geçtikçe artmıştır. Gelişen fonksiyonel gıda piyasasında süt ve süt ürünleri ise toplumun geniş kesimi tarafından tüketildikleri ve probiyotikler ile prebiyotiklerin kullanımlarına uygun oldukları için ayrıca önem taşımaktadırlar (Siro et al., 2008).

Yaşam için anlamına gelen probiyotikler, insanların bağırsak mikroflorasını dengede tutmak, sağlığı iyileştirici etki sağlayabilmek ve korumak için gıdalara ilave edilen mikrobiyal katkılardır. Bu nedenden dolayı ki probiyotikler ve probiyotik etki gösteren mikroorganizmalar, son 20 yıldır, başta yoğurt olmak üzere diğer fermente süt ürünlerine ilave edilmektedir. Bu terim ilk kez fermente süt ürünlerinin sağlığa yararlı etkilerinin olduğunu belirten Metchnikoff isimli araştırmacı tarafından 20. yüzyılın başlarında ortaya atılmıştır. Probiyotikler; sindirim sisteminin düzenli çalışmasını sağlamalarının yanında ishalin önlenmesi, ülserin kontrolü, kolesterolün düşürülmesi, bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi, kolon kanserinin önlenmesi gibi konularda da insan sağlığını olumlu yönde desteklemektedirler (Sarkar, 2007; Benkouider, 2005; Manning et al., 2004).

Probiyotik ve prebiyotikler yararlı etkilerini, antibiyotiklerin tersine canlı organ sistemine kimyasalların verilmesi ile değil doğal koşullarda mevcut florayı yeniden oluşturarak sağlarlar. Bu nedenle yan etkileri bulunmamaktadır. Probiyotikler, gastrointestinal bakteri florasını olumlu yönde etkilemelerine rağmen probiyotiklerin bu yararlı etkileri geçici

olmaktadır. Bu nedenle probiyotik bakteriler sadece diyetlerle verildiği süre içinde bu etkileri gösterebilmekte dolayısıyla prebiyotiklerin destekleyici olarak sürekli kullanımı söz konusu olmaktadır (Djouzi and Andrieux, 1997).

Prebiyotikler, bağırsaktaki sindirime yardımcı, besin emilimini olumlu yönde etkileyen ve bağışıklık sistemini güçlendiren faydalı mikrofloranın (örneğin *Bifidobakteriler* ve *laktik asit bakterileri* gibi) gelişimini ve/veya aktivitesini düzenleyerek patojen mikroorganizmaların gelişimini inhibe eden, kendileri sindirime uğramayan gıda ingrediyanleridir. Şimdiye dek belirlenmiş ve bahsedilen kriterleri taşıyan en uygun prebiyotikler fruktooligosakkaritlerdir (Ötleş and Çağındı, 2003).

Fruktooligosakkaritler (FOS); hindiba, soğan ve kuşkonmaz gibi pek çok meyve, sebze ve tahıl ürünlerinde doğal olarak bulunan, sindirilmeyen karbonhidratlardır. β -D-fruktofuranosidaz veya fruktosiltransferaz enzimleri kullanılarak da üretilabilmektedirler. Bakteriler tarafından fermentasyonları sonucunda ise kısa zincirli yağ asitleri ve laktat gibi diğer metabolitleri oluşmaktadır.

Fruktooligosakkaritler; fruktozil birimlerinin 2→1 bağıyla bağlandığı kısa ve orta zincirli β -D-fruktanlardır. Polimerizasyon dereceleri inülin için 2-60, oligofruktoz için 2-20 arasındadır. Fruktooligosakkaritler; α -amilaz, sakkaraz veya maltaz gibi enzimlerle sindirilememektedirler. Gastrointestinal sistemin üst kısmını, emilime uğramadan geçerek bağırsağa ulaşırlar. Burada bulunan faydalı

bakteriler, fruktooligosakkaritleri metabolize edebilen enzimlere sahiptirler (Pereira and Gibson, 2002; Kınık ve ark., 2001; Fooks et al., 1999; Losada and Olleros, 2002).

Prebiyotik özellikteki fruktooligosakkaritler, sağlık açısından faydalı gıda bileşenleri olmalarının yanı sıra pek çok üründe kullanılmalarına olanak sağlayan fizikokimyasal karakteristiklere de sahiptirler. Örneğin asidik koşullarda ve yüksek sıcaklıklarda stabil olmaları proses sırasında yapılarının bozulmasını engellemektedir (Gilliand, 2001; Manning et al., 2004; Wszolek et al., 2006; Ötleş and Çağındı, 2003).

Fermente ürünlerin beslenmemizde kullanımı binlerce yıl geriye dayanmasına karşın, üretim ve tüketimleri ile ilgili yazılı kayıtlara ulaşmak daha yakın tarihlerde mümkün olmuştur. Süt, et ve sebzelerin fermentasyon yöntemlerine ait bilgilere M.Ö. 6000 yılına kadar olan kaynaklarda rastlanmıştır. Başlangıçta rastlantısal bazı olaylarla ortaya çıkan fermente gıdalar, günümüzde dünyada tüketilen tüm gıdaların yaklaşık 1/3'ünü oluşturmaktadır. Toplam üretim ve tüketim miktarları açısından fermente gıdalarda ilk 3 sırayı süt ürünleri, içecekler ve tahıl ürünleri almaktadır (Kurman et al., 1992). Fermente süt ürünlerinin tarihçesine ait araştırmalar Çizelge 1.3.'de verilmiştir.

Çizelge 1.3. Fermente Süt Ürünlerinin Tarihçesi (Kurman et al., 1992)

AŞAMA	ZAMAN ARALIĞI	GELİŞİM ÖZELLİKLERİ
I	- M.Ö. 8000 civarı-Ortaçağ - Ortaçağ'da 1900'lü yıllar	- Ekşitilmiş süt, yoğurt, kımız, kefir gibi tesadüfi kültürler kullanarak üretilen ev yapımı geleneksel ürünler - Tesadüfi kültürlerin kullanımıyla spesifik ürünlerin gelişiminin devamı
II	- 1900-1930 - 1930-1970 - 1970'lerden günümüze	- Endüstriyel üretimin başlamasıyla belli kültürler kullanılarak ürünlerin üretimi; fermente ürünlerde ilk olarak saf laktik kültürler kullanıldı. 1910'lu yıllarda insan beslenmesinde sebze yada meyve preparatları ve çeşitli yoğurtlar ilk kez kullanıldı. - Dünyanın her yerinde fermente süt ürünleri tüketiminin artmaya başlaması - Fermente süt ürünlerinden özellikle yoğurt tüketiminin süratle artması. Yoğurt hakkında ilk bilimsel inceleme (Rasic ve Kurman 1978)
III	- 1921 - 1935 - 1948-1968 - 1968'den günümüze - 2000'li yıllar	- İnsan bağırsağına ait seçilmiş suşlarla fermente süt ürünleri üretimi. <i>Asidofilus</i> sütünde <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un kullanımı ve bu konuda ilk bilimsel inceleme (Rettger ve Cheplin 1921). - Fermente süt ürünü yakultta, <i>Lactobacillus casei</i> Shirota suşunun kullanımı. - Fermente süt ürünlerinde <i>Bifidobacterium bifidum</i> kullanımı (Mayer 1948; Schuler-Malyoth ve ark. 1968). - <i>Asidofilus</i> bakterisi ve bifidobakterileri içeren fermente süt ürünlerinin tüketimlerinin artması; bu bakterilerin gelişimini in vivo koşullarda teşvik etmek için besinlerin birleşmesinin başlaması. - Bifidobakteriler ve bunların fermente süt ürünlerinde kullanımıyla ilgili ilk bilimsel inceleme (Rasic ve Kurman 1983). - Bağırsağa dost bakterileri içeren ürünlerin endüstriyel üretiminin gelişmesi
IV	- 2000'den sonra	- İnsan bağırsağındaki bakterilerden seçilen suşların kullanımıyla hazırlanan sütlerden yada sağlık amaçlı olarak bunlara diğer laktik asit bakterilerinin kombinasyonuyla fermente ürünlerin üretimi

Fermente süt ürünleri, birçok ülkede günlük diyetin önemli bir ksmn oluşturmaktadır. Sütün mikrobiyal starter kültürler tarafından fermente edilmesi ile ürünün raf ömrünü arttıran laktik asit başta olmak üzere doğal antimikrobiyal etkili maddeler oluşmakta ve ürüne ayrıca istenilen duyusal özellikler ve tekstür kazandırılmaktadır. Bu bağlamda, fonksiyonel gıdalar alanında çeşitliliğin artması ile probiyotik bakterilerin, ürünlerin besleyici ve sağlığı destekleyici özelliklerinin iyileştirilmesi amacıyla fermente süt ürünlerine ilavesi üzerine olan araştırma ilgisi de artmıştır (Menrad, 2003). Çizelge 1.4.'te fermente süt ürünlerinin ve süt içeceklerinin farklı ülkelerdeki tüketimi ile izelge 1.5.'te fermente süt ürünlerinin ve süt içeceklerinin farklı ülkelerde kişi başına tüketimi verilmiş olup tüketicilerin gıdaların sağlıkları üzerine direk etkili olduklarına olan inançlarının her geçen gün artmasıyla birlikte gerek ülke bazında gerekse kişi başına tüketim miktarı göz önüne alındığında 2001'den itibaren tüketimlerde önemli artışlar olduğu kaydedilmiştir.

Çizelge 1.4. Fermente Süt Ürünlerinin ve Süt İçeceklerinin Farklı Ülkelerdeki Tüketimi
(Anonymous, 2007)

1000 Ton	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Danimarka	198	219	232	241	249	272
Almanya	2.147	2.225	2.351	2.304	2.352	2.360
İspanya	-	886	1.041	1.032	1.040	-
Fransa	1.668	1.716	1.809	1.784	1.796	1.804
İtalya	-	-	378	367	448	497
Hollanda	713	691	689	684	660	706
Avusturya	157	170	170	172	173	189
Finlandiya	205	211	202	201	200	201
İsveç	296	303	312	310	314	330
AB'ye üye 15 ülke	6.981	7.276	7.500	7.854	7.894	8.125
Çek Cumhuriyeti	147	144	151	152	160	161
Kıbrıs	-	-	-	6	6	9
Macaristan	117	121	146	156	194	-
Polonya	338	425	441	455	470	-
Slovakya	68	81	71	68	70	66
AB'ye üye 10 Yeni Ülke	799	921	980	1.004	1.026	1.094
AB 25	7.780	8.197	8.480	8.808	8.848	9.110
İzlanda	10	10	10	12	13	13
Norveç	86	91	95	97	98	109
İsviçre	179	177	193	208	229	234
Hırvatistan	-	-	-	39	70	71
Ukrayna	212	259	278	581	517	547
Kanada	161	180	198	215	233	244
Meksiko	381	412	472	483	536	568
Arjantin	269	246	271	357	403	467
İsrail	145	149	147	147	152	164
Çin	420	530	710	1.200	1.072	2.115
Kore	-	-	548	547	477	-
Güney Afrika	148	148	60	69	-	-

Çizelge 1.5. Fermente Süt Ürünlerinin ve Süt İçeceklerinin Farklı Ülkelerde Kişi Başına Tüketimi (Anonymous, 2007)

% kg	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Danimarka	37,0	40,7	43,0	44,6	45,9	50,5
Almanya	26,1	27,0	28,5	27,9	28,5	28,6
İspanya	-	21,2	24,4	24,0	24,2	
Fransa	26,9	27,7	29,2	28,7	28,7	28,5
İtalya	-	-	6,5	6,3	7,7	8,5
Hollanda	44,6	42,8	42,5	42,0	40,7	45,0
Avusturya	19,6	21,2	21,2	21,1	21,1	21,8
Finlandiya	39,5	40,5	38,8	38,7	38,3	38,6
İsveç	36,7	34,8	34,9	34,6	35,7	36,8
AB'ye üye 15 ülke	18,5	19,1	19,7	20,5	20,7	21,4
Çek Cumhuriyeti	14,3	14,1	14,8	14,9	15,7	15,8
Kıbrıs	-	-	-	7,9	8,0	12,4
Macaristan	11,5	11,9	14,3	15,4	19,2	-
Polonya	8,7	11,1	11,5	11,9	12,3	-
Slovakya	12,5	15,0	13,1	12,6	13,0	12,3
AB'ye üye 10 Yeni Ülke	10,6	12,3	13,7	13,4	14,1	15,0
AB 25	17,3	18,1	18,8	18,9	19,3	19,7
İzlanda	34,0	35,2	36,3	40,1	44,3	42,5
Norveç	19,0	20,0	20,7	21,1	21,3	23,7
İsviçre	24,2	23,7	25,6	27,0	30,7	31,4
Hırvatistan	-	-	-	8,9	15,9	16,0
Ukrayna	4,4	5,4	5,7	10,1	11,0	11,7
Kanada	5,2	5,7	6,2	6,7	7,2	7,5
Meksiko	3,8	4,0	4,5	4,6	5,1	5,3
Arjantin	7,3	6,7	7,2	9,4	10,4	12,0
İsrail	22,3	22,6	22,0	22,0	22,0	23,3
Çin	0,3	0,4	0,6	0,9	1,3	1,6
Kore	-	-	11,5	11,4	9,9	-
Güney Afrika	3,2	3,2	1,3	1,5	-	-

Son yıllarda hem Japonya'daki hem de Avrupa'daki fonksiyonel gıda pazarı, 2005 yılında dünya geneline hakim olmuş (Ouwehand, 2007; Alzamora et al., 2005; Jones and Jew 2007) ve 2004 yılında dünya genelindeki toplam satışlardan elde edilen 31,1 milyar doların %56'sını fonksiyonel gıdalar oluşturmuştur (Ouwehand, 2007; Hilliam, 2000; Benkouider, 2005). Menrad (2003) ve Kotilainen et al. (2006); 2003 yılında Avrupa'daki fonksiyonel gıda pazarının, 4-8 milyar dolar arasında olduğunu ve bu değerin 2006 yılında 15 milyar dolar civarına eriştiğini belirtmişlerdir.

Günümüzde fonksiyonel gıdaların pazar payı hala toplam gıda ve içecek piyasasının %1'inin altındadır. Almanya, Fransa, İngiltere ve Hollanda Avrupa'daki fonksiyonel gıda piyasasında rol oynayan en önemli ülkeler olup (Makinen-Aakula, 2006), bu ülkelerde Avrupa'daki tüm fonksiyonel süt ürünleri satışının 2/3'ü gerçekleştirilmektedir (Hilliam, 2000).

Monar (2007); 2006 yılında, İspanya'daki fonksiyonel gıda pazarının, toplam gıda pazarının ortalama %17'sini oluşturduğunu ve 2020 senesinde bu değerin %40 olacağını belirtmiş, 2000-2005 yılları arasındaki gelişimin %50'den daha fazla olduğunu bildirmiştir.

Bütün olarak bakıldığında, ABD'deki gıda piyasasının %2-3'ünü fonksiyonel gıda pazarının oluşturduğu bildirilmektedir (Menrad, 2003). Bu yüzden 2008'de iki katına çıkacağı tahmin edilmekte olup (Benkouider, 2004) 2009 yılında ABD piyasasında fonksiyonel gıda pazarının 25 milyar dolara ulaşması beklenmektedir (Side, 2006).

Durum fermente süt ürünleri açısından incelenecek olursa, probiyotik süt ürünlerinin, 1999'da 1,35 milyar dolar civarındaki satışlardan sorumlu tutulan bir ürün sektörü haline geldiği görülmüştür. Probiyotik süt ürünlerinin bu başarısı, süt ürünlerinin tüketiciler arasındaki pozitif (olumlu) imajıyla açıklanmaktadır (Makinen-Aakula, 2006; Szakaly et al., 2007). Başlıca probiyotik süt ürünleri pazarını, İskandinavya, Hollanda, İsviçre, Hırvatistan, Estonya oluşturmakla birlikte Yunanistan, Fransa ve İspanya da gelişmekte olan pazarlar arasında sayılabilir. Dünyadaki prebiyotik talebinin ise 167 bin ton ve 390 milyon euro civarında olduğu tahmin edilmektedir (Makinen-Aakula, 2006).

1995-2000 yılları arasında Almanya'daki satışlar 5 milyon dolardan 419 milyon dolar civarına artış göstermiş, bu artışın 301 milyon dolarını probiyotik, prebiyotik ve diğer fonksiyonel yoğurtlar sağlarken, 118 milyon dolarını ise fonksiyonel süt ürünleri içeceklerinin gerçekleştirdiği görülmüştür (Menrad, 2003).

Ülkemizde fermente süt içeceği olarak ayranla birlikte son aylarda kefir de endüstriyel anlamda üretilip marketlerde yerini almaya başlamıştır. 21. yüzyılın yoğurdu olarak tanımlanan kefir; etil alkol ve laktik asit fermentasyonları sonucu elde edilen, geleneksel fermente süt ürünü olup sağlığa olan olumlu etkisi ve besinsel değer, onun tüketimini ve dolayısıyla da üretimini teşvik etmektedir. Kefirin, süt içindeki yağ, laktoz, mineral maddeler ve vitaminler gibi besin maddelerinin tümünü yapısında bulundurmasının yanında oluşumu sırasında bazı vitaminlerin

sentezlenmesi, proteinlerin ve laktozun kısmen parçalanması da beslenme değerini önemli ölçülerde arttırmaktadır. Kefir, dünyanın çok değişik bölgelerinde tüberküloz, kanser ve gastrointestinal bozukluklar gibi hastalıklarda tedaviyi destekleyici unsur olarak geniş çapta kullanılmaktadır. Bugüne kadar kefirin gastrointestinal rahatsızlıklar üzerine etkilerinin araştırıldığı çok sayıda çalışma yapılmıştır. Ayrıca son yıllarda kefirin bazı kanser türlerini kontrol etme özelliği, kolesterol düşürücü etkisi ve bağışıklık sistemi üzerine etkileri ile ilgili olarak pek çok çalışma yapılmış ve bu yönde olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Üstün ve Gökçe, 2001; Manning et al., 2004).

Kefirin Rusya'da alerji, kalp hastalığı, hipertansiyon hastaları ile gastrointestinal ve metabolik rahatsızlığı olan hastalarda olduğu kadar sağlıklı kişilerce de tüketimi yaygındır. Ayrıca kefir, mide ve pankreas gibi bazı organların salgılarını arttırmaktadır. Yapılan çalışmalar kefirin sinirsel rahatsızlıklara, iştahsızlık ve uykusuzluğa iyi gelebileceğini ayrıca göstermiştir (Wszolek et al., 2006; Beshkova et al., 2002).

In vitro çalışmalar da kefirin bünyesinde bulunan laktik asit bakterilerinin Gram(+), Gram(-) bakterilere ve bazı mantarlara karşı antibakteriyel etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Kefir tanelerindeki mikroorganizmaların faaliyeti sonucu kefirde oluşan laktik asit, asetik asit, hidrojen peroksit gibi antibakteriyel maddeler ile antibiyotik etkili bileşikler *Escherichia coli* ve *Salmonella* gibi patojen bakterilerin gelişimini engelleyici etki yapmaktadır (Karagözlü ve Kavas, 2000).

Ayrıca mikroorganizmaların proteolitik aktivitelerinin, ürünün reolojik özellikleriyle birlikte aroma maddeleri, aroma maddelerinin çeşitleri ve miktarlarına da katkıda bulunduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir.

Fermente ürünlerde aroma veren bileşikler, laktik asit ve çeşitli uçucu organik bileşiklerdir ve fermentasyon süresince mikroorganizmalarca üretilirler. Süt yağının hidrolizi ve bakteriyel gelişim nedeniyle meydana gelen organik asitler, fermente süt ürünlerinde son ürünün özelliklerini etkilemektedir (Beshkova et al., 2003).

Yukarıdaki açıklamaların ışığı altında gerçekleştirilen bu projenin amacı; ülkemizde yeni yeni marketlerin raflarında yaygın şekilde yer almaya başlayan kefirin;

- Probiyotik etkili bir ürün olarak önemini vurgulamak,
- Üretimde tane ve kültür kullanımının ürünün fiziksel, biyokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerine etkisini ortaya koymak,
- Prebiyotik ilavesinin ürünün fiziksel, biyokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerine etkisi yanında kefir organizmalarının canlılık düzeyine etkisini belirlemek,

- Elde edilen ürün ile yapılan duyusal analizler neticesinde prebiyotik kullanımının kefirin aroma ve tekstür başta olmak üzere duyusal özellikleri üzerine etkilerini incelemek ve
- Ürünün depolama süresince probiyotik özelliğini devam ettirip ettiremeyeceğini ortaya koymak olarak ifade edilebilir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1.Kefir Tanımı ve Genel Özellikleri

Boyutları 3-20 mm arasında değişen, minyatür karnabahar görünümündeki kefir taneleri yada kefir kültürünün laktik asit ve etil alkol fermentasyonu sonucu elde edilen fermente bir süt ürünü olan kefir; sindirimi kolay, serinletici ve hafif alkollü bir içecektir. Ekşi ve köpüklü olan bu ürünün tarihi kesin olarak bilinmemekle birlikte ilk olarak Kafkasya Bölgesi'nde yaşayan Tatarlar tarafından Elburus Dağları eteklerinde yapıldığı sanılmaktadır (Karagözlü ve Kavas, 2000; Kurman et al., 1992).

Kephir, kiaphur, kefyr, kefer, knapon, kepi ve kippe gibi çeşitli adlar altında üretilmekte olan ve Türkiye'de kefir olarak bilinen bu ürün inek, keçi veya koyun sütlerinin kuzu yada dana midyesinden alınan bir parça ile birlikte tulumlarda veya meşeden yapılmış fiçılarda belirli bir süre bekletilmesiyle tesadüfi olarak üretilmiş olup yapımında pirinç, soya ve hindistancevizi sütü gibi bitkisel kaynaklı sütler de kullanılabilmektedir (Sarkar, 2007; Karagözlü, 1990).

Kefir; sütteki tüm besin maddelerini içerdiği için beslenme değeri oldukça yüksek bir gıda olarak karşımıza çıkmaktadır. Süt içindeki tüm besin maddelerini içermesi ve kefir tanelerinin yapısında bulunan mikroorganizmaların etkisi ile meydana gelen oluşumlar sonucunda besleyici değerinin artması, vücut tarafından daha iyi absorbe edilmesi ve

hazmının kolay olması kefirin önemini ortaya koymaktadır (Sarkar, 2008).

Beslenmede, kefir tüketiminin sayılamaz kadar çok yararlarının olduğu bilinmektedir. Bunlar arasında kolay sindirilebilir olması, mide ve bağırsak florasını temizlemesi, yararlı mikroorganizmaları bünyesinde barındırması, vitaminler, mineraller ve protein içermesi sayılabilmektedir. Fermentasyon sırasında protein ve yağın kısmen parçalanması kefirin sindirilebilirliğini arttırmakta, laktozun hidrolize olması laktoz intolerant kişilerin rahatlıkla tüketmelerine olanak tanımaktadır (Farnworth, 2005; Zubillaga et al., 2001).

Kazein bazlı diyetler ile süt ve fermente sütle beslenen deney farelerinde, maksimum ağırlık artışına bakıldığında en yüksek protein kullanım indeks değeri, fermente süt ürünleriyle beslenen hayvanlarda görülmüştür. Bu durum yani fermente süt ürünleriyle beslenen hayvanların ağırlık artışları ve yarayışlı protein kullanımı, fermente süt ürünlerindeki proteinlerin daha iyi sindirilebildiğini gözler önüne sermektedir (Farnworth, 2005).

Kefirin besinsel özellikleri; onun kimyasal bileşenleri, vitamin, protein ve mineral madde içeriğinden kaynaklanmakta ve fermentasyon besinsel özelliklerin daha fazla zenginleşmesine neden olmaktadır.

Güzel-Seydim et al. (2003); yoğurt ve kefirin aminoasit içeriklerini likit kromatografik yöntemle belirlemiş, kefirde gerçekleşen laktik asit bakterisi ve maya fermentasyonlarının sonucunda threonin, serin, alanin,

lisin ve amonyak miktarının yoğurda göre daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

Kefirin bileşimi, besin değeri ve tadı, üretim şartlarına, kullanılan sütün kaynağına, yağ miktarına ve kefir tanelerinin yapısına bağlı olarak değişmekle birlikte Çizelge 2.1.'de yağlı kefirin ortalama bileşimi ve besin değeri verilmiştir.

Çizelge 2.1. Kefirin Besinsel Özellikleri (Liut Kevicius and Sarkinas, 2004).

Kefirin Besinsel Özellikleri	Besin Bileşenleri	Konsantrasyon
Vitamin (mg/kg)	B1	<10
	B2	<5
	B5	3
Aminoasit (mg/100g)	Tironin	182
	Lisin	376
	Valin	220
	İsolösin	262
	Metiyonin	137
	Fenilalanin	231
	Triptofan	70
Mineral	Potasyum	1,65
Makro elementler (%)	Kalsiyum	0,86
	Magnezyum	1,45
	Fosfor	0,30
Mikro elementler (mg/kg)	Bakır	7,32
	Çinko	92,7
	Demir	20,3
	Mangan	13,0
	Kobalt	0,16
	Molibden	0,33

Yararlı bakteri ve mayaların süte inoküle edilmesiyle üretilen kefirin, vücudun önemli fonksiyonlarında yer alan mineral maddeleri, esansiyel aminoasitleri ve sindirilebilir proteinleri içerdiği, B₁, B₁₂, K vitaminlerince ve enzimce zengin olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Biotin açısından da iyi bir kaynak olan kefirin, folik asit, pantotenik asit ve B₁₂ gibi diğer B vitaminlerinin de vücut tarafından emilimine yardımcı olduğu görülmüştür. Ayrıca içerdiği B vitaminleri böbrek, karaciğer ve sinir sisteminin işleyişinde; kalsiyum ve magnezyum sağlıklı bir sinir sisteminin gelişiminde; fosfor vücudun karbonhidrat, yağ, protein ve enerji metabolizmalarında; esansiyel bir aminoasit olan triptofan da sinir sistemi üzerine rahatlatıcı etki göstermede önemli rol oynamaktadır (Sarkar, 2007; Sarkar, 2008).

Yüksekdağ et al. (2004a); kefirde izole edilen laktokokların proteolitik aktivitelerini incelemişlerdir. Üretimde kullanılan tanelerin, peynir suyu ve soya sütünde kültüre alınması sonucunda sütte kültüre alınana oranla daha yüksek protein yapısına sahip olduğu bulunmuştur. Süt ile karşılaştırıldığında kefir, yoğurt gibi fermente süt ürünleri, daha yüksek serbest amino-nitrojen ve protein olmayan azot içeriğine sahiptir. Dolayısıyla kefir de süte göre daha yüksek miktarda threonin, alanin, lisin ve amonyak içeriğine sahiptir. Luit Kevicius and Sarkinas (2004); kefirin aminoasit profilinde valin, izolösin, metionin, lisin, tirozin, fenilalanin ve triptofan bulunduğunu bildirmişlerdir.

Kefir tüketimi ile birçok hastalığın kontrolü ve iyileştirilmesi üzerine çalışmalar devam etmekle birlikte antimikrobiyal ve

antikanserojen etkisi ile mide ve bağırsak florasının dengesini sağlayarak bu rahatsızlıklara karşı koruyucu ve tedavi edici etkiler yarattığı belirtilmektedir. Konu ile ilgili olarak fermente süt ürünlerinin antikarsinogenik rolü, kanser başlangıcından koruma ve oluşmaya başlayan tümör hücrelerinin enzim aktivitesinin baskıya alınarak önlenmesi veya immün sistem aktivasyonuna dönüştürmesi şeklindedir (Gilliland, 2001; Manning et al., 2004; Wszolek et al., 2006).

Kefirin hastalar, yaşlılar, hamile ve emziren bayanlar, çocuklar ve prematüre doğmuş bebeklerin beslenmesinde ve laktoz intolerans problemi olan kişiler tarafından tüketilmesi önerilmektedir (Douglas and Sanders, 2008).

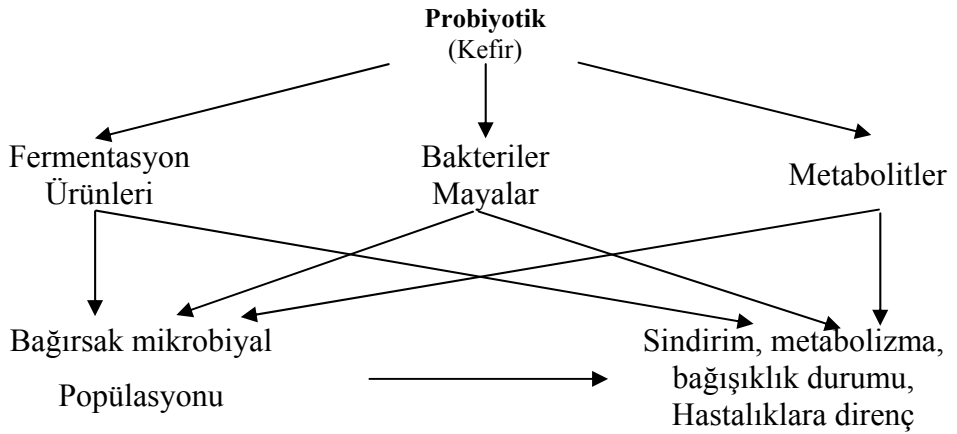
2.2.Probiyotik Olarak Kefir

2.2.1.Kefirin Sağlık Üzerine Etkileri

Kefir ile yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar, kefirin antikanserojenik, antimutajenik, antiviral, antimikrobiyal, kolesterol düşürücü etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Kefir tüketimi ile pek çok hastalığın kontrolü ve iyileştirilmesi üzerine çalışmalar devam etmekle birlikte bu rahatsızlıklara karşı koruyucu ve tedavi edici etkilerini mide ve bağırsak florasının dengesini sağlayarak gerçekleştirdikleri düşünülmektedir. Kefirin farklı bileşenlerinden dolayı çeşitli teröpatik etkilere sahip olduğu Çizelge 2.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.2. Kefirin Teröpatik Özellikleri

Teröpatik Özellikleri	Teröpatik Bileşenler	References
Antibakteriyel spektrum	Hidrojen peroksit	Yüksekdağ et.al.,2004b
	Laktik asit	Garrote et.al.,2000
	Asetik asit	Garrote et.al.,2000
	Bakteriyosin	Santos et.al., 2003
Gastrointestinal hücre artışı	Laktik asit bakterileri	Marquina et.al.,2002
Kolesterol düşürücü etki	Kolesterol düşürücü enzim	Vujicic et.al.,1992
Anti-karsinojenik etki	Polisakkarit	Frukawa et.al., 2000
B-galaktosidaz aktivitesi	B-galaktosidaz enzimi	De Vrese et.al.,1992
Bakteriyel kolonizasyon	Yapısal (S-layer) protein	Garrote et.al.,2000
Bağışıklık	Polisakkarit	Frukawa et.al., 2000

**Şekil 2.1.** Kefirin Probiyotik Etkisi (Farnworth, 2005).

2.2.1.1. Laktoza İntolerans

Laktoza duyarlılık; laktoz intolerans yada laktoz malabsorbsiyon olarak ifade edilmektedir. β -galaktozidaz üretimindeki azalmadan kaynaklanan ve ince bağırsakta yeterli düzeyde bulunmaması sonucu kalın bağırsağa hidrolize olmadan geçen laktozun, burada bulunan mikroorganizmalar tarafından hidrolize edilerek H_2 gazı açığa çıkması sonucu midede şişkinlik, aşırı gaz, bulantı ve sulu ishal gibi belirtilerin görülmesi durumudur. Dünya üzerindeki yetişkinlerin yaklaşık 2/3'ü laktoz intoleransından (laktozun sindirilememesi) dolayı sıkıntılar yaşamaktadır. Diyetle süt yerine fermente süt ürünlerinin kullanılması ile laktoz intolerans olan kişilerde daha az semptomun ortaya çıktığı belirlenmiştir (Sarkar, 2007; Lopitz-Otsoa et al., 2006).

De Vrese et al. (1992) yaptıkları çalışmada, deneklere taze veya ısı uygulanan (heat-treated) kefir taneleri inokule edilerek üretilmiş kefir içeceği verilerek, plazmadaki galaktoz konsantrasyonları ölçülmüş ve mikrobiyal β -galaktosidaz aktivitesi değerlendirilmiştir. Taze kefir tanesi kullanılan grupta ortalama postprandiyal plazma galaktoz piki ve AUC değerlerinin sırasıyla %30 ve %23 arttığı bildirilmiştir. Bu çalışmada ayrıca laktozla besleme ile intestinal β -galaktosidaz aktivitesinin veya intestinal laktozu hidrolize eden bakterilerin indüklenmediği bildirilmiştir.

Hertzler and Clancy (2003); laktoz sindirim bozukluğu olan 15 sağlıklı bireyde yaptıkları ve laktoz sindirimini hidrojen nefes testiyle değerlendirdikleri çalışmada, bireyler laktoz miktarı aynı olan (20 gr) 5 tedavi grubuna ayrılmış (süt, sade yoğurt, aromalı yoğurt, sade kefir, aromalı kefir olmak üzere) (çalışmada kullanılan kefirin içerdiği mikroorganizmalar; *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus cremoris*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus diacetylactis*, *Saccharomyces florentinus* ve *Leuconostoc cremoris*), çalışma sonucunda sade yoğurt, aromalı yoğurt ve sade kefirin süte göre laktoz sindirimini düzelttiği görülmüştür. Aromalı kefir ile süt arasında nefes hidrojen AUC değerleri arasında ise istatistiksel fark bulunmamıştır. Bu durum laktoz sindiriminin bozulmasından ziyade muhtemelen tatlandırma amacıyla kullanılan tatlandırıcıların veya meyvenin fermente edilebilir karbonhidrat oluşturmaya bağlanmıştır.

2.2.1.2. Bağışıklık Sisteminin Uyarılması

Probiyotik bakteriler; sitokin üreterek, mononükleer hücrelerin çoğalmasını sağlayarak, IgA ve IgM antikorların üretimini gerçekleştirerek, makrofaj fagositozu aktifleştirerek, doğal immüniteyi değiştirerek ve patojenlere karşı direnç göstererek, bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerini ortaya koymaktadırlar. Ayrıca probiyotik bakterilerin bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerinin ortaya çıkmasında lenfoid dokuya bağlanması ve temas haline geçmeleri önemli rol oynamaktadır (Saarela, 2002; Scheinbach, 1998).

Lactobacillus johnsonii LJ-1 ve *Lactobacillus salivarius* UCC118'in mukozal IgA yanıtını teşvik ettiği ve fagositik aktiviteyi arttırdığı, *Lactobacillus rhamnosus* GG ve *Bifidobacterium lactis* BB-12, *Bifidobacterium breve* ve *Bifidobacterium longum*'un lenfosit çoğalmayı engelleyip IgA immün yanıtını stimüle ettiği görülmüştür (Saarela, 2002; Macfarlane and Cummings, 1999; Koop-Hoolihan, 2001; Shah, 2001).

Mürekkep balıklarının sinir sisteminden elde edilen peptidlerin, tıbbi süt ve profilaktik ürünlere ilavesiyle yapılan çalışmada; süt ve kefire “Gangliin” ilavesinin laboratuvar hayvanlarının bağışıklık sistemindeki hücresel ve vücut sıvılarının uyarılmasına sebep olduğu görülmüştür. Diğer taraftan kefir, insanın kemik yapısındaki IFN- γ (İnterferon- γ) salgısını arttıran aktif bir madde içerir. Fermente sütlerdeki bu aktif madde, spingomyelin olarak tanımlanır. Kefir ve kefir yağında bulunan spingomyelinlerin, enfeksiyonlara karşı bağışıklık sistemini stimüle ederek görev aldığı bilinmektedir (Zubillaga et al., 2001; Osada et al., 1993).

Thoreux and Schmucker (2001); kolera toksini (CT) ile muamele edilen genç (6 ay) ve yaşlı farelerde (26 ay), kefirin intestinal immünite üzerine etkisini araştırmışlardır. Kefir verilen genç farelerde serum anti-CT IgA'nın daha yüksek çıkması nedeniyle mukozal bağışıklık cevabının arttığını bildirmişlerdir. Yaşlı farelerde ise bu etki gözlenmemiştir.

Frukawa et al. (1992); kefir tanelerinin suda çözünen fraksiyonlarının, bağışıklık sisteminin dengeleyicisi olarak görev yapabileceğini belirtmişlerdir.

Matsuzaki (1998) ve Gürsoy (2005), *Lactobacillus casei* Shiota'nın IFN- γ , IL-1 β gibi çeşitli sitokinlerin üretimini arttırdığı ve bu durumun tümör gelişiminin inhibisyonu ile sonuçlandığını bildirmişlerdir.

Kefirin fermentasyonu esnasında gerçekleşen en önemli kimyasal değişikliklerden bir tanesi, süt kazeininin proteolizidir. Oluşan peptidik fraksiyonların kefir bakterileri üzerinde büyümeyi uyarıcı etkilerinin yanında, immün düzenleyici etkilerinin de olabileceği bildirilmiştir (Vinderola et al., 2005).

2.2.1.3. Antimutajenik ve Antikarsinojenik Etkileri

Antikarsinojenik bakteriler aktivitelerini; (i) karsinojen ve prokarsinojenleri bağlayarak, bloke ederek veya parçalayarak, (ii) antimutajenik bileşikler üreterek, (iii) bağırsakta prokarsinojenik enzimlerin aktivitesini azaltarak, (iv) bağırsak pH'sını düşürüp mikroflora aktivitesinin ve safra asidi çözünürlüğünün değişmesine neden olarak, (v) bağırsaktan geçiş süresini değiştirip fekal mutajenlerin çok hızlı bir şekilde uzaklaşmasına sebep olarak veya (vi) bağışıklık sistemini teşvik ederek gösterebilmektedirler (Saarela, 2000; Macfarlane and Cummings, 1999; Scheinbach, 1998; Shah, 2001).

Araştırmacılar; fareler üzerinde çeşitli *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri kullanılarak yapılan bazı deneyler sonucunda probiyotik bakterilerin kanser başlangıcını önlemek, ve tümör hücrelerinin gelişimini geriletmek suretiyle antikanserojen etki gösterdiklerini ileri sürmüşlerdir.

Laktobasillerin N-nitrozaminler gibi karsinojenleri parçalayabildiği, saflaştırılmış bifidobakteriyel hücre duvarlarının antitümör aktiviteye sahip olduğu ve *Bifidobacterium infantis*'in hücre duvarının, fagositlerin aktivasyonunu sağlayarak büyüyen tümör hücrelerini parçaladığı saptanmıştır. Bunlara ilaveten genotoksik metabolitler oluşturan fekal enzimlerin (örneğin glukuronidaz, azoredüktaz, üreaz, nitroredüktaz ve glikolik asit hidrolaz) aktivitelerini azalttığı da tespit edilmiştir. Antikarsinojenik ve antimutajenik aktiviteleri saptanan probiyotiklerden *Lactobacillus acidophilus*'un üre mutajenitesini ve kolon kanserini; *Lactobacillus casei*'nin üre mutajenitesini ve fekal enzim aktivitesini; *Bifidobacterium infantis* ve *Bifidobacterium longum*'un kolon, karaciğer, ince bağırsak ve meme tümörlerinin oluşumunu; *Lactobacillus rhamnosus* GG ve *Lactobacillus gasseri*'nin kolon kanserini ve fekal enzim aktivitesini azalttığı saptanmıştır (Saarela, 2002; Ouwehand et al., 2002; Koop-Hoolihan, 2001; Scheinbach, 1998; Shah, 2001; Zubillaga et al., 2001).

Son yıllarda yapılan çeşitli inceleme ve çalışmalarda; kefirin ve kefir tanelerinin antikanserojenik etkisi araştırılmış ve bu etkinin, kanserojenik öğelerin sindirim sisteminde azaltılmasının, bağışıklık

sisteminin uyarılması ve faaliyeti sonucu meydana geldiği ifade edilmiştir. Shiomi et al. (1982); Ehrlich karsinoma ve Sarkoma-180 inoküle edilen farelerde kefirde elde edilen suda çözünebilir polisakkaritin tümör büyümesini sırasıyla %40-59 ve %21-81 azalttığını saptamışlardır. Kefirin içerdiği mikroorganizmaların, fekal enzim aktivitesini büyük ölçüde azaltması sonucunda özellikle bağırsak kanseri riskini azalttığı ifade edilmiştir.

İn vivo denemeler, kefir tanelerinde bulunan suda çözünür polisakkaritlerin oral yolla alınımının tümör büyümesini geciktirdiğini göstermiştir. Çalışmalarda kefirin, farelerin deri altına nakledilen kanser hücrelerinin çoğalmasını engelleyici etki gösterdiği ve 9 gün boyunca soya kefir alınımının (2g/kg vücut ağırlığı), normal kefir ve yoğurda nazaran daha iyi bir inhibisyon sağladığı görülmüştür (yaklaşık %70,9-64,8). Kefirin antitümör özelliklerinin fermentasyon süresince gelişen *Lactobacillus* spp.'leri ve polisakkaritler nedeniyle de olduğu sonucuna varılmıştır. Güzel-Seydim et al., (2003); daha önceki çalışmalarına dayanarak süt proteini ve özellikle sülfür içeren amino asitlerin yüksek konsantrasyonunun antikanserojenik etki için önemli olduğu sonucuna varmıştır (Sarkar, 2007; Farnworth, 2005; Zubillaga et al., 2001).

Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde yapılan bir çalışmada kefirin antikanserojen etkisi incelenmiş ve araştırmada aktif kefir tanesi ekstresi ve kefirin, bakterilerde, mantarlarda ve farelerde meydana getirilen fusiform hücreli senkron üzerine etkisi araştırılmıştır.

Farelerin tümörlerinde makroskopik olarak küçülme izlenmiş ve histopatolojik olarak da tümörlü hücre sayısında ve mitoz sayısında kısmi azalma görülmüştür (Yemni, 1987).

LeBlanc and Matar (2006) ve Matar et al. (1997); meme kanserinin mürin modelinde yaptıkları bir çalışmada, 2 günlük sikluslar halinde kefir ve kefir fraksiyonu (kefir cell-free fraction) verilen mürinlerde tümör gelişiminin geciktiğini gözlemlemişlerdir. Hem kefir hem de kefir fraksiyonunun serum IL-10 (regulatuvar sitokin) düzeyini arttırdığı, meme bezinde ise IL-6 (östrojen sentezinde rol alan pro-anjiojenik sitokin) pozitif hücre sayısının azaldığı, ayrıca kefir fraksiyonu verilen grupta meme bezinde ve tümörde IL-10 (+) hücre sayısının arttığı, tümörde IL-6 (+) hücre sayısının azaldığı bildirilmiştir. Sonuçta kefir tüketiminin, östrojen bağımlı tümörlerde çok önemli olan immün ve endokrin sistemler arasındaki ilişkiyi module edebildiği (IL-6 düzeylerini azaltarak) görülmüştür.

Yapılan bir çalışmada meme tümör hücresi enjekte edilen farelerde 2 veya 7 günlük sikluslarla kefir ve kefir “cell-free” fraksiyonu verilmesi ile tümör gelişiminin geciktiği ve meme bezinde IgA (+) hücre sayısının arttığı görülmüştür (LeBlanc et al. , 2007).

Tümör oluşumuna karşı kefirin koruyucu etkileri bildirilmiş olsa da çalışmalar besinsel gerçeklerin de önemli olduğunu ortaya koymuştur. Bu amaçla farelere sırasıyla %3.5 yağ içeren kefir, %1.1 yağ içeren kefir ve %1.1 yağ içeren süt verilmiş ve en yüksek adenokarsinom gelişimi %3.5 yağ içeren kefir grubunda, en az adenokarsinom gelişimi ise %1.1

yağ içeren süt grubunda gözlenmiştir. Çalışmanın sonucunda araştırmacılar, kefirin koruyucu olabileceğini ancak adenokarsinom gelişimi ile yağ alımı arasında yüksek korelasyon olduğunu ve diyet faktörlerinin de önemli olduğunu belirtmişlerdir (Hiastan-Ribic et al., 2005).

Liu et al.(2005); kefir ve soya kefirinin antimutajenik ve antioksidant özellikleri üzerine bir çalışma yapmışlar ve kefir ve soya kefirinin süt veya soya sütüne göre daha iyi antimutajenik aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Antimutajenik aktivite, salmonella mutajenite denemesi olarak ifade edilen 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil(DPPH) radikal aktivitesi, lipid peroksidasyon engelleme aktivitesi, demir iyonu şelat yeteneği, etki azalması, ve antioksidatif enzim aktivitesi gibi özellikleri, kefirin antioksidant özellikleri olarak değerlendirilmiştir. Her iki kefirde de 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radikallerine karşı önemli düzeyde yok edici aktivite tespit etmişler ve kefirin antimutajenik ve antioksidatif etkilerinden dolayı beslenmede çok önemli olacağını belirtmişlerdir.

Güzel-Seydim et al. (2006); kefir ve yoğurdun antimutajenik ve antikanserojenik özelliklerini incelemişlerdir. Yapılan çalışmada kefir ekstraktlarının aflatoksin B₁, metilmetanosülfat, sodyum azid ve 2-aminoantrasen gibi mutajen ajanlara karşı antimutajenik aktiviteleri Ames testiyle saptanmıştır.

Güven and Gülmez (2003); farelerde CCl₄ ile indüklenen oksidatif hasarda kefirin redükte glutatyon (GSH) ve GSH peroksidaz düzeylerini

arttırarak, lipid peroksidasyonunu ise azaltarak vitamin E'den daha koruyucu etki gösterdiğini saptamışlardır.

Matar et al. (1997) ve Lin et al. (1999); *Lactobacillus helveticus* ile sütün fermentasyonu sırasında antimutajenik ürünlerin meydana geldiğini ve kefir tanelerinden izole edilen *Lactobacillus helveticus*'un yüksek oranda proteolitik aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu bulgular ışığında kefirin antimutajenik etkisinin daha çok fermentasyon sırasında serbest hale geçen peptidlere bağlı olduğu düşünülmektedir.

Yapılan araştırmaların sonuçları oldukça aydınlatıcı olsa da konu ile ilgili daha fazla araştırmanın yapılması, kefirin beslenme ve sağlık açısından yararlarını daha da ortaya çıkaracaktır.

2.2.1.4. Antimikrobiyal ve Antagonistik Etki

Probiyotik suşlar patojenik bakterilere karşı antagonistik aktiviteyi; laktik asit, asetik asit gibi organik asitler ile hidrojen peroksit ve bakteriyosin üreterek, bağırsak epitel hücrelerine patojen bakterilerin tutunmasını engelleyerek veya besin maddeleri için rekabet ederek gösterebilmektedirler.

Lactobacillus rhamnosus GG'in, ürettiği kısa zincirli yağ asitleri vasıtasıyla anaerobik bakterileri, *Lactobacillus acidophilus* LB ve LA1'in, ürettiği antimikrobiyal madde ile *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas*

aeruginosa ve *Enterobacter* suşlarını inhibe ettiği tespit edilmiştir (Saarela, 2000; Gürsoy, 2005; Shah, 2001).

Kefirdeki laktik asit bakterilerinin; laktik asit, H_2O_2 ve antibiyotik üretmeleri antimikrobiyal etki yaratmaktadır. Oluşan laktik asidin ortam pH'sını düşürerek diğer bakterilerin gelişmesini inhibe ettiği, H_2O_2 'nin bağırsak patojenlerine karşı antagonistik etki yarattığı ve asetik asitin de antibakteriyel etki gösterebildiği bildirilmiştir. Kefir, Gram(-) organizmalara karşı daha yüksek bakteriyostatik etkiye sahipken Gram(+) organizmalara karşı daha iyi bakterisidal etki göstermektedir (Lopitz-Otsoa et al., 2006; Çevikbaş et al., 1994; Angulo et al., 1993).

Kefirin antagonistik etkisinin, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Yersinia enterocolitica* ve *Salmonella enteritis* gibi bakterilere karşı olduğu belirtilmiştir (Sarkar, 2007). Santos et al. (2003); kefir tanelerinden izole edilen laktobasil türlerinin *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritis*, *Shigella flexneri* ve *Yersinia enterocolitica* gibi patojenlere karşı antagonistik etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Laktobasil suşlarının eritrosit benzeri Caco-2 hücrelerine karşı *Salmonella typhimurium* adezyonunu inhibe etme yetenekleri değerlendirilmiş ve en iyi probiyotik özellik *Lactobacillus acidophilus* CYC10051 ve *Lactobacillus kefiranofaciens* CYC10058 suşlarında izlenmiştir.

Anselmo (2001); Arjantin'in Lugar nehrinden izole ettikleri *Salmonella enteritis* suşunun kefir ortamındaki canlılığını incelemiştir. Bu amaçla *Salmonella enteritis* 4°C ve 22°C'deki kefir içeceğine inoküle

edilmiş ve 4 °C’de 24 saat, 22 °C’de 18 saat inkübasyondan sonra kefirde *Salmonella enteritis* suşuna rastlanmamıştır.

Bir başka çalışmada ise *Escherichia coli* O157:H7 ve ATCC 25922 suşlarına karşı kefirin antimikrobiyal aktivitesi incelenmiş ve nötral pH’da bakteriyel büyüme etkilenmezken asidik pH ortamında kısa sürede her iki suşun da büyümesinin inhibe olduğu görülmüştür. Çalışma sonucu, kefirde bulunan antibakteriyel maddelerin, asidik çevrede aktive oldukları şeklinde ifade edilmiştir (Takahashi and Kawakami, 1999).

Kefirin antimikrobiyal aktivitesi fermentasyon derecesine bağlı olmaktadır. Rodrigues et al. (2005) tarafından agar difüzyon metodu kullanılarak yapılan bir çalışmada, kefirin test edilen mikroorganizmalara (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* ve *Escherichia coli*) karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve en yüksek aktivitesinin *Streptococcus pyogenes*’e karşı olduğu belirtilmiştir (Sarkar, 2007; Rodrigues et al., 2005; Zubillaga et al., 2001; Lopitz-Otsoa et al., 2006). Çalışmada ayrıca farelerde *Staphylococcus aureus* ile enfekte edilmiş yara üzerine %70’lik kefir jelinin skatrizan etkisi araştırılmış ve clostebolneomisin emülsiyonundan daha iyi yara iyileşmesi sağladığı görülmüştür.

Kefirin, patojen mikroorganizmaların gelişmesini inhibe ederek mide ve bağırsak rahatsızlıklarına karşı koruyucu ve tedavi edici oldukları görülmüştür. Diyare ve sindirim bozuklukları ile bağırsak florasının dengesinin bozulduğu durumlarda alınımının, olumlu sonuçlar

gösterdiği, mide bağırsak iltihabı, diyare, deri enfeksiyonları, ağızda uçuk ve aftın tedavisinde kullanılabileceği bildirilmiştir (Farnworth, 2005).

H₂O₂ bazı bakteriler tarafından, antimikrobiyal bileşen olarak üretilen bir metabolittir. Yüksekdağ et al. (2004a, 2004b); Türk kefirinden elde edilen laktik asit bakterisi izolatlarının hepsinin H₂O₂ ürettiğini (0,004-0,19 µg/ml) belirlemişlerdir. Kefir ve kırmızın özellikle *Mycobacterium tuberculosis* üzerine antibakteriyel etkiye sahip olduğu ve her iki fermente süt içeceğinin tüberküloz başta olmak üzere pek çok hastalığın tedavisinde kullanıldığı ifade edilmektedir (Farnworth, 2005).

Laktik asit bakterileri tarafından üretilen bakteriyosinler de türe göre bakterisidal veya bakteriyostatik etki gösterebilmektedir.

2.2.1.5. Kolesterol Düşürücü Etki

Kolesterol, hayvanlar alemindeki tüm canlıların hücre membranında bulunan ve insan metabolizmasında önemli rol oynayan organik bir maddedir. Kolesterol seviyesinin yüksek olması, kardiyovasküler hastalıklara yakalanma riskini arttırdığından toplum sağlığı açısından gıdaların kolesterol içerikleri önem taşımaktadır.

Antikolesterol aktivite için birkaç mekanizma ileri sürülmektedir. Bunlardan birincisi, laktik asit bakterileri tarafından hidroksimetil glutarat üretimidir. Hidroksimetil glutarat, kolesterol sentezinde rol oynayan hidroksimetil glutaril redüktaz enzimini inhibe etme

fonksiyonuna sahiptir. Süt ürünlerinin fermentasyonu sırasında oluşan orotik asitten kaynaklanan metabolitler de kolesterol düzeyinin düşmesine yardımcı olmaktadır. Ürik asit kolesterol sentezini inhibe etmekte, orotik asit ise serum kolesterol düzeyini azaltmaktadır. İkinci mekanizma; *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium* suşlarının safra asitlerini dekonjuge etmesi ve bunun sonucunda oluşan dekonjuge safra asitlerinin konjuge safra asitlerine oranla daha az lipid adsorbe etmesi nedeniyle kolesterol düzeyini azaltmasıdır. Üçüncü mekanizma ise kolesterolün *Laktobacillus* ve *Bifidobakterler* tarafından asimile edilmesidir (Koop-Hoolihan, 2001; Scheinbach, 1998; Shah, 2001; Gürsoy, 2005).

Yapılan çalışmalarda probiyotiklerin, farelerin serum kolesterol seviyelerini düşürdüğü belirlenmiştir. Sindhu and Khetarpaul (2003); *Streptococcus boulardii* ve *Lactobacillus casei* karışımı ile beslemenin, serum kolesterol seviyelerini önemli ölçüde düşürdüğünü belirlemiştir. Akalın et al. (1997); 28 gün süreyle *Lactobacillus acidophilus* ile beslenen farelerdeki toplam serum kolesterol seviyesinin kontrol grubundan % 22 daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir.

Kefir, yüksek kolesterol seviyelerinin kontrol altına alınmasında ve kardiyovasküler hastalıklardan korunmada önemli role sahiptir. Kefirde laktik asit bakterisi miktarı daha fazladır ve kolesterolün % 33,9'u sindirim sırasında direk bağlanarak azalmaktadır. Sütün kefir kültürüyle fermente edilmesi, kolesterolün % 28-65'inin sindirimine neden olur ve inkübasyondan 48 saat sonra % 41-84 seviyesine ulaşır. *Saccharomyces*

cerevisia gibi enzim eksikliği gösteren mayalarda intervaz enziminin kullanımının tüketicilerde hipokolesterolemik etki gösterdiği belirtilmiştir (Sarkar, 2007; Vujicic et al, 1992; Lopitz-Otsoa et al., 2006).

Liu et al. (2006); tarafından yapılan bir çalışmada, kolesterol ile beslenen dişi hamsterlara, 8 hafta süresince %10 yağı alınmış süt, kefir, soya sütü ve soya kefir verilmış, soya sütü, kefir ve soya kefir ile beslenenlerde serum triaçilgliserol, toplam kolesterol konsantrasyonlarında ve karaciğerde kolesterol birikiminde azalma eğilimi görülmüştür. Diğer iki diyetle karşılaştırıldığında soya kefirinin, nötral steroller ve safra tuzunun dışkıda artışına neden olduğu bildirilmiştir.

Maeda et al. (2004a); yaptıkları çalışmada yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda 30 gün süre ile kefiran verilmesini takiben serum ve karaciğer lipid düzeylerinin (total kolesterol, LDL kolesterol, trigliserit, fosfolipid) kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gösterilmiştir. Araştırmacılar çalışmanın farklı bir kolunda genetik olarak diabetik farelerde kefiranın etkisini araştırdıklarında, kan glikoz seviyesinin kontrol grubuna göre düşmeye eğilimli olduğunu, kefiran grubunda fekal nemin ve feçes ıslak ağırlığının arttığını ve kefiran uygulanmasının defekasyonu iyileştirmede etkili olduğunu bildirmişlerdir. Farelerde kefiran verilen grup, kontrol grubu (destile su verilmiştir) ile karşılaştırıldığında kefiran grubunda sistolik ve diastolik kan basınçlarının daha düşük olduğu ve anjiotensin dönüştürücü enzim

(ACE) düzeylerinin serum ve torasik aortada kontrol grubuna göre önemli oranda az olduğu bildirilmiştir (Maeda et al., 2004b).

Keçi sütünden yapılan kefirde, ACE inhibitörü aktivitesi belirlenmiş ve bu aktivitenin fermentasyon sırasında kazeinden salgılanan peptidlere bağlı olduğu bildirilmiştir (Quiros et al., 2005). Ayrıca *Lactobacil*'ler ve *Streptococ*'lar gibi çeşitli bakteriyel suşların erkeklerde serum kolesterol düzeyini azalttığı bildirilmiştir (Agerbaek et al., 1995; Bertolami et al., 1999).

2.2.1.6. Bakteriyel Kolonizasyon

Bakterilerin etkilerini düzgün bir şekilde gösterebilmeleri, onların safra tuzuna toleransına ve bağırsak koşullarına karşı koyma yeteneklerine bağlı olmaktadır. Kefir tanelerinden izole edilen *Lactobacillus* türlerinin %85'inin safra tuzuna direndiği ve çoğunun enterosit benzeri hücrelere tutunabilme yeteneğinde oldukları belirtilmektedir (Santos et al., 2003). Benzer olarak *Kluyveromyces lactis* ve *Kluyveromyces ladderae* benzeri mayalar daha fazla asit toleransına ve insan bağırsağına tutunma yeteneğine sahiptir (Lopitz-Otsoa et al., 2006).

Kefirle beslenen farelerde yapılan araştırmalarda en belirgin etkinin laktik asit bakterileri ile *Clostridium*'lar arasında olduğu görülmüştür. Kefirle besleme sonucunda, ince ve kalın bağırsakta laktik asit bakteri sayısı artarken sülfid azaltıcı *Clostridium*'ların önemli oranda azaldığı gözlenmiştir. Kalın bağırsak mukozasında *Enterobacteriaceae* üyelerinin

bir miktar azaldığı, anaerobik bakteri ve Gram(-) anaerobik bakteri sayısının önemli oranda azaldığı tespit edilmiştir (Marquiana et al., 2002).

2.2.1.7. Besin Maddeleri Sentezi ve Biyolojik Değeri Arttırma Fonksiyonları

Sindirim sisteminde bazı besin maddelerinin miktarı, biyolojik değeri ve sindirilebilirliği probiyotik suşların faaliyetleri ile iyileşmektedir. Protein, yağ ve karbonhidratların, bakteriler tarafından salgılanan değişik enzimler vasıtasıyla bir ön fermentasyona uğratılması, bunların besin değerini arttırmakta ve sindirilmelerini kolaylaştırmaktadır. Ayrıca kalsiyum, magnezyum, demir gibi minerallerin daha iyi absorbe edilmesini sağladıkları ve folik asit, niasin, biotin, pantotenik asit, B₁, B₂, B₆ ve B₁₂ ile K vitaminlerini sentezledikleri tespit edilmiştir (Koop-Hoolihan, 2001).

2.2.1.8. Diğer Yararlı Etkileri

Yapılan klinik çalışmalarda probiyotik bakterilerin veya bunların fermente ürünlerinin kan basıncının kontrolünde de rol oynadıkları belirlenmiştir. Sekiz gün süresince *Lactobacillus helveticus* ve *Saccharomyces boulardii* içeren fermente süt tüketen hipertansiyonlu yaşlı hastalarda, sistolik ve diastolik kan basıncının ve kalp atışlarının azaldığı görülmüştür (Klaenhammer and Kullen, 1999; Koop-Hoolihan, 2001).

In vitro ve hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalar, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus johnsonii* gibi probiyotik bakterilerin gastrit, peptik ülser ve gastrik kanser etmeni olan *Helicobacter pylori*'nin gastrik kolonizasyon ve aktivitesini inhibe ettiği gözlenmiştir (Koop-Hoolihan, 2001; Shah, 2001).

Kefirin ishale iyi gelmesi *Escherichia coli*, *Salmonella* gibi patojenlere karşı antimikrobiyal etki göstermesinden kaynaklanmaktadır. Mide ve dudenum bağırsağı ülseri, tatlı kefir içirilerek tedavi edildiğinde sonuçların olumlu olduğu gözlenmiştir. Kefir tüketilmesinde midede asitliğin düştüğü, ağrı ve sindirim rahatsızlıklarının azaldığı bilinmektedir (Tavlaş, 1986).

Kefirin rapor edilen bir diğer etkisi ise insan hücre hatlarında interferon β , kortizol ve noradrenalin üretimini arttırıcı etkisidir. Bu nedenle stres azaltıcı gıda komponenti olarak öne sürölmüştür (Kabayama et al., 1997).

2.3.Kefir Tanesi ve Kefir Kültürünün Yapısı

Yapılan çalışmalar kefir tanelerinin başlıca çözünmeyen tipten proteinlerle, bazı polisakkarit ve lipit komplekslerinden olduğunu ortaya koymuştur ki bu yapı içinde mikroorganizmalar simbiyoz halde yaşamaktadırlar. Araştırmacılar, tanenin yaklaşık %24'ünü oluşturan kefiran polimerinin *Lactobacillus kefiranofaciens* ve *Lactobacillus*'ların bazı suşları tarafından üretildiğini ve gelişme koşulları (pH, sıcaklık, inkübasyon süresi) ve ortam bileşiminin (karbon, nitrojen kaynakları ve

diğer bileşenler) polimer oluşumu ve polisakkarit kompozisyonunda etkili olduğunu ifade etmişlerdir (Mediada et al., 2001; Duboc and Mollet, 2001).

Tanenin merkezinde maya ve bakterileri bir arada tutan ağın mayalar tarafından üretildiği, tanenin kenar yapısının daha düz olmasının mikroorganizmaların taneden süte geçişini kolaylaştırdığı ileri sürülmüştür (Konar ve Şahan, 1989).

Eksopolisakkaritler, insan sağlığı açısından prebiyotik olarak ve antitümör, antiülser, immün sistemi düzenleyici, kolesterol düşürücü aktivitesi nedeniyle önem taşırlar. Eksopolisakkarit oluşturduğu bilinen liyofilize *Lactobacillus lactis* subsp. *cemoris* KVS20 suşunun intraperitoneal enjeksiyonunun farelerde Sarcoma-180 tümörlerinin gelişimini inhibe ettiği görülmüştür (Raus-Madiedo et al., 2002).

Abraham and Antoni (1999); soya sütü ve inek sütünde kefir tanelerinin gelişim özelliklerini inceledikleri çalışmalarında, matriksteki protein yapılarına odaklanarak kefir tanelerinin kompozisyonunu ve mikrobiyal gelişimi araştırmışlardır.

Fermente süt ürünlerinin üretiminde birincil derecede laktik starter kültürler kullanılmaktadır. Kefir üretiminde laktik asit, alkol ve CO₂ üreten değişik cins laktik asit bakterileri ve maya kombinasyonları kullanılabilmeyle birlikte ticari ürünlerde kefir kültürü olarak genellikle *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* ve laktozu fermente eden mayaların karışık kültürleri kullanılmaktadır.

Çizelge 2.3.'te kefir tanesi, kefir kültürü ve kefir içeceğindeki mikrobiyal bileşenler gösterilmiştir.

Çizelge 2.3. Kefir Tanesi, Kefir Kültürü ve Kefir İçeceğinin Mikroflorası (Bottazzi et al., 1994; Rea et al., 1996)

Mikrobiyal bileşenler	Kefir tanesi (kob/g)	Kefir kültürü (kob/ml)	Kefir içeceği (kob/ml)
Laktokoklar	10^6	10^8 - 10^9	10^9
Leukonostoklar	10^6	10^7 - 10^8	10^7 - 10^8
Termofilik laktobasiller	10^8	10^5	10 - 10^8
Mezofilik laktobasiller	10^6 - 10^9	10^2 - 10^3	---
Asetik asit bakterileri	10^8	10^5 - 10^6	10^4 - 10^5
Mayalar	10^6 - 10^8	10^5 - 10^6	10^4 - 10^5

Kefir genel olarak probiyotik bir ürün olarak belirtilmesine karşın bu konuda az sayıda yayın bulunmaktadır. Kefirin kısaca bahsedilen sağlığa faydalı özelliklerinden ve özellikle laktobasil türlerini içermesi nedeniyle probiyotik olarak tanımlanması yadırganmamış olup fermentasyonda rol oynayan mikroorganizmaların genel özellikleri Çizelge 2.4.'te, bunların metabolik aktiviteleri ve üretime bulundukları katkılar ise Çizelge 2.5.' te özetlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda kefir tanelerindeki mikrofloranın dağılımı Scan Elektron Mikroskobunda incelenmiş ve süt asidi bakterileri, asetik asit bakterileri ve mayaların mevcut olduğu tanelerde, laktozu fermente edemeyen mayaların tanenin iç katmanlarında, laktozu parçalayan mayaların ise büyük oranda tanenin dış yüzeyine yakın yerlerde bulunduğu ve mayaların dağılımının tesadüfi olmadığı belirtilmiştir. Süt

asidi bakterileri ile asetik asit bakterilerinin tanenin yüzeyinde olduğu görülmüştür (Abraham and Antoni, 1999; Garrote et al., 2001; Güzel-Seydim et al., 2005; Karagözlü, 1990; Karagözlü ve Kavas, 2000).



Resim 2.1. Kefir Tanelerinin Görünümü

Başka bir çalışmada tarama mikroskopuyla yapılan incelemede, tanenin merkezinde mayaların miktarca bakterilerden fazla olduğu, dış kısımda ise başta bakteri olmak üzere çok az sayıda maya bulunduğu bildirilmiştir (Karagözlü, 1990).

Çizelge 2.4. Fermentasyonda Rol Oynayan Mikroorganizmaların Genel Özellikleri
(Karagözlü, 1990).

Mezofilik homofermantatif	<i>Streptococcus lactis</i> <i>Streptococcus cremoris</i>	Fermentasyonun ilk saatlerinde aktif. Asitliği geliştirirler. Yüksek asitlikte inhibe olurlar.
Laktobasiller	<i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>bulgaricus</i>	Tane de az sayıdadır
Mezofilik heterofermantatif	<i>Lactobacillus dextranicum</i> (yüksek sıcaklıkta çok sayıda maya varlığında aktif) <i>Lactobacillus mesenteroides</i> (polisakkarit üretir)	Kefire özgü tat ve aromayı verir. Gereğinden fazla gelişirlerse gaz oluşumu gözlenir.
Mayalar	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Aroma ve yapı gelişiminde rol oynarlar. Fazla mayada gaz oluşumu artar, paketlemede problem olur.
Asetik asit bakterileri	<i>Acetobacter aceti</i>	Streptokoklarla kültüre edildiğinde asitlik artışı gözlenmiştir. Kıvam ve viskoziteyi düzenlerler.

Çizelge 2.5. Fermentasyonda Rol Oynayan Mikroorganizmaların Metabolik Aktiviteleri (Karagözlü, 1990).

<i>Streptococcus lactis</i>	Pirüvatı ilk olarak laktata, geri kalanını diasetil ve az bir kısmını asetaldehite çevirirler.
<i>Lactobacillus brevis</i>	Karışık kültürlerde teşvik edici özelliği vardır. Pürivat yoluyla asetat ve laktat üretir. Sitrat metabolizmasında asetoin ve diasetil üretir.
<i>Lactobacillus kefir</i>	Fermentasyon ürünleri %0,25 etanol ve CO ₂ 'dir.
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Sütte gelişmesi yavaş olup kefirde miktarı azdır.
<i>Leuconostoc</i> subsp.	<i>Leuconostoc cremoris</i> 'in 3 ⁰ C'de asetaldehiti etanole değiştirebildiği tespit edilmiştir.
Mayalar	Maya fermantasyonuyla diasetil oluşumu söz konusudur. Mayalar asetaldehiti etanole çevirmek için alkoldehidrogenaz enzimi içerirler. <i>Saccharomyces cerevisia</i> asetoin oluşturmak için asetaldehit ile aktif asetaldehiti birleştirir. Kefirdeki uçucu maddelerden kaynaklanan tadın maya popülasyonu yardımıyla oluşması zordur.
Asetik asit bakterileri	<i>Acetobacter</i> ve <i>Gluconobacter</i> cinsi bakteriler çeşitli organik bileşikleri, organik asitlere okside ederler.

Aminoasitler ve vitaminler gibi temel gelişim bileşenlerini sağlayabilmesi, pH'yı değiştirmesi, etanol salgılayıp karbondioksit üretmesi gibi kefir üretiminde de önemli bir rolü olan mayalar Çizelge 2.6.'da verilmiştir.

Çizelge 2.6. Kefirde ve Kefir Tanelerinde Bulunan Mayalar (Farnworth, 2005).

<i>Kluyveromyces marxianus</i> (bazı referanslarda <i>Saccharomyces lactis</i> yada <i>Kluyveromyces lactis</i> olarak bildirilmiştir)	<i>Candida friedrichii</i>
<i>Saccharomyces sp.</i>	<i>Candida pseudotropicalis</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (bazı referanslarda <i>Saccharomyces carlbergensis</i> olarak bildirilmiştir)	<i>Candida tenuis</i>
<i>Saccharomyces unisporus</i>	<i>Candida inconspicua</i>
<i>Saccharomyces exiguus</i> (bazı referanslarda <i>Torolopsis holmii</i> olarak bildirilmiştir)	<i>Candida maris</i>
<i>Saccharomyces turicensis</i>	<i>Candida lambica</i>
<i>Saccharomyces delbrueckii</i>	<i>Candida tannotelerans</i>
<i>Saccharomyces dairensis</i>	<i>Candida valida</i>
<i>Torulaspota delbrueckii</i>	<i>Candida kefir</i>
<i>Brettanomyces anomalus</i>	<i>Candida holmii</i>
<i>Issatchenkia occidentalis</i>	<i>Pichia fermentans</i>

Bilindiği gibi homofermentatif türler süt şekerini laktik aside parçalamalarının yanı sıra glikoz-6-fosfat yoluyla da laktozu CO₂ ve asetata parçalar. Özet olarak kefirin tat ve aromasını mikroorganizma suşlarının belirlediği ve bu nedenle bunlara da değinilmesi gerektiği ve önemi vurgulanmıştır (Wszolek et al., 2006). Bu yüzden tanede en çok bulunan mikroorganizmalar Çizelge 2.7.'de kısaca özetlenmiştir.

Güzel-Seydim et al. (2005); çalışmalarında, kullandıkları taneleri Scan Elektron Mikroskobunda incelediklerinde, mayaların tanenin orta ve dış yüzeyinde lokalize olduğu belirlenmiştir. Tanelerde laktokoklar görülemezken laktobasillerin ise kefirin her yerine (uzun, kısa, kavisli olarak) yayıldığı bildirilmiştir. Laktokokları görememelerini de Scan Elektron Mikroskobunda kefir tanelerinin hazırlığı esnasında adı geçen bakterilerin tanelerden uzaklaştırılmasına bağlamışlardır. Çalışmada kefir tanelerindeki laktik asit bakterisi : maya oranı 10^9 : 10^6 olarak bulunmuştur.

Mayaların fazla gelişimi mayamsı bozuk tada ve kokuya ayrıca yapıda bozukluğa sebep olabileceği için kefirde laktik asit bakterisi : maya oranı önemlidir. Mikroflorada yer alan bakteri : maya oranlarının dengesi kefir üretimi açısından önemlidir. Süt asidi bakterilerinin daha fazla olması kefirin tat ve aromasında değişmelere ve kefirin daha ekşimsi olmasına buna karşın maya sayısının fazla olması ise kefirde gaz oluşumunun artmasına ve arzu edilmeyen yakıcı bir tadın ortaya çıkmasına neden olur. Süt asidi ve mayalar arasındaki dengeyi korumak için en iyi yöntemin inkübasyon sıcaklığının ayarlanması olarak belirtilmektedir (Ergüllü, 1983).

Çizelge 2.7. Kefirde ve Kefir Tanelerinde Bulunan Bakteriler (Farnworth, 2005).

Laktobasiller	
<i>Lactobacillus kefir</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
<i>Lactobacillus kefiranoferiens</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
<i>Lactobacillus kefirgranum</i>	<i>Lactobacillus casei</i>
<i>Lactobacillus parakefir</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Lactobacillus fructivorans</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus hilgardii</i>
<i>Lactobacillus helveticus</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus viridescens</i>
Laktokoklar	Streptokoklar
<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i>	
Enterokoklar	Leukonostoklar
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Leuconostoc sp.</i>
(bazı referanslarda <i>Streptobacterium durans</i> yada <i>Streptococcus durans</i> olarak bildirilmiştir)	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> (bazı referanslarda <i>Leuconostoc kefir</i> olarak bildirilmiştir)
Asetik asit bakterileri	Diğer Bakteriler
<i>Acetobacter sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>
<i>Acetobacter pasteurianus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
(bazı referanslarda <i>Acetobacter rancens</i> olarak bildirilmiştir)	
<i>Acetobacter aceti</i>	<i>Micrococcus sp</i>
	<i>Escherichia coli</i>

Tüketici kabulüne uygun bir kefir içeceği üretimi için farklı araştırmacılar kefir yapımında kullanılması gereken tane : süt oranları hakkında farklı önerilerde bulunmuşlardır. Bu durum kefir tanelerinin karışık mikrobiyal kompozisyonundan kaynaklanmaktadır. Standart ve belli bir kalitede kefir içeceği üretimi için kullanılan tane : süt oranının, üretimde bir kritik kontrol noktası olarak dikkate alınması gerekmektedir. Yapılan çalışmalarda tavsiye edilen tane : süt oranları; 20-50 g/L, 20-100 g/L, 50-100 g/L, ve 1g/L gibi çok değişik şekillerde bildirilmiştir (Garrote et al., 1998).

Garrote et al. (1998); litreye 1g, 10g, 20g, 50g ve 100g kefir tanesi kullanarak gerçekleştirdikleri üretimlerde mikrobiyal bileşimi, asitliği, viskozite ve CO₂ içeriğini incelemişlerdir. Litreye 10g aşıl原因 kefirin, viskoz olması ve fazla asidik olmaması sebebiyle tercih edilebileceğini, litreye 100g aşıl原因 kefirin ise daha CO₂'li, asitli ve düşük viskoziteli bir içecek olduğunu ifade etmişlerdir.

Irigoyen et al. (2005)'in yaptığı çalışmada; kefir taneleri %1 ve %5 oranında süte aşıl原因 olarak üretim gerçekleştirilmiş olup, analizler 24 saatlik inkübasyondan sonra 4 °C'de depolanan kefirlerde 2., 7., 14., 21. ve 28. günlerde yapılmıştır. %1 tane ile aşıl原因 kefir örneklerinde daha yüksek laktoz ve pH değerleri görülmüştür. Toplam yağ ve kurumadde içerikleri her iki örnekte de benzer olmuştur. Kefir örneklerinde yapılan duyu analizlerde, tüketici tarafından maksimum kabul edilebilir düzeyin 2 günlük depolamada gerçekleştiği görülmüştür.

Kefir tanelerinin mikroflorası ve bunların birbirlerine oranı; tanenin orijinine, depolama koşullarına, işlenmesine bağlı olarak değiştiğinden, literatürlerde tanelerdeki mikroorganizma türü konusunda, farklı bildirişler mevcuttur. Yapılan çalışmalarda kefir tanelerinde genel olarak bulunan mikroorganizmalar; laktik asit bakterileri (*Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus caucasicus*, *Lactobacillus bulgaricus*), leukonostoklar (*Leuconostoc dextranicum*), asetik asit bakterileri (*Acetobacter aceti*, *Acetobacter rasens*), streptokoklar (*Streptococcus lactis*, *Streptococcus durans*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus citrovorum*, *Streptococcus diacetylactis*) ve mayalar (*Kluyveromyces marxianus*, *Torulaspora delbrueckii*, *Candida kefir* ve *Saccharomyces cerevisia*)'dır (Abraham and Antoni, 1999; Garrote et al., 2001; Rea et al., 1996).

Simova et al. (2002); kefir tanelerinden ve taneyle fermente olan süttten inokülasyonla olmak üzere 2 farklı kefir üretimi gerçekleştirmişlerdir. Yaptıkları incelemede tanenin %83-90'ının laktik asit bakterileri ve %10-17'sinin maya olduğunu görmüşlerdir. Çalışmada kullandıkları taneden izole ettikleri laktik asit bakterilerinin; *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei* subsp. *pseudoplantarum* ve *Lactobacillus brevis*, mayaların ise *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida inconspicua* ve *Candida maris* olduğu belirlenmiştir. Laktobasil grup içinde homofermantatif termofilik türlerden olan *Lactobacillus*

delbrueckii subsp. *bulgaricus* ve *Lactobacillus helveticus* tanenin %70-87'sini oluşturmıştır.

Danimarka'da kefir tanesinden izole edilen mikroorganizmaların %70'ini streptokoklar, %25'ini laktobasiller ve %5'ini mayaların oluşturduğu görülmüştür (Karagözlü, 1990).

Yukarıdaki örneklerden de görüldüğü gibi taneler arasındaki flora değişse bile kefirde baskın olan flora genel olarak belirlenmiştir.

Beshkova et al. (2002); yaptıkları çalışmada, kefir tanelerinden *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* HP1, *Lactobacillus helveticus* MP12, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* C15, *Streptococcus thermophilus* T15 ve *Saccharomyces cerevisiae* A13'ü izole etmişlerdir.

Witthuhn et al. (2004); Güney Afrika'nın 8 farklı bölgesinden elde ettikleri kefir tanelerinde izolasyon ve identifikasyon yapmışlardır. Bakteri türleri sayısı $6,4 \times 10^4$ ve $8,5 \times 10^8$, mayaların sayısı $1,5 \times 10^5$ ve $3,7 \times 10^8$ arasında dağılım göstermiştir. Tanelerin laktobasil, leukonostok ve laktokoklar ile *Zygosaccharomyces*, *Candida* ve *Saccharomyces* mayalarını içerdiği belirlenmiştir. Farklı tanelerden izole edilen mikroorganizmaların dağılım sıklıklarına bakıldığında, tanelerin çoğunda 2 mikroorganizmanın hakim olduğu görülmüş olup *Pediococ*'lar, asetik asit bakterileri ve *Propionibacteria* belirlenmemiştir.

Ergüllü ve Üçüncü (1983); Türkiye'nin 7 farklı bölgesinden aldıkları kefir tanelerinin mikroflorasını araştırmışlardır. Çalışmalarında

kullandıkları 7 farklı tanedeki toplam mikroorganizma sayısı $2,6 \times 10^6 - 26 \times 10^8$ arasında değişmiştir. *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus brevis* tüm örneklerde bulunmuş ancak sadece bir örnekte *Streptococcus faecalis*'e rastlanmıştır. Burada, asitlik gelişimi ve proteolitik aktiviteden *Lactobacillus casei*'nin, CO_2 oluşumundan da *Lactobacillus brevis*'in sorumlu olduğu ifade edilmiştir. Tanede özellikle laktozu fermente eden ve laktozdan alkol ve CO_2 oluşturan türlerin floraya egemen olduğu görülmüştür. Sonuç olarak tanelerdeki mikroorganizmaların hem sayısal hem de oransal olarak çok büyük farklılıklar gösterdiğini belirtmişlerdir.

Kefir florasında mevsimlik değişiklikler incelendiğinde tane ve kültürle hazırlanan içeceklerde bahar ve yaz aylarında laktik streptokokların sayıca arttığı, bahar ayında ise asetik asit bakterilerinin ve viskozitenin arttığı bildirilmiştir.

Macaristan'da 58 kefir örneği 1 yıl boyunca kimyasal açıdan incelenmiştir. Çalışmada, tanelerdeki protein ortalaması %3,47 bulunmuştur. Bu değer kışın %3,57, yazın %3,43, ilkbaharda %3,46 olmuştur. Kefire işlenen sütün ortalama protein değeri ise %3,39'dur (Karagözlü,1990).

Kefir kültürü ve tanesi kullanılarak üretilen kefirlerin kalitesi üzerine olgunlaşma şartlarının etkisi incelendiğinde en belirgin fark kurumadde ve yağda görülmüştür. Asitlik ve alkol gelişimi 10^0C 'de depolanan örneklerde 15^0C 'de depolanan örneklere göre daha yüksek olmuştur. 10^0C 'de depolanan örneklerde tane ve kültür kullanımıyla

Üretim, duysal açıdan fark göstermezken, 15⁰C’de depolanan ve kültürle üretilen örneklerin 5. günden itibaren duysal açıdan ekidiği ifade edilmiştir (Tavlaş, 1986).

Kılıç et al. (1999); kefir tanesi ve starter kültürle yapılan kefirlerin olgunlaşması sırasında kimyasal, mikrobiyolojik ve duysal özelliklerindeki değişimlerini 5 günlük depolama süresince incelemişler ve kefir ie­eğinin mikroorganizma konsantrasyonu ve duysal özellikler bakımından üretimden itibaren 3 gün içerisinde tktilebile­eği sonucuna varmışlardır. alışmalarında *Laktobacillus*, *Lactococcus* ve maya sayılarını tane ile ürettikleri kefir ie­eğinde sırasıyla $3,93 \times 10^7$; $5,07 \times 10^7$; $2,36 \times 10^7$ olarak belirlerken kültürden ürettikleri kefir ie­eğinde ise sırasıyla $3,34 \times 10^7$; $4,70 \times 10^7$ ve $2,24 \times 10^7$ olarak bulmuşlardır. Tane ile elde edilen kefir ie­eğinde proteolitik aktivite 0,297 mg tirozin/100 ml iken starter kültürle ürettikleri kefir ie­eğinde bu değer 0,267 mg tirozin/100 ml olmuştur.

Figler et al. (2006); Macaristan Sütçülük Araştırma Enstitüsü tarafından geliştirilen ve Biofir® adı verilen kefir (ekzopolisakkarit üreten termofilik suşlarca oluşturulan probiyotik laktik asit bakteri kültürü kullanılarak üretilen Rus tipi kefir) ile geleneksel Rus tipi kefirini karşılaştırdıkları bir çalışmada, 4 haftalık kullanım sonrasında, fekal mikroflora analizinde tüm mikroorganizma sayısının kontrol grubunda (geleneksel Rus kefir) 4.3 kat, Biofir grubunda ise 6.8 kat arttığını ancak probiyotik bakteri oranlarında (*Lactobacillus*, *Streptococcus* ve *Bifidobacterium*) ise Biofir grubunda %12.7’den %72’ye artış

gözlenirken, kontrol grubunda %8.9'dan %2.7'ye azalma olduğunu bildirmişlerdir. Biofir grubunda probiyotik bakterilerde en fazla artış (59.7 kat) *Bifidobacterium* grubunda izlenmiştir. *Lactobacil*'lerin sayısında ise değişiklik gözlenmemiştir. Çalışmanın sonucu olarak Biofir tüketimi ile probiyotik bakterilerde önemli artış gözlenirken, geleneksel kefirde ise bu artış görülmemiştir.

Garrote et al. (2001); Arjantin'in 4 farklı bölgesinden aldıkları 4 farklı kefirin karakteristiklerini kimyasal ve mikrobiyolojik açıdan incelemişlerdir. Tanelerin hepsinde, laktobasil, laktokok, asetik asit bakterisi ve mayaların olduğu görülmüş olup *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus plantarum*, *Acetobacter* ve *Saccharomyces*ler tüm tanelerde bulunurken, *Leuconostoc mesenteroides*'e sadece tek bir tanede rastlanmıştır. Tanelerden üretilen kefirlerin hepsi *Escherichia coli*'yi inhibe etmişlerdir. Fermentasyondaki tane artışlarına bakıldığında 3 farklı bölgeden alınan tanelerde artış gözlenirken sadece birinde ağırlık artışına rastlanmamıştır.

Yüksekdağ et al. (2004a); Türk kefir örneklerinden laktik asit bakterisi olarak izole ettikleri laktokoklardan toplam 21 coccoid form tespit etmişlerdir. İdentifikasyon sonucunda, 21 laktokok izolatu olarak *Lactococcus cremoris* (11 suş), *Lactococcus lactis* (4 suş), *Streptococcus thermophilus* (3 suş), *Streptococcus durans* (3 suş) belirlenmiştir.

Koroleva (1991); kefirdeki bakteri ve mayaların tek tek saf kültür olarak ayrıldıkları zaman ya sütte gelişip çoğalamadıklarını yada azalan biyokimyasal aktiviteye sahip olduklarını dolayısıyla da bu durumun

kefir tanelerindeki mikrobiyal populasyon çalışmalarını güçleştirdiğini ifade etmiştir. Linossier and Dousset (1994); süte *Candida kefir* mayası eklendiğinde *Lactobacillus kefir*'in daha iyi gelişme gösterdiğini bildirmişlerdir. Garrote et al. (2004); yaptıkları çalışmalarda benzer görüşleri ifade etmişlerdir.

Kefir tanelerinin kimyasal kompozisyonu orijinine göre değişmekle birlikte literatürlerde ortalama olarak 890-900 g/kg su, 2 g/kg yağ, 30g/kg protein, 60g/kg şeker ve 7g/kg kül şeklinde bildirilmiştir. Bunun yanında tane orijinindeki bakteri aktivitesine bağlı olarak son üründe ortalama olarak belirtilen değerler %0,8-1,0 laktik asit, %1 etanol, değişik oranlarda CO₂, asetaldehit, diasetil ve asetoin şeklinde kendini göstermektedir. Kefir içeceği keskin asit ve mayamsı tatla olup ekşi bir üründür. Ayrıca CO₂ içeriği nedeniyle köpüren bir özelliği vardır (Gilliland, 2001; Wszolek et al., 2006).

Konuya tane bileşimi ve son ürünün tüketici kabulü açısından bakıldığında; Wszolek et al. (2001); İskoçya ve Polonya'da inek, koyun, keçi sütüne farklı starter kültürlerin katılarak yapıldığı kefir içeceklerinin özelliklerini inceledikleri görülmüştür. Bu amaçla DVI kültürlerle ve %2-10(w/v) arası taneden ürettikleri kefirde %1-3 (v/v) aşılama ile kefir içeceği üretimini gerçekleştirmişler. Kefirin g/kg'daki kimyasal bileşimi; 106-149 toplam kurumadde, 29-64 ham protein, 38-47 karbonhidrat ve 7-11 kül olarak belirlenmiştir. Kefire aşılama sütteki yağ içeriği ortalama 31g/kg'a ayarlanmıştır. Laktik asit bakterileri ve mayalar taze ve depolanmış kefirde ortamda hakim olarak bulunmuştur.

Assadi et al. (2000); kefir tanelerinde bulunan starterleri, farklı oranlarda süte katarak kefir üretimini gerçekleştirmişlerdir. Burada laktik asit bakterileri, mayalar ve asetik asit bakterilerinin sayılarına bakılmış ve ürünün kalitesi renk, koku, tat, asitlik, viskozite ve köpürme (CO_2 oluşumu) açısından değerlendirilmiştir. Üretim; %2,5 yağlı homojenize sütün 25°C 'de 24 saat inkübasyonu ile gerçekleştirilmiştir. Üretim bir starter olarak %3-5 w/v tane katılımıyla diğeri ise %3v/v karışık bakteri kültürüne %2 v/v maya kültürü ilavesiyle gerçekleştirilmiştir. Oluşan ürün yağ, protein, şeker, alkol, karbondioksit, asitlik, yoğunluk ve riboflovin içeriği açısından irdelenmiştir. Kefir starterleri katılımıyla üretilen kefir içeceği, organoleptik özellikler ve kalite açısından en iyi olarak değerlendirilmiş ancak tane ile üretilen kefirin starterle üretilene göre daha çok tercih edildiği görülmüştür.

Tavlaş (1986); kefir tanesi (%5) ve kefir kültürü (taneyle elde edilen süzüntüden %2-3 aşılama ile) kullanılarak üretilen kefirin kalitesi üzerine olgunlaşma koşullarının etkisini araştırmıştır. Kefirin kalitesi kimyasal ve duyu nitelikleri açısından, olgunlaşma koşulları ise 10°C ve 15°C olmak üzere iki farklı olgunlaşma sıcaklığı açısından incelenmiş ve çalışma 3., 5. ve 7. depolama günlerinde değerlendirilmiştir. Çalışmada alkol ve asit oluşumu her iki üretim yönteminde ve olgunlaşma koşulunda artış göstermiş, 15°C 'de olgunlaştırılan kefirlerde asitlik gelişimi daha fazla olmuştur. Alkol miktarının ise 10°C 'de olgunlaştırılan kefirlerde aynı üretime ait ve 15°C 'de olgunlaştırılan kefiirlere göre daha yüksek değerlere ulaştığı bildirilmiştir. Tane ve kültür

kullanımı ile olgunlaşma sıcaklık ve süresinin duyusal nitelikleri de önemli ölçüde etkilediği ifade edilmiştir. Kefir kültürü ile üretilen ve 10⁰C’de olgunlaştırılan kefirlerin 7 gün boyunca kimyasal ve duyusal nitelikler açısından en iyi sonucu verdiği bildirilmiştir.

Tratnik et al. (2006); inek ve keçi sütünden üretilen kefiirlere %2 oranında yağsız süttozu, peyniraltı suyu konsantratu ve inülin katmışlardır. Tane katılan sütler 25⁰C’de 19 saat inkübasyona bırakılmış ve fermente edilen tüm sütler 10 gün boyunca 5⁰C’de depolanmıştır. 1., 5. ve 10. depolama günlerinde analizler yapılmıştır. Depolama boyunca örneklerdeki asitlik düzeyi önemli bir değişiklik göstermemiştir. Keçi sütü örnekleri önemli derecede daha düşük viskozite, daha düşük duyusal özellikler ve daha yumuşak bir kıvam-yoğunluk göstermişlerdir.

Ersoy (2001); kefir tanesi (%2,7) ve kefir kültürü (%4,5) kullanarak gerçekleştirdiği kefir içeceği üretiminde süttozu, peynir suyu tozu ve yayıkaltı karışımlarını kullanmış ve 9 günlük depolama süresi içinde kefir içeceklerini kurumadde, yağ, asitlik, laktoz, pH, tirozin, özgül ağırlık, serum ayrılması gibi özellikler açısından incelemiştir. Ürünlerin görünüşünü önemli derecede etkileyen serum ayrılması ile ilgili değerler incelendiğinde en yüksek serum düzeyi, peynir suyu tozundan üretilen kefirde bulunurken en düşük değer süttten üretilen kefirde gözlenmiştir. Çalışmada, süt, süttozu, peynir suyu tozu, süttozu+yayıkaltı, süttozu+peynir suyu tozu, yayıkaltı+peynir suyu tozundan üretilen kefir içecekleri duyusal açıdan değerlendirildiğinde, süttozundan elde edilen kefir ile süttozu+yayıkaltı karışımlarından elde

edilen kefirin kontrol kefiri ile karşılaştırıldığında birbirlerine yakın değerler gösterdikleri tespit edilmiştir. Sonuç olarak süttozundan ve süttozu+yayıkaltı karışımından arzu edilen özelliklere yakın kefir üretimi yapılabileceği belirtilmiştir. Peynir suyu tozundan üretilen kefirin gerek tat ve aroma farklılığı gerekse fazla oranda serum ayrılması nedeniyle kefir üretimi için uygun olmadığı ifade edilmiştir.

Schoevers and Britz (2003); az yağlı süt ve yağlı süttten sadece süt, süt + tripton (20 g/L) , süt + maya ekstraktı (20 g/L), süt + tripton + maya ekstraktı ilaveli olacak şekilde 4 farklı kefir üretimi gerçekleştirmişler, 18, 22, 25 ve 30°C’de, karıştırmalı ve karıştırmasız olarak gerçekleştirdikleri üretimde biomas artışını gözlemlemişlerdir. En yüksek tane artışını % 582 ile 25°C’de çalkalamalı üretimle tripton ilaveli az yağlı sütün sağladığı görülmüş, aynı koşullardaki tam yağlı sütte ise % 522’lik bir artış söz konusu olmuştur. Çalkalamasız üretimdeki biomas artışı incelendiğinde az yağlı ve yağlı sütte sırasıyla % 175 ve % 173 oranında artış görülmüştür.

Garrote et al. (1997); denemelerini, +4°C’de ve -20 ile -80°C’de dondurarak saklanan tanelerde gerçekleştirmişlerdir. -20 ve -80°C’de saklanan taneler, +4°C’de saklanan tanelerle karşılaştırıldığında, -20 ve -80°C’de saklanan tanelerde mikrofloranın korunduğu ve ağırlık artışı olduğu gözlemlenmiştir. +4°C’de depolananlarda herhangi bir ağırlık artışı sağlanmamış, standart ürünün asitlik ve viskozitesini sağlayamadığı görülmüştür.

Kefir üretimini sınırlayan faktörlerden birinin paketlemedeki sorunlar olduğu bilinmektedir. Kefirin olgunlaşması aşamasında maya faaliyetleri, süt asidi bakterilerinde olduğu gibi durdurulamadığından, depolama sırasında CO₂ miktarının artması söz konusudur. Bugün tüketiciler plastik kaplarda meydana gelen herhangi bir şişmeyi, bozulmanın bir işareti olarak kabul etmektedir. Bu nedenledir ki kefir plastik kaplara paketleyebilmek için olgunlaşan ürün içerisinde CO₂ gelişiminin frenlenmesi gerekir. Liyofilize yada dondurarak konsantre edilmiş kültürlerin kullanıldığı endüstriyel kefir üretiminde maya miktarı çok az olduğundan bombaj olayı görülmemektedir (Tavlaş, 1986).

Witthuhn et al. (2005b); kefir tanelerinin mikrobiyal yoğunluğu ve aktivitesinde, farklı paketleme koşullarını ve bunların koruyucu etkilerini araştırmışlardır. 3 farklı paketleme materyalinde, tanedeki bakterilerin canlılıklarını ve aktivitelerini koruyabilme kabiliyetleri depolama süresi boyunca değerlendirilmiştir. Dolayısıyla tanelerin mikrobiyal bileşiminde farklı paketleme ve depolama şartlarındaki etkileri incelenmiştir. Liyofilize edilen kefir taneleri, LDPE (düşük yoğunluklu polietilen film), OPET (yönlü polyester film), ve MOPET (çok yönlü girişli polyester film) gibi 3 farklı paketleme materyali ile paketlenmiş ve oda sıcaklığında 3 ay süreyle saklanmışlardır. Liyofilize tanelerin asitlik aktivitelerini değerlendirmek için aktivite testleri (pH, titre edilebilir laktik asit, laktoz, 10. ve 18. saatin üstündeki fermentasyonu gösteren laktik asit içeriği) yapılmıştır. Fermentasyon aktivitelerinin en iyi kazanımı MOPET filmle yapılan paketlemede görülmüştür. Mikrobiyal

gelişim açısından incelendiğinde, OPET filmle paketlenme en iyi korumayı sağlamıştır.

Kefir tanelerinde mevcut olan mikrobiyal yapının korunmasında liyofilizasyon, hava ile kurutma, buzdolabı koşullarında saklama, dondurma gibi yöntemler başarıyla kullanılmaktadır. Kefir tanelerinin liyofilizasyonla 12-18 ay aktivitelerinin korunduğu bilinmektedir (Gilliland, 2001; Wszolek et al., 2006).

Garrote et al. (1997); en az 2 laktobasil, 2 laktokok, 2 maya, ve bir de küf izole ettikleri kefir tanelerini farklı metodlarla saklamışlardır. $+4^{\circ}\text{C}$ 'de ve -20 ile -80°C 'de dondurarak saklanan tanelerin metabolik aktiviteleri ölçülmüştür. Kefir üretiminde kullanılan tanelerin korunma metodu olarak en iyi özellikleri -20°C de saklanan tanelerin gösterdiği bildirilmiştir.

İsrail'de % 1 ve % 3 yağlı UHT süte % 5 kefir tanesi katılarak kefir içeceği üretimi gerçekleştirilmiştir. Kimyasal özellikleri açısından çalışma irdelendiğinde % 1 ve % 3 yağlı sütlerden elde edilen içeceklerde asitlik aynı kalmış, protein ve yağ içeriğinde önemli bir değişiklik olmamıştır. Etanol ve asetaldehit miktarlarında ilk 6 saatte hızlı bir artış gözlenmiştir. Yapılan denemelerde araştırmacılar UHT sütlerde kefir yapımının hiçbir sakıncası olmadığını ve önemli kimyasal kriterleri incelendiğinde geleneksel yolla ısıtıl işlem uygulanan sütlerle belli bir farklılığın görülmediğini bildirmişlerdir (Merin and Rosenthal, 1986).

Karagözlü (1990); kaynatılmış, pastörize ve sterilize olmak üzere üç farklı ısıtıl işlem uygulanmış inek sütlerinden kefir yapmıştır. Kefir üretimi tane (%2,5) ve tane ile üretilen kefirde aşılama (%2,5-3) olarak 2 farklı şekilde gerçekleştirilmiştir. Depolamanın 1., 6., 9. günlerinde kefir içeceklerinin fiziksel, kimyasal ve duyu analizi yapılmıştır. Tüm kefir örneklerinin 9 günlük depolama süresince duyu değerlendirilmede beğeni kazandığı ifade edilmiş olup kaynatılmış ve pastörize sütlerle üretilen kefirlerin 10⁰C'de 1 haftada, sterilize sütlerle üretilen kefirlerin 10 günde tüketilmesi tavsiye edilmiştir. Çalışmada kefir kalitesinin, tane ve kültürün aşılama oranına, inkübasyon sıcaklığı ve süresine, katılan sütün bileşim ve uygulanan ısıtıl işleme bağlı olduğu görülmüştür.

Simova et al. (2002); kefir tanelerinden ve taneyle fermente olan süttten inokülasyonla olmak üzere 2 farklı kefir üretimi gerçekleştirmişlerdir. Homofermentatif laktik streptokoklar taneden elde edilen kefir içeceğinde % 52-65, süzüntü kefirde elde edilen kefir içeceğinde % 79-86 oranında saptanmıştır. Araştırmaya, taneden kefir içeceği → süzüntü kefirde kefir içeceği → izole edilen kültürden kefir içeceği üretimi olarak aşamalı bakıldığında, kefir içeceğindeki mikroflora içinde laktobasil oranları % 13-23 oranında azalırken, streptokok oranları % 26-30 oranında artmıştır. Tanelerdeki toplam maya florasında, laktozu fermente edemeyen maya olarak egemen olan *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*'in, taneden ve süzüntüden elde edilen kefir içeceğinde bulunduğu ancak izole edilen kültürden üretilen kefir içeceğinde çarpıcı bir şekilde azaldığı görülmüştür.

Taneden, taneden elde edilen süzüntüden ve kefir starter kültüründen kefir içeceği üretilmiş ve asetik asit bakteri sayıları sırasıyla 25×10^1 - 1×10^5 adet/ml, $2,5 \times 10^4$ - 6×10^5 adet/ml, 2×10^5 - 6×10^7 adet/ml olarak bulunmuştur. Yine tanede ve bu taneden üretilen kefir içeceğinde maya sayılarının incelendiğinde tanedeki maya sayısının (10^6) kefir içeceğindeki maya sayısından (10^9) az olduğu görülmüştür (Karagözlü, 1990).

Güzel-Seydim et al. (2005); kefir taneleri ve içeceğindeki mikrobiyal dağılımı incelemişlerdir. İçekteki toplam laktik asit bakterileri, laktokoklar, laktobasiller ve maya popülasyonu fermentasyon boyunca artış göstermiş ve soğuk depolamada da artışların önemsiz derecelerde olduğu ifade edilmiştir.

Assadi et al. (2000); kefir tanelerinde bulunan starterleri, farklı oranlarda süte katmak suretiyle kefir üretimini gerçekleştirerek laktik asit bakterileri, mayalar ve asetik asit bakterilerinin sayılarının dağılımını saptamışlardır.

Pintado et al. (1996); Portekiz kefir tanelerinde mikrobiyolojik ve reolojik çalışmalar yapmıştır. Bu çalışmada bakterileri izole eden araştırmacılar, laktik asit, etanol oluşumu ve biomas artışı gibi değerler açısından kefirini incelemişlerdir.

Witthuhn et al. (2005a); geleneksel kefir tanelerinde ve 8 farklı kültür ortamında (MRS, KCA+TTC, KCA+V, APM, YELN, Pal-P, MEA ve YEC) geliştirilen tanelerde mikrobiyal popülasyonu

belirlemiştir. Kefir üretiminde mikrobiyal popülasyon $4,6 \times 10^3$ - $2,6 \times 10^8$ arasında dağılım göstermiştir.

Beshkova et al. (2002); ardışık laktik asit - maya fermentasyonu ile kefir üretimi (A) ile eş zamanlı laktik asit - maya fermentasyonu ile kefir üretimi (B)'yi gerçekleştirerek üretimde 2 farklı yol izlemişlerdir. Farklı 2 yolla üretilen bu kefir içecekleri, basit fizikokimyasal özellikleri ile duyuusal özellikleri açısından irdelenmiştir. Fermentasyon ve olgunlaşma süresince, saf kültürle üretilen kefirlerde laktokok ve laktobasiller 10^{11} kob/ml'ye ulaşmış olduğundan üretilen içecek probiyotik bir ürün olarak kabul edilmiştir. Kefir (A)'da *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* C15 ve *Streptococcus thermophilus* T15'in etkili bir şekilde bulunduğu, Kefir (B) üretiminde laktobasillerin, laktokokların neredeyse 2 katına çıkarak ortamda galip geldiği belirlenmiştir. *Saccharomyces cerevisiae* A13'ün ise 1,98 g/L ile CO₂ ve %0,48 alkol üretimiyle kefirin tipik maya aromasından sorumlu olduğu görülmüştür.

Irigoyen et al. (2005); depolama boyunca kefir içeceklerinde mikrobiyal, fizikokimyasal ve duyuusal özellikleri incelemişlerdir. Kefir taneleri % 1 ve % 5 oranında süte aşılanarak üretim gerçekleştirilmiş olup, analizler 24 saatlik inkübasyondan sonra 4°C'de depolanan kefirlerde 2., 7., 14., 21. ve 28. günlerde yapılmıştır. 2. günde laktobasil ve laktokoklar 10^8 kob/ ml., mayalar 10^5 kob/ ml ve asetik asit bakterileri 10^6 kob/ ml düzeyinde tespit edilmiştir. Laktik asit bakteri florası 7-14. günler arasında yaklaşık 1,5 log units azalmış olup daha sonra aynı düzeyde kalmıştır. % 5 tane ile aşılanan kefir örneklerinde % 1 aşılanana

göre daha yüksek maya ve asetik asit bakteri sayısı ve viskozite görülürken, % 1 tane ile aşıl原因an kefir örneklerinde daha yüksek laktik asit bakteri sayısı tespit edilmiştir.

Güzel-Seydim et al. (2000a); starter ile ürettikleri kefir içeceğinde fermentasyon süresince organik asit ve aroma bileşiklerini incelemiştir. Fermentasyonun 0., 5., 10., 15 ve 22. saatlerinde, son pH 4,6 oluncaya kadar beklettikleri örneklerde, organik asit ve aroma maddelerini belirlemiştir. Fermentasyon süresince orotik, sitrik ve pürivik asitler belli belirsiz çok az miktarda azalırken inkübasyonun 15. saatinde hipürik asit tamamen uçmuştur. Asetik, propiyonik ve bütirik asitler ve diasetil belirlenmemiştir. Asetaldehit ve asetoin fermentasyon boyunca artış gösterirken etanol sadece inkübasyonun 5. saatinden sonra üretilmeye başlanmıştır.

Güzel-Seydim et al. (2000b); kefir içeceğinin buzdolabında depolanması süresince gelişen aroma maddelerini ve organik asitleri belirledikleri çalışmalarında ise depolama boyunca laktik asit konsantrasyonunun arttığını ve 21. gün sonunda 7739 ppm'e ulaştığını belirtmişlerdir. Orotik ve sitrik asit üretimi depolama esnasında belli belirsiz artarken, 22 saatlik fermentasyon süresinde ortamda olduğu belirlenen hipürik ve pürivik asitler, depolama aşamasında tespit edilememiştir. Asetik, bütirik, propiyonik asit belirlenememiş, etanol konsantrasyonu 21 günlük depolamada % 0,08'e ulaşmıştır.

Beshkova et al. (2003); kefir taneleri ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* HP1 + *Lactobacillus helveticus* MP12 + *Lactococcus*

lactis subsp. *lactis* C15 + *Streptococcus thermophilus* T15 + *Saccharomyces cerevisiae* A13 kefir starterlerinin fermentasyon ve depolama boyunca karbonil bileşikler oluşumunu incelemiştir. Kefir starterleri tarafından üretilen karbonil bileşik miktarları, tanelerle üretilene göre daha fazla olmuştur. Starterle üretilen kefir içeceklerinde maksimum asetaldehit konsantrasyonu (18,3 µg/g), taneden elde edilen *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* HP1'in metabolik aktivitesinden kaynaklanmıştır. En yüksek diasetil üretim aktivitesi, starter kültürle üretimde (1,87 µg/g) olduğu belirtilmiş ve tek başlarına *Streptococcus thermophilus* T15 suşunun (1,62 µg/g), *Lactobacillus helveticus* MP12 suşunun (0,85 µg/g), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* C15'in (0,42 µg/g) diasetil ürettiği görülmüştür. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* HP1 + *Lactobacillus helveticus* MP12 aseton üretirken, laktokoklarda aseton üretimine rastlanmamıştır. 2-butanon'un varlığı *Lactobacillus helveticus* MP12'in üretim kabiliyetiyle ilişkili görülmüştür. Diğerleriyle mukayese edildiğinde *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* C15'in daha etkili bir şekilde etil asetat sentezlediği görülmüştür. *Saccharomyces cerevisiae* A13 (3975 µg/g alkol ve 1,80 g/L CO₂ üreterek) kefirin kendine özgü farklı ve ayırt edilebilen aromasını kazandırmaktadır.

Yüksekdağ et al. (2004a); Türk kefir örneklerinden laktik asit bakterisi olarak izole ettiği laktokoklardan toplam 21 coccoid form tespit etmişlerdir. Laktokokların asetaldehit, diasetil üretimi, proteolitik aktiviteleri, H₂O₂, laktik asit üretim miktarları belirlenmiştir. Türler arasında farklı laktik asit miktarları üretilmiş olup, oluşturdukları laktik

asit düzeyleri 2,3-9,9 mg/ml. olmuştur. *Laktobacillus* suşlarının ürettiği asetaldehit konsantrasyonu 0,18 ve 3,96 µg/ml aralığında değişmiştir.

Liu et al. (2002a); soya sütünden üretilen kefir içeceğinde aroma maddeleri üretimini ve tanelerdeki polisakkaritleri belirlemişlerdir. Soya sütüne aşıl原因an kefir tanelerinin, süte aşıl原因an kefir tanelerine oranla daha düşük polisakkarit ürettiği belirlenmiş, soya sütü kefirinde asetaldehit miktarı süt kefirine göre biraz daha yüksekken diğer aroma maddelerinin ise azaldığı görülmüştür.

Kefir kültürü ile beraber *Propionibacterium shermanii* kullanımı üzerine yapılan bir çalışmada *Propionibacterium shermanii*'nin asitlik ve riboflavin oluşumunu etkilemediği görülmüştür. Ancak maya gelişiminde inhibitör etki yaptığı ve bu durum dolayısıyla etanol ve CO₂ oluşumunu etkilediği bildirilmiştir.

Kefir kültürü ile *Propionibacterium shermanii*'nin simbiyoz çalışması sonucu başta B₁₂ vitamini olmak üzere kefirde diğer vitaminlerin miktarı da artmaktadır. Normal bir kefirde ortalama 0,51-1,4 mg/100ml olan B₁₂ vitamini değeri, *Propionibacterium shermanii* katılımıyla üretilen içecekte 14,3 mg/100ml değerine ulaşmaktadır (Cerna and Hrabova, 1977; Lili and Moon, 1983).

Çalışmalarda zaman zaman inek sütü dışında koyun, keçi yada soya sütü gibi farklı süt türleri kullanılarak yada süte şekerler ilave edilerek kefirdeki starterlerin çalışmaları değerlendirilmiş dolayısıyla

aroma maddeleri ve organoleptik özellikler gibi kalite kriterleri açısından incelenmiştir.

Wszolek et al. (2001); İskoçya ve Polonya’da inek, koyun, keçi sütüne farklı starter kültürlerin katılarak yapıldığı kefir içeceklerinin özelliklerini incelemiştir. Mikrobiyal metabolitler (serbest yağ asitleri, diasetil ve etanol) süt türleriyle ilişkili olarak değişmiştir. Ürünün dayanımı ve tüm duyu özelliklerinin süt tipinden etkilendiği görülmüştür. Serbest yağ asitleri ve diasetil depolamadan etkilenmiştir. Depolamanın; ağız hissi karakteristiklerinde (serum ayrılması, kirecimsi tat, dil yüzeyinde oluşturduğu tabaka) önemli derecede etkili olduğu görülmüştür.

Liu and Lin (2000); glikoz, laktoz, sakkaroz ilaveli ve ilavesiz olarak soya sütünden kefir üretimini gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada mikrobiyal gelişim, galaktosidaz aktivitesi, etanol üretimi üzerinde çalışılmış olup soya sütüne taneler eklendikten hemen sonra laktik asit bakteri sayıları süte oranla daha yüksek, maya sayıları ise daha düşük olarak saptanmıştır. Soya sütüne % 1 glikoz ilavesi, laktik asit bakterisi ve maya gelişimini dolayısıyla da laktik asit ve etanol üretimini de teşvik etmiştir.

Liu et al. (2005); kefirin ve soya sütünden üretilen kefirin antimutajenik ve antioksidatif etkileri üzerine araştırma yapmışlardır. Her iki kefirde de 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radikallerine karşı önemli düzeyde yok edici aktivite tespit etmişler ve kefirin antimutajenik

ve antioksidatif etkilerinden dolayı beslenmede çok önemli olacağını belirtmişlerdir.

Güzel-Seydim et al. (2006); kefir ve yoğurdun antimutajenik ve antikanserojenik özelliklerini incelemişlerdir. Yapılan çalışmada kefir ekstraktlarının aflatoksin B₁, metilmetanosülfat, sodyum azid ve 2-aminoantrasen mutajenlerine karşı Ames testiyle antimutajenik aktiviteleri saptanmıştır. Ayrıca kefir aseton ekstraktı, gaz kromatografisi ile incelenerek konjuge linoleik asit dahil olmak üzere yağ asitleri profili çıkarılmıştır. Genel olarak kefirde antikanserojen özellikleri tespit edilmiş konjuge linoleik asit, bütirik asit, palmitik asit miktarları süt ekstraktlarındakinden daha yüksek olarak saptanmıştır.

Güven and Gülmez (2003); oksidatif hasarı teşvik edici hepatotoksik bir ajan olan CCl₄ (karbon tetra klorür)'ün LPO (lipit peroksidasyon) düzeyi, GSH (glutathione), GSH-Px (glutathione peroksidaz), GST (glutathione S transferaz) ve CAT (katalaz) gibi antioksidant savunma sistemlerinin aktivitesinde kefirin etkisini iyi bir antioksidant olan E vitaminiyle karşılaştırmalı olarak hayvan modelinde incelemişlerdir. Çalışmada 3 haftalık 22-26g ağırlığındaki İsviçre Albino fareleri kullanılmıştır. Hem E vitamininin hem de kefirin CCl₄'ün teşvik edici hasarına karşı koruyucu etkisi belirlenirken kefirin etkisinin E vitamininin etkisinden daha fazla olduğu görülmüştür.

Kefirin antimikrobiyal etkileri mevcuttur ve bu etkilerin içeceklerdeki organik asit, antibiyotik faktörler, aroma maddeleri, hidrojen peroksitten kaynaklandığı belirtilmiştir (Viljoen,2001).

Etöz (2006); kefirde izole edilen laktik asit bakterileri ve mayaların bazı patojen bakteriler üzerine göstermiş olduğu inhibitör aktivitelerinin belirlenmesi üzerine çalışmış ve bu amaçla kefir örneklerinden izole edilen *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Leuconostoc cremoris*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Candida kefir*, *Candida famata* türlerinin antimikrobiyal aktivitelerini araştırmıştır. Klinik, peynir ve süt örneklerinden izole edilen 20 *Staphylococcus*, 13 *Salmonella*, 3 *Shigella*, 22 *Klebsiella*, 11 *Enterobacter*, 6 *Hafnia*, 4 *Citrobacter*, 2 *Pseudomonas*, 2 *Proteus*, 1 *Listeria*, 2 *Serratia*, 4 *Escherichia*, 1 *Aeromonas* olmak üzere toplam 91 patojen bakteriyi indikatör olarak kullanmıştır. Kefirden izole edilen *Candida* türleri ve laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal aktiviteleri kuyu difüzyon metodu ile test edilmiştir. *Candida famata* ve *Candida kefir* mayalarının, en etkin inhibitör aktiviteyi *Staphylococcus* türleri üzerinde gösterdiğini, *Candida kefir*'in *Candida famata*'ya oranla tüm izolatlarda daha etkin inhibitör aktivite oluşturduğunu, *Candida kefir* ve *Candida famata*'nın tüm *Klebsiella pneumoniae* izolatları üzerinde inhibitör etki gösterdiği belirtilmiştir. *Candida kefir* ve *Candida famata*'nın *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* ve *Salmonella typhimurium* türlerine karşı oluşturdukları zon çapı 6 mm ile 18 mm arasında değişmiş ve 2 *Salmonella choleraesuis* izolatından yalnız birinde inhibitör zonu tesbit edilmiştir. *Candida kefir* ve *Candida famata*'nın *Pseudomonas putida*, *Shigella flexneri*, *Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae* ve *Proteus mirabilis* üzerine inhibitör etkileri tespit edilmiş ancak *Listeria monocytogenes*,

Shigella sonnei izolatlarında inhibitör zonu oluşmamıştır. Bazı *Escherichia* suşlarında *Candida kefir* ve *Candida famata* mayalarının inhibitör etkisi gözlenmiştir. *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* bakterilerinin *Staphylococcus*, *Listeria*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Serratia*, *Escherichia*, *Aeromonas* izolatları üzerinde büyük inhibitör zonu tespit etmiştir. *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* bakterileri tüm patojenler üzerinde benzer antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Kefirden izole edilen, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Leuconostoc cremoris* bakterileri tüm patojenler üzerinde antimikrobiyal aktivite göstermiş, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterisinin en etkin antimikrobiyal aktiviteyi *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus* üzerinde gösterdiği belirtilmiştir. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Leuconostoc cremoris* bakterileri *Pseudomonas putida* izolatları üzerinde çok düşük enzim aktivitesi göstermiştir. *Leuconostoc cremoris*, *Staphylococcus* izolatlarında etkin inhibitör aktivite göstermiştir.

Ulusoy et al. (2007); kefirin gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyal etkisi üzerine yaptığı in vitro çalışmada disk difüzyon metodunu kullanmıştır. Bu amaçla 24 ve 48 saat fermentasyona bırakılmış kefir örneklerinin *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) ve *Escherichia coli*'ye (ATCC 8739) karşı gösterdikleri antimikrobiyal etki incelenmiştir. 24 ve 48 saatlik kefirin gösterdiği en kuvvetli antimikrobiyal etkinin 21.4 ve 21.1

mm'lik etki alanı yarıçaplarıyla *Staphylococcus aureus*'a karşı olduğu gözlenmiş olup +4⁰C'de muhafaza süresi boyunca 1., 4., ve 7. günlerde de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Depolama boyunca, antimikrobiyal etki değişmezken yada azalırken sadece *Salmonella enteritidis*'te artış görülmüştür.

Yüksekdağ et al. (2004a); Türk kefir örneklerinden laktik asit bakterisi olarak izole ettiği laktokoklardan toplam 21 coccoid form tespit etmişlerdir. İdentifikasyon sonucunda, 21 laktokok izolatu olarak *Lactococcus cremoris* (11 suş), *Lactococcus lactis* (4 suş), *Streptococcus thermophilus* (3 suş), *Streptococcus durans* (3 suş) belirlenmiştir. *Lactococcus lactis* Z13S, *Streptococcus durans* Z7S, Z8S, Z15S, *Lactococcus cremoris* Z9S, Z16S, Z17S, Z19S, Z20S ve Z21S suşları hidrojen peroksit üretmezken *Lactococcus lactis* Z1S ve Z2S suşlarının 0,17 µg/ml. ile hidrojen peroksit üretimi yüksek olmuştur. *Lactococcus lactis* Z2S ve Z3S, *Streptococcus thermophilus* Z5S, Z12S, *Streptococcus durans* Z7S, Z8S, *Lactococcus cremoris* Z14S VE Z16S hiçbir proteolitik aktivite göstermezken *Lactococcus cremoris* Z20S suşu 0,09 mg/ml ile en yüksek proteolitik aktiviteyi göstermiştir. Laktokokların antimikrobiyal etkileri *Escherichia coli* NRLL B-704, *Staphylococcus aureus* 4-63, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 29212 üzerinde agar difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir. *Lactococcus lactis* Z1S, Z2S ve *Lactococcus cremoris* Z6S suşları *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'yı inhibe edebilirken *Staphylococcus aureus*'u tüm suşların inhibe ettiği görülmüştür. Ayrıca *Streptococcus thermophilus* Z5S suşu da *Pseudomonas aeruginosa*'yı inhibe edebilmektedir.

Santos et al. (2003), kefirde izole ettikleri *Lactobacillus* subsp.'in 58 suşunun özelliklerini incelemişlerdir. Bu suşlarda Caco-2 hücreleri gibi enterositlere tutunma-bağlanma, safra asidine ve aside dirençleri, enteropatojenik bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteleri, Caco-2 hücrelerine bağlanan *Salmonella typhimurium*'un inhibisyonu üzerine çalışmalar yapılmıştır. En iyi probiyotik özellikler *Lactobacillus acidophilus* CYC 10051 ve *Lactobacillus kefiranofaciens* CYC 10058'de görülmüştür. *Lactobacillus kefiranofaciens* CYC 10058'in antitümör özelliği olan kefiranla yakından ilişkili olduğu açıklanan ekzopolisakkarit ürettiği bildirilmiştir.

Rodrigues et al. (2005); kefiran ve kefirin antimikrobiyal ve tedavi edici özelliği üzerine bir çalışma yapmış ve en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi *Streptococcus pyogenes*'e karşı tespit etmişlerdir.

Kefir; genel olarak probiyotik bir ürün olarak belirtilmesine karşın bu konuda az sayıda yayın bulunmaktadır. Kefirin kısaca bahsedilen sağlığa faydalı özelliklerinden ve özellikle *lactobacillus* türleri içerdiğinden dolayı probiyotik olarak tanımlanması yadırganmamıştır.

Jankowska et al. (2003); kefirde bulunan laktik asit bakterilerinin bazı biyokimyasal özelliklerine yüksek basıncın etkisini araştırmışlardır. Liyofilize kefir kültüründen izole edilen 3 laktokok ve 3 laktobasil suşu, sütte aktive edilmiş ve oda sıcaklığında 15 dakika 500MPa'lık basınca maruz bırakılmışlardır. Hem basınçla hem de basınçsız olarak üretilen kültürlerde mikroorganizmaların canlılığı, aroma üretme kabiliyetleri, asitlik, laktozu fermente etme yetenekleri ve antimikrobiyal aktivite gibi

özellikleri incelenmiştir. Basınç uygulamasından sonra bakterilerin aroma üretme yeteneklerinde azalma görülmüş, pH artmış, SH az miktarda azalmış, laktokok kültürleriyle laktobasil kültürleri karşılaştırıldığında ise laktobasillerin, asitliği daha büyük miktarda indirgediği görülmüştür. Uygulamada laktokokların laktozu kullanım kabiliyetlerinin etkilenmediği ancak mikroorganizmaların antibakteriyel aktivitelerini kaybettikleri görülmüştür.

Cebeci and Gürakan (2003); süt ürünlerinden probiyotik özellikli 15 *Lactobacillus* suşu belirlemişlerdir. Bunlardan 13'ünün *Lactobacillus plantarum* diğer ikisinin *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus pentosus* olduğu bildirilmiş olup asit ve safra tuzuna tolerans, fruktooligosakkaritleri fermente edebilme yeteneği, β -galaktosidaz aktivitesi, antibiyotiklere karşı duyarlılık gibi şartlar için kontrol mikroorganizmaları olarak kullanılmışlardır. Aside toleranslı suşların; *Lactobacillus plantarum* HU, *Lactobacillus plantarum* NCIMB 1193, *Lactobacillus plantarum* 80, *Lactobacillus plantarum* DSM 20174, *Lactobacillus plantarum* DSM 20246, *Lactobacillus plantarum* 37 ve *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 olduğu asit ve safra tuzuna toleranslı suşların *Lactobacillus plantarum* 80, *Lactobacillus plantarum* DSM 20174; *Lactobacillus plantarum* DSM 20246; *Lactobacillus plantarum* 37; *Lactobacillus* HU, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 olduğu görülmüştür. Fruktooligosakkaritleri fermente edebilme yeteneği olan 8 suşun da *Lactobacillus plantarum* 80, *Lactobacillus plantarum* DSM 20174, *Lactobacillus plantarum* DSM 20246, *Lactobacillus plantarum* NCIMB 1193, *Lactobacillus plantarum* 37, *Lactobacillus*

plantarum 73, *Lactobacillus plantarum* HU olduğu bildirilmiştir. *Lactobacillus plantarum* 37 ve *Lactobacillus plantarum* 80'nin, antibiyotiklere karşı yüksek direnç gösterdiği, *Lactobacillus plantarum* NCIMB 1193 ve *Lactobacillus pentosus*'un en yüksek β -galaktosidaz aktivitesine sahip olduğu ifade edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, *Lactobacillus plantarum* 37, *Lactobacillus plantarum* 80, *Lactobacillus plantarum* NCIMB 1193 ve *Lactobacillus plantarum* HU'nun probiyotik olarak en umut verici suşlar olduğu belirtilmiştir.

Bu çalışmaların ışığı altında kefirde beklenen nitelikler ve üretimine ilişkin bilgiler henüz yeterli düzeyde değildir. Bu nedenle standart bir ürün eldesi mümkün olmadığından, bu durum kefirin kalite kontrolünde pek çok güçlüklerle karşılaşılmasına neden olmaktadır. Özellikle organoleptik özellikler ve kalite açısından tüketici tercihlerine uygun bir üretim için kefir üretim yöntemi, tane ve kültür kompozisyonu, bunların birbirleriyle etkileşimleri, oranları ile ilgili daha pek çok çalışmaya gereksinim duyulmaktadır.

2.4.Prebiyotiklerin Genel Özellikleri

İnsanların, tüketmiş oldukları gıdaların, sağlıkları üzerine direkt etkili olduklarına inancı her geçen gün daha da artmaktadır. Günümüzde gıdalar sadece açlığı gidermekle kalmaz, insanlar için gerekli besin elementlerini sağlar, beslenmeyle ilgili hastalıkları önler, tüketicilerin zihinsel ve fiziksel ihtiyaçlarını (mutluluk) yoluna sokar, geliştirir ve düzeltir. Bu bakımdan, fonksiyonel gıdalar önemli rol oynarlar (Siro et al., 2008).

İnsan bağırsağında 400-500 farklı mikroorganizma bulunmakta olup bunlardan bazılarının konağa faydalı (bifidobakterler ve laktobasiller gibi) bazılarının da zararlı etkileri bulunmaktadır. İnsan sağlığı üzerine olumlu etkileri olan probiyotik mikroorganizmalar, bağırsakta doğal olarak bulunan sınırlı sayıdaki bakteri türleridir ve prebiyotikler, bu yararlı bakterilerin aktivitesini ve/veya gelişmesini teşvik edip konukçu sağlığını geliştirerek konukçuya yararlı etkileri olan, patojen mikroorganizmaların gelişimini inhibe eden, bağırsaktaki sindirime yardımcı, besin emilimini olumlu yönde etkileyen sindirilemeyen gıda ingradyentleridir. Sindirilmeyen karbonhidratlar, bazı peptitler ve lipidler bu grupta yer almakta olup sindirime uğramadan kalın bağırsağa geçen herhangi bir gıda maddesi potansiyel bir prebiyotik olarak kabul görmektedir (Figler et al., 2006; Stanton et al., 2005, Grajek et al., 2005; Manning et al., 2004).

Bunların arasında fruktooligosakkaritler (FOS), inülin, isomaltooligosakkaritler (IMO), polidekstroz, laktuloz ve dayanıklı nişasta başlıca prebiyotik bileşikler olarak düşünülmektedir. Soya oligosakkariti (SOS), galaktooligosakkaritler (GOS) ve xylooligosakkaritler (XOS), Japonya’da piyasaya sürülen başlıca oligosakkaritlerdir (Ouwehend , 2007; Siro et al., 2008).

Oligosakkaritler doygunluğun arttırılarak açlığın bastırılması ile obezitenin kontrolünde önemli rol oynarlar (Bosscher, 2007; Bosscher et al., 2006; Cani et al., 2005). Sindirilemeyen fermente edilebilir fruktanlardan olan inülin ve oligofruktoz, üzerinde en çok çalışılan ve iyi

bilinen prebiyotiklerdendir (Gibson, 2004). Prebiyotik olmalarının yanında bu bileşikler, kemik mineral yoğunluğunu ve içeriğini geliştirerek kalsiyum absorpsiyonunda artış sağlarlar (Bosscher et al., 2006). Ayrıca bunlar, kanda glikozun oluşumu, serum lipidleri ve kolesterol düzeyinin azalmasında da etkilidirler (Lopez-Molina et al., 2005). Prebiyotiklerle ilgili olarak üzerinde sıklıkla durulan fruktooligosakkaritler, sindirim enzimleri tarafından hidrolize edilemediğinden, kan şekeri ve insülin düzeylerini değiştirmemesi nedeniyle de diyabet hastaları için düşük kalorili tatlandırıcı olarak kullanılmaktadır. Fruktooligosakkaritler aynı zamanda kalsiyum, magnezyum ve demir gibi bazı gerekli minerallerin metabolik absorpsiyonunu güçlendirmektedir (Akalin ve ark., 2000).

Prebiyotiklerin insanlarda en yaygın görülen ikinci kanser türü olan kolon kanserinin gelişimine karşı koruyucu oldukları kabul edilmiştir ve ince bağırsakla karşılaştırıldığında kalın bağırsakta tümör oluşumunun 100 kat daha fazla olduğu görülmüştür (Manning et al., 2004). Bağırsakta fermentasyon sonucu kısa zincirli yağ asitlerinin oluşumunun kolon kanserini önlemede etkili olduğu aynı zamanda osmotik basıncı arttırdığı ve bağırsağın peristaltik hareketlerini düzenlediği düşünülmektedir. Ayrıca prebiyotiklerin fermentasyonları sonucu oluşan asetik, bütirik, propionik asit gibi kısa zincirli yağ asitleri ve oluşan laktik asit ile bağırsak pH'sının düşmesi, bifidojenik mikrofloranın gelişimi için ideal ortam sağlar. Yapılan in vitro çalışmaların sonuçlarına göre inülin ve oligofruktozun bifidojenik etki göstermesi için en az 4 g/gün tüketilmesi gerekmektedir. Bu şekilde faydalı bakterilerin bağırsakta

artışıyla birlikte, patojen mikroorganizmaların gelişimi de kısıtlanmış olur. Benzer şekilde amonyağı azot kaynağı olarak kullanan bifidobakter sayılarının ve aktivitesinin artmasıyla hem bağırsaktaki amonyak tüketilir hem de amonyak üreten bakterilerin (*Bacteroidaceae*) inaktivasyonu sağlanır. Yapılan son çalışmalar, inülin ve fruktooligosakkaritin tümör oluşturan enterik ve sistemik patojenlere karşı önleyici olduğunu göstermiştir (Roberfroid, 2000; Manning et al., 2004; Gilliland, 2001; Figler et al., 2006; Douglas and Sanders, 2008).

Yapılan bir çalışmada insanların günde 5 g fruktooligosakkarit tüketmesi durumunda dışkıda *Bifidobacteria* sayısında 1 log artış olduğu belirtilmiştir. Yine gönüllü insanlarla yapılan kontrollü bir besleme çalışmasında, günde 15 g fruktooligosakkarit tüketiminin *Clostridium* ve *Enterobacterium* sayılarını azaltırken fekal *Bifidobacterium* sayısını 10 misli arttırdığı gözlenmiştir (Macfarlane and Cummings, 1999).

Prebiyotikler fenol, kresol ve indol gibi putrefaktif maddelerin üretimini azalttığından bu maddeleri elimine eden karaciğerin yükü de hafifler. Ayrıca karaciğerde kolesterol sentezinde rol oynayan uçucu yağ asitlerinin oluşumu, kandaki toplam kolesterol ve trigliserit seviyelerini de düşürecektir (Grajek et al., 2005).

Lactobacillus acidophilus ve fruktooligosakkarit içeren ve içermeyen fermente süt ürünlerinin etkisinin sağlıklı bireylerde incelendiği bir çalışmada her iki bileşeni bünyesinde bulunduran fermente süt ürünlerini tüketen bireylerin tüketmeyen bireylere göre

toplam ve düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol düzeylerinde daha düşük değerlerin tespit edildiği bildirilmiştir (Kavas ve ark., 2007).

Prebiyotiklerin biyoyararlılığının yüksek olduğu ve dışkı hacmini ve fermentasyon sonucunda oluşan laktik asit ve süksinik asit gibi organik asitlerin, minerallerin çözünürlüğünü arttırdığı da bilinmektedir. Bebekler, yaşlılar ve hastalar bağırsak mikroflorasındaki değişikliklere karşı daha hassas olduklarından bu gruplarda prebiyotiklerin kullanımı ayrıca önem arz etmektedir (Douglas and Sanders, 2008).

Prebiyotikler; probiyotik ve starterlerin her ikisinin metabolit ve gelişimlerini etkileyerek probiyotik bakterilerin canlılığını ve gelişimini arttırdığından ve probiyotik ve prebiyotikler arasındaki mevcut sinerjiden dolayı bu ingradyenlerin kombinasyonunu içeren gıdalara sinbiyotik adı verilmiştir ve sinbiyotikler fonksiyonel gıda bileşenlerinin geliştirilmesinde gelecek vaat eden konulardan biridir. Sonuç olarak probiyotiğin fermentasyonda kullanacağı prebiyotik mevcut bulunduğundan gelişimi kolaylaşır ve aktivitesi artar. Sinbiyotiğin göstereceği etki tek başına probiyotik ve prebiyotiğin göstereceği etkiden büyüktür (Douglas and Sanders, 2008; Gibson ve Roberfroid, 1995; Siro et al., 2008).

Bazı araştırmacılar prebiyotiklerin probiyotiklere göre sağlık üzerindeki olumlu etkilerinin ve gıda uygulamalarında kullanılabilirliklerinin daha fazla olduğunu savunmaktadırlar. 2003 yılında yapılmış bir pazar araştırmasına göre, Avrupa'daki duruma bakıldığında prebiyotiklerin uygulama alanı olarak süt ve ürünleri % 62

oranla başı çekmektedir. Avrupa’da prebiyotik ürünler pazarının 87 milyon euro olduğu ve 2010 yılında 197,7 milyon euroya ulaşacağı, dünyadaki prebiyotik talebinin, 167 bin ton ve 390 million euro civarında olduğu tahmin edilmektedir (Siro et al., 2008; Douglas and Sanders, 2008).

Prebiyotik özellikteki fruktooligosakkaritler, sağlık açısından faydalı gıda bileşenleri olmalarının yanı sıra pek çok üründe kullanılmalarına olanak sağlayan fizikokimyasal karakteristiklere de sahiptirler. Örneğin asidik koşullarda ve yüksek sıcaklıklarda stabil olmaları proses sırasında yapılarının bozulmasını engellemektedir. Isıl işleme dayanıklı olmaları nedeniyle prebiyotiklerin probiyotiklere göre daha avantajlı olduğu da çalışmalarda vurgulanmaktadır. Probiyotik mikroorganizmaları da içeren fermente süt ürünleri prebiyotiklerin kullanımları için uygundur ve eklendiğinde oldukça iyi sonuçlar alınmaktadır (Gilliand, 2001; Manning et al., 2004; Wszolek et al., 2006).

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Süt ve Süttozu

Araştırmada kullanılan inek sütü ile kültür aktivasyonu ve analizlerde kullanılan yağsız süttozu Pınar Süt Mamulleri Sanayi A.Ş.'den (Pınarbaşı, İzmir) temin edilmiştir.

3.1.2. Prebiyotik

Oligofruktoz (Fibrulose 97) Fruktooligosakkaritleri Cosucra (Cosucra S.A., B-7643 Fontenoy, Belçika)'dan temin edilmiştir.

3.1.3. Kültür

Araştırmada Maysa Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş.'den (Kozyatağı, İstanbul) dondurularak kurutulmuş formda temin edilen ZN-05 / Danisco / A-062 Kefir DC 1 (Danisco Biolacta Sp. zo.o.ul. Tuwima 1A; 10-747 olsztyn - Poland) kefir starter kültürü kullanılmıştır.

3.1.4. Kefir Tanesi

Araştırmada kullanılan kefir taneleri, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknoloji Bölümü Pilot Süt İşletmesi'nden temin edilmiştir.

3.1.5. Test Mikroorganizmaları

Araştırmada antimikrobiyal aktivite testinde kullanılan (*Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aureginosa*) test mikroorganizmaları, Tarım İl Müdürlüğü Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilmiştir.

3.1.6. Etanol Analiz Kiti

Alkol tayininde kullanılan Biyozim Biyokimyasal Analiz Kitleri, BİASİS Biyoteknolojik Analiz Sistemleri Laboratuvar Malzemeleri Enerji Sanayi Tic. Ltd. Şti.(Beytepe, Ankara)’nden temin edilmiştir.

3.1.7. Ambalaj Materyali

Kefir içeceklerinin ambalajlanmasında, Plaş Plastik A.Ş.’den temin edilen 1 L hacimli HDPE (40 g ağırlıklı - yüksek yoğunluklu polietilen) plastik şişeler kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Kefir Tanesinin Aktive Edilmesi

Taneler, bulaşma kaynaklarının gelişmesini inhibe etmek amacıyla % 0,1’lik H_2O_2 ’de 15-30 dakika süreyle bekletilmiş ve saf suyla iyice yıkanıp süzildükten sonra kullanılmıştır. Taneler, kefir üretiminde

kullanılmadan önce 3 kere süte aşılınmış (25 °C’de pH 4,7’e kadar) ve böylelikle taneler aktive edilmiştir.

3.2.2. Kefir Kültürünün Aktive Edilmesi

Dondurularak kurutulmuş formdaki kültürler, yağsız süttozu kullanarak % 12 kurumaddeli hazırlanan ve 110°C’de 15 dakika sterilize edilen süte aseptik şartlar altında % 3 olacak şekilde aşılınarak pH 4,7’ye kadar inkübasyona bırakılmış ve bu şekilde hazırlanan ana kültürden, ara kültür ve işletme kültürü hazırlanarak kefir üretimi gerçekleştirilmiştir.

3.2.3. Test Mikroorganizmalarının Aktive Edilmesi

Test mikroorganizmaları (*Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa*) antimikrobiyal aktivite testinde kullanılmadan önce 37°C’de 24 saat nutrient brothta (Merck 1.05443) geliştirilerek aktifleşmesi sağlanmıştır.

3.2.4. Kefir Üretimi

Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü Pilot Tesisinde, 10 litrelik plastik kavanozlarda, **K** (kültürle üretilen kefir içeceği), **FK** (fruktooligosakkarit ilaveli süttten kültürle üretilen kefir içeceği), **T** (tane ile üretilen kefir içeceği), **FT** (fruktooligosakkarit ilaveli süttten tane ile üretilen kefir içeceği) olacak şekilde 4 farklı kefir üretimi yapılmıştır. Bu amaçla Pınar Süt Mamulleri A.Ş.’den temin edilen yağlı

homojenize UHT inek sütleri hammadde olarak kullanılmıştır. Sütler başlangıçta oligofruktozsuz(A) ve oligofruktozlu(B) olarak 2 eşit kısma ayrılmış ve oligofruktozlu olacak kefirin sütlerine % 2 oranında oligofruktoz ilave edilmiştir (Oligofruktozlar bir miktar süte katılıp 90⁰C'de 5 dakika ısıt işleminden geçirildikten sonra geri kalan süte ilave edilip üretim gerçekleştirilmiştir). Daha sonra 25⁰C'ye getirilen A ve B sütleri kendi aralarında taneli ve kültürlü kefir üretimi için yeniden sınıflandırılmıştır. Her bir gruba sırasıyla % 3 kefir tanesi ve % 3 kefir kültürü ilave edilerek, sütler 25⁰C'de inkübasyona bırakılmış ve fermentasyona pH 4,7'de (K örneğinin 13 saat sonunda, FK örneğinin 14 saat sonunda, T örneğinin 17 saat sonunda, FT örneğinin ise 19 saat sonunda, pH 4,7'e geldiği grlmştır) son verilmiştir. Tane ile inoküle edilen sütler, 8-10⁰C'de yaklaşık 15 saat olgunlaştırıldıktan sonra tanelerinden arındırılmış ve 1 L'lik plastik şişelere doldurulup soğuk hava deposunda 4±1⁰C'de 30 gün boyunca depolanmıştır. Kültürle inoküle edilen sütler fermentasyon ve olgunlaştırma işleminden hemen sonra şişelenerek aynı koşullarda depolama işlemine tabii tutulmuştur (Resim 3.1.; 3.2.; 3.3.).

Olgunlaşmanın 1., 10., 20., ve 30. günlerinde oligofruktozlu ve oligofruktozsuz sütten tane ve kültürle üretilen K, FK, T ve FT kefir örneklerinde fiziksel, biyokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuusal analizler yapılmıştır. Denemelerde tekerrür sayısı 3 olarak belirlenmiştir.



Resim 3.1. Kültür ile Kefir retimi



Resim 3.2. Fruktooligosakkarit ilaveli Sütten Kültür ile Kefir retimi



Resim 3.3. Sütten ve Fruktooligosakkarit İlaveli Sütten Tane ile Kefir Üretimi

3.2.5. Analiz Metotları

3.2.5.1. Kefire İşlenecek Süte Uygulanan Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Analizler

Kefire işlenecek sütte kurumadde, yağ, kül, değerlerinin tespiti TS 1018'e göre (Anonymous, 1981), protein miktarı ise TS EN ISO 8968-1 (Anonymous, 2002) Kjeldahl Yöntemiyle, laktoz tayini polarimetre ile yapılmıştır. Sütün pH değeri Hanna Instruments, 211 Microprocessor, Portugal, pH - metre ile tespit edilmiştir. Kefire işlenecek sütte bakteri sayıları TS 1192 (Anonymous, 2001) e göre yapılmıştır.

3.2.5.2. Kefir Tanesinde Ağırlık Artışı

Kefir üretimi için süte katılmadan önce oda sıcaklığında 1-2 saat dinlendirilip sonra tartılmış kefir taneleri ile kefir oluşumu için süte

katılan, inkübasyondan sonra geri alınıp yıkanan ve oda sıcaklığında 1-2 saat dinlendirilen aynı kefir tanelerinin üretimden önceki ve sonraki ağırlıkları arasındaki fark hesaplanmıştır (Garrote et al., 1997).

3.2.5.3. Kefire Uygulanan Fiziksel Analizler

Serum ayrılması (Yöney,1973)'e göre ve viskozite belirlenmesi ise rotational viscometer (NDJ-1 model) ile yapılmıştır (Resim 3.4.).

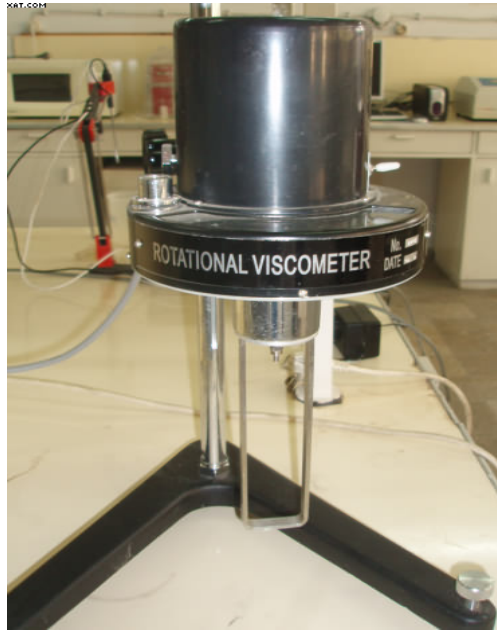
3.2.5.4. Kefire Uygulanan Biyokimyasal Analizler

Toplam Kurumadde, AOAC, 1998'e göre, yağ gerber metoduna göre (Oysun, 1996), asitlik Soxhlet-Henkel titrasyon yöntemiyle (Oysun, 1996), laktoz tayini iyodimetri (titrasyon) yöntemiyle (Oysun, 1996), pH Hanna Instruments, Microprocessor, Portugal, pH-meter ile, toplam azotlu maddeler Kjeldahl metoduna göre belirlenmiştir. TS EN ISO 8968-1 (Anonymous, 2002) ile bulunan % azot 6,38 faktörü ile çarpılarak örnekteki % protein miktarı hesaplanmıştır.

3.2.5.4.1. Proteolitik (Tirozin Değeri) Aktivite

Olgunlaşma derecesinin bir diğer ifadesi olan tirozin değerinin belirlenmesinde Hull metodu kullanılmıştır. Yöntemin esası, Folin's reagenti kullanımıyla TCA'da eriyebilir N'un belirlenmesi olup, karakteristik mavi rengin absorbansının 650 nm'de ölçülmesi ve sonuçların standart eğriye uygun olarak mg tirozin/ ml olarak ifade edilmesidir. Bu amaçla homojen hale getirilmiş kefir örneğinden 1 gram

alınarak cam tüp içerisine konmuştur.  zerine 4 ml. saf su ve 10ml 0,72 N triklorasetik asit (TCA)  z ltisinden ilave edilmiş ve tüpler çalkalandıktan sonra karanlıkta 10 dakika dinlendirilmiştir. Whatman 42 filtre kağıdından (Whatman International Ltd., Maidstone, England) süzülerek buradan ayrılan 5 ml süzüntüye 10 ml Na_2CO_3 + $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  z ltisinden (75 g Na_2CO_3 ve 10 g $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, 500 ml'ye tamamlanmıştır) eklenmiş ve iyice karışmaları sağlanmıştır. Bu karışım üzerine 3 ml folin  z ltisinden (1 kısım folin ve 2 kısım saf su karışımı) katılarak 4500 devir / 20 dakika santrifüj edilmiş ve berrak kısımdan örnek alınarak 650 nm dalga boyunda spektrofotometrik (SPEKOL 1300 analytic jena)  l  m yapılmıştır. Uygun aralıklarda tirozin standartları hazırlanarak regresyon denklemi yardımıyla tirozin miktarları hesaplanmıştır (Yüksekdağ, 2004a).



Resim 3.4. Viskozite Tayininde Kullanılan Rotational Viskozimetre

3.2.5.5. Aroma Maddeleri Tayini

3.2.5.5.1. Asetaldehit Tayini

10 g kefir örneği 50 ml'lik balonjoje içerisine tartılıp üzerine 20ml saf su ilave edilerek iyice karıştırılmıştır. Üzerine 1 ml çinko sülfat (%5'lik $ZnSO_4$) ve 4 ml baryum hidroksit (0,3 M BaOH) çözeltisi ilave edilmiştir. Karışım 50 ml'ye tamamlanıp 3000 devirde 5 dakika santrifüj edildikten sonra bu süzüntüden 2,5 ml alınıp üzerine 5 ml saf su, 1 ml magenta çözeltisi (% 0,04 lük bazik fuksin, % 2'lik H_2SO_4 'te hazırlanmıştır) ve 1 ml civa klorür- sodyum sülfid çözeltisinden (% 2,72'lik $HgCl_2$ ve % 1,17'lik NaCl'ün bire bir karışımları) ekleyip 25 dakika karanlıkta bekletilmiş ve 560 nm dalga boyunda spektrofotometrede okuma yapılmıştır (Robinson et al., 1977).

3.2.5.5.2. Diasetil Tayini

40 ml kefir örneği 4500 devirde 20 dakika santrifüjlenmiş ve üstteki berrak kısımdan 1 ml alınarak 4 ml proteini çöktürülmüş %10'luk yağsız süt çözeltisi (% 10'luk yağsız süttozundan hazırlanan süte 1 ml asetik asit ilave edilip iyice karıştırılmış ve santrifüjlendikten sonra serum kısmı kullanılmıştır) ilave edilmiştir. Çözelti iyice karıştırılıp 1 ml keratin (% 0,25'lik) ve 1 ml α – naftol (1 g α – naftol 20 ml 2,5 N NaOH'ta hazırlanacaktır) ilave edildikten sonra 1 saat oda sıcaklığında bekletilip 530 nm'de spektrofotometrede okuma yapılmıştır (Cogan, 1972).

3.2.5.5.3. Alkol Tayini

Analize başlamadan önce kefir örneğinden 100 ml'lik kapaklı cam kavanoz içine 10 g alınıp üzerine 50 ml saf su ilave edilmiştir. Şişenin kapağı kapatılıp yaklaşık 60⁰C'de 30 dakika süreyle karıştırılmış ve sonrasında soğuması sağlanmıştır. Karışım, 100 ml'lik balonjoje içerisine transfer edilip son hacim 100 ml'ye saf suyla tamamlanmıştır. Whatman No:1 filtre kağıdıyla filtre edilip, filtratta etanol tayini yapılmıştır. Okumalar, 722 Grating Spectrophotometer Analytical Instruments Factory Shanghai'da yapılmıştır. Analizin yapılış aşamaları Çizelge 3.1.'de özetlenmiştir.

Çizelge 3.1. Kefirde Alkol Tayini

	KÖR	ÖRNEK
Örnek veya standart	---	0,10 ml
Saf su	1,90 ml	1,80 ml
Etanol analiz tamponu	0,40 ml	0,40 ml
Etanol analiz reaktifi-III	0,20 ml	0,20 ml
Etanol analiz reaktifi-II	0,02 ml	0,02 ml
Karıştırıp 2 dakika oda sıcaklığında inkübe ettikten sonra çözeltinin absorbansı(A1) 340 nm'de okunmuştur.		
Etanol analiz reaktifi-I	0,02 ml	0,02 ml
Karıştırıp 5 dakika oda sıcaklığında inkübe ettikten sonra çözeltinin absorbansı(A2) 340 nm'de okunmuştur.		

Kör ve örnek için ayrı ayrı absorbans farkları (A_2-A_1) hesaplanmıştır. Örneğin absorbans farkından körün absorbans farkını çıkartarak ΔA değeri hesaplanmıştır.

Örneğin etanol derişimi (g/L) = $\frac{V * MA * \Delta A}{\epsilon * d * v * 2}$ olarak hesaplanmıştır.

V : analiz toplam hacmi (2,5 ml)

MA : etanolün molekül ağırlığı (46,07 g/gmol)

ϵ : : NADH'in uyarım katsayısı (6300)

d : ışık yolu (1 cm)

v : örnek miktarı (0,10 ml)

2 : 1 mol etanolün reaksiyonu sonucu oluşan NADH'in mol sayısı yada kısaca

Örneğin etanol derişimi (g/L) = $0,09287 * \Delta A$

Örneğin etanol derişimi (%h/h) = $0,01176 * \Delta A$ formülüyle hesaplanabilmektedir (Anonymous, 1995).



Resim 3.5. Aroma Maddeleri, Alkol ve Tirozin Tayininde Kullanılan Spektrofotometreler

3.2.5.6. Organik Asit Tayini

Üretilen kefir örneklerinde organik asit tayini, Akalın ve ark.(1998) ile Kınık ve ark. (1998) tarafından belirtilen yöntem esas alınarak yapılmıştır (Akalın ve ark., 1998; Kınık ve ark., 1998).

Depolanan kefir örneklerindeki organik asitlerin ekstraksiyonu için 7 g örneğe 30 ml taşıyıcı faz ilave edilmiş ve iyice karıştırılarak 1 saat bekletildikten sonra 6000 devirde 5 dakika santrifüj edilmiştir. Üste kalan berrak kısım Whatman No:1 filtre kağıdından süzölmüş ve 0.45 µm'lık membran filtreden geçirilerek HPLC aletine enjekte edilmiştir (Akalın ve ark., 1998; Kınık ve ark., 1998).

3.2.5.7. Kefire Uygulanan Mikrobiyolojik Analizler

Kefir tanesi ve ieeğinde ayrı ayrı laktobasil, laktokok, leukonostok, asetik asit bakterileri ve maya sayımı yapılmıştır. Tanede sayım için; 10g kefir tanesi 90 ml ringer çözeltisi içinde stomacher'da 5 dakika parçalandıktan sonra uygun dilisyonlar hazırlanıp dökme plak yöntemine göre ekim yapılmıştır.

Laktobasillerin sayımı için; MRS (Merck 1.10660) agar kullanılmıştır (32⁰C'de / 48 saat – anaerobik olarak).

Anaerobik ortam için petri kutuları 2,5 L hacimli anaerobik jarlar (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) içerisinde inkübasyona bırakılmıştır. Anaerobik ortam Anaerocult® A (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) marka anaerobik kitler ile sağlanmışır. Kitler üretici firmanın önerdiği şekilde kullanılmışır.

Laktokokların sayımı için; M17 (Merck 1.15108) agar kullanılmışır (30⁰C'de / 48 saat).

İnkübasyon sonunda petri kutularında koloni oluşturan birim sayılmışır (Seydim, 2001).

Leukonostokların sayımı için; Ek1 ve Ek 2'deki besiyeri kullanılmışır (35⁰C'de / 72 saat) (Gürsoy, 2005).

Asetik Asit Bakterileri Sayımı için; Ek 3'teki besiyeri kullanılmıştır (32⁰C'de / 72 saat) (Irigoyen et al., 2005).

Maya sayımı için; YGC (Yeast Extract Glucose Chloramphenicol) (Merck 1.16000) agar kullanılmıştır (30⁰C'de / 48 saat).

3.2.5.7.1. Antimikrobiyal Aktivite

Agar disk difüzyon metoduyla belirlenmiştir (Yüksekdağ, 2004a).

Test mikroorganizmalarının (*Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa*) Nutrient Broth besiyerinde 37⁰C'de 24 saatlik taze kültürleri hazırlanmış ve buradan Nutrient Agar'a ekim yapılarak toplam sayısı tespit edilmiştir. Sayım sonucuna göre test mikroorganizma sayısı ml'de 10⁴-10⁵ olacak şekilde Nutrient Agar besiyerine (sıcaklığının 42-43 ⁰C'de olmasına dikkat edilmiştir) ilave edilmiş ve steril petri kutularına tam 20 ml olacak şekilde dökülmüştür. Petri kutuları donduktan sonra üzerine direk kefire daldırarak inoküle ettiğimiz diskler (filtre kağıdından 6 mm çaplı olarak hazırlanmıştır) yerleştirilmiştir. 37 ⁰C'de 24 saatlik inkübasyondan sonra disk etrafında oluşan zon çapları ölçülmüştür.

3.2.5.8. Duyusal Değerlendirme

Kefir örnekleri tat-aroma, kıvam ve genel olarak 3 kategoride duyusal olarak değerlendirilmiş olup her bir örneğe 1 ile 9 arasında değer verilmiştir. Puanlandırmada 1=çok çok kötü, 5=ne iyi ne kötü, 9=çok çok iyiye eşittir (Bodyfelt et al., 1988).

Çizelge 3.2. Kefirde Duyusal Değerlendirme Skalası

1.Tat-Aroma	1 	2 	3 	4 	5	6 	7 	8 	9 
2.Kıvam	1 	2 	3 	4 	5	6 	7 	8 	9 
3.Genel	1 	2 	3 	4 	5	6 	7 	8 	9 

3.2.5.9. İstatistiksel Analiz Yöntemleri

Araştırma dört farklı uygulama (K, FK, T, FT kefirleri) ve üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Kefirlerin fiziksel, biyokimyasal, duyusal ve mikrobiyolojik sayım sonuçlarına kefirde kullanılan tane-kültür- fruktooligosakkarit ilavesi farklılıklarının ve depolama süresinin

etkilerini belirlemek amacıyla varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Bu amaçla SAS, 1989 istatistik analiz paket programı kullanılmıştır. ANOVA sonucunda önemli olan veriler Duncan çoklu karşılaştırma testine göre $P<0.01$ ve $P<0.05$ düzeyinde test edilmiştir.

Çalışmamızda mikroorganizma sayım sonuçları, karekök transformasyonu uygulanarak verilmiştir (Kocabaş ve ark., 1998).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1.Kefir Üretiminde Kullanılan Sütün Bileşimi

Tüm süt ürünlerinde olduğu gibi kefirde de hammadde olarak kullanılan sütün fiziksel ve kimyasal özellikleri kefir kalitesi ile yakından ilişkilidir. Bu amaçla araştırmada kullanılan sütün bileşimi belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Kefir Üretiminde Kullanılan Sütün Özellikleri

Özellik	Ortalama Değer ±Standart Sapma (n=3)
Kurumadde (%)	11.18±0.26
Yağ (%)	2.8±0.00
Laktoz (%)	3.5±0.18
Protein (%)	3.5±0.22
Kül (%)	0.89±0.32
Asitlik (%laktik asit)	0.17±0.01
pH	6.65±0.04

Kefir üretiminde kullanılan sütün ortalama kurumadde değeri % 11.18, yağ oranı % 2.8, protein oranı % 3.5, laktoz oranı % 3.5 ve kül oranı % 0.89 olarak bulunmuştur. pH değerleri ortalama 6.65 olarak belirlenmiş, titrasyon asitliği % laktik asit cinsinden % 0.17 olarak tespit edilmiştir.

Konu ile ilgili Resmi Gazete’de yayınlanan 14.02.2000 tarih ve 23964 nolu Türk Gıda Kodeksi –Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği’nde ve 06.02.2009 tarih ve 27133 nolu Türk Gıda Kodeksi –Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği’nde Değişiklik Yapılması Hakkındaki Tebliğ’e göre çiğ inek sütünün protein oranının en az % 2.8, süt asidinin % 0.135-0.20, yoğunluğun en az 1.028 olması gerektiği bildirilmiştir (Anonymous 2000a; 2000b). Elde edilen verileri tebliğde bildirilen değerlerle karşılaştırdığımızda üretimde kullanılan sütün protein ve titrasyon asitliğinin ilgili tebliğe uygun olduğu görülmektedir.

4.2. Kefir Üretiminde Kullanılan Kefir Kültürü ve Tanesinin Özellikleri

Kefir üretiminde kullanılan kefir tanesi ve kefir kültürünün mikrobiyolojik özellikleri standart ürün üretimi ve tüketici kabulü açısından önem taşımaktadır. Kefir tanelerinin mikroflorası ve bunların birbirlerine oranı; tanenin orijinine, depolama koşullarına, işlenmesine bağlı olarak değiştiğinden, literatürlerde tanelerdeki mikroorganizma türü konusunda, farklı bildirişler mevcuttur. Yapılan çalışmalarda kefir tanelerinde genel olarak bulunan mikroorganizmalar; laktik asit

bakterileri, asetik asit bakterileri, streptokoklar ve mayalardır (Abraham and Antoni, 1999; Garrote et al., 2001; Rea et al., 1996). Bu amaçla araştırmada kullanılan kefir kültürü ve tanesinin mikrobiyolojik özellikleri belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.2. ve 4.3.'te verilmiştir.

4.2.1. Kefir Kültürünün Özellikleri

Çizelge 4.2. Kefir Kültürünün Mikrobiyolojik Özellikleri

Özellik	Ortalama Değer (n=3)
Laktobasil sayısı (kob/ml)	$2,2 \times 10^9$
Laktokok sayısı (kob/ml)	$1,5 \times 10^{10}$
Leukonostok sayısı (kob/ml)	$9,4 \times 10^8$
Asetik Asit Bakterileri (kob/ml)	$1,5 \times 10^7$
Maya-Küf sayısı (kob/ml)	-

Çizelge 4.2.'de de görüldüğü gibi kefir üretiminde kullanılan kefir kültüründe laktobasil sayıları $2,2 \times 10^9$ kob/ml, laktokok sayıları $1,5 \times 10^{10}$ kob/ml, leukonostok sayıları $9,4 \times 10^8$ kob/ml ve asetik asit bakterileri sayısı ise $1,5 \times 10^7$ kob/ml şeklinde bulunmuştur ve kefir kültüründe herhangi bir maya gelişimine rastlanmamıştır.

4.2.2. Kefir Tanesinin Özellikleri

Çizelge 4.3. Kefir Tanesinin Mikrobiyolojik Özellikleri

Özellik	Ortalama Değer (n=3)
Laktobasil sayısı (kob/g)	$1,3 \times 10^8$
Laktokok sayısı (kob/g)	$2,1 \times 10^7$
Leukonostok sayısı (kob/g)	$1,7 \times 10^8$
Asetik Asit Bakterileri (kob/g)	$1,9 \times 10^9$
Maya-Küf sayısı (kob/g)	$9,3 \times 10^6$

Kefir üretiminde kullanılan kefir tanesinde laktobasil sayılarının $1,3 \times 10^8$ kob/g, laktokok sayılarının $2,1 \times 10^7$ kob/g, leukonostok sayılarının $1,7 \times 10^8$ kob/g ve asetik asit bakterileri sayısının ise $1,9 \times 10^9$ kob/g olarak bulunduğu ilgili çizelgede görülmektedir. Kefir tanesinde maya gelişimi $9,3 \times 10^6$ kob/g olarak bulunmuştur.

Bottazzi et al. (1994) ve Rea et al. (1996)'nın yaptıkları çalışmalarda kefir tanesindeki laktokok sayıları 10^6 kob/g, laktobasil sayıları 10^6 - 10^9 kob/g, maya sayıları 10^6 - 10^8 kob/g, leukonostok sayıları 10^6 kob/g olarak bildirilmiştir. Kefir kültüründeki sayıları ise sırasıyla 10^8 - 10^9 kob/ml, 10^2 - 10^5 kob/ml, 10^5 - 10^6 kob/ml ve 10^7 - 10^8 kob/ml olarak tespit edilmiştir.

Witthuhn et. al. (2004); Güney Afrika'nın 8 farklı bölgesinden elde ettikleri kefir tanelerinin yapısını incelemişler ve bakteri türlerinin sayısının $6,4 \times 10^4$ ile $8,5 \times 10^8$, mayaların sayısının $1,5 \times 10^5$ ile $3,7 \times 10^8$ arasında dağılım gösterdiğini bildirmişlerdir. Tanelerin laktobasil, laktokok leukonostok ve mayaları içerdiği belirlenmiş, asetik asit bakterilerinin tespit edilemediği ifade edilmiştir.

Ergüllü ve Üçüncü (1983); Türkiye'nin 7 farklı bölgesinden aldıkları kefir tanelerinin mikroflorasını araştırmışlardır. Çalışmalarında kullandıkları 7 farklı tanedeki toplam mikroorganizma sayısı $2,6 \times 10^6$ – 26×10^8 arasında değişmiştir. Tanede özellikle laktozu fermente eden ve laktozdan alkol ve CO_2 oluşturan türlerin floraya egemen olduğu görülmüştür. Sonuç olarak tanelerdeki mikroorganizmaların hem sayısal hem de oransal olarak çok büyük farklılıklar gösterdiğini belirtmişlerdir.

Taneden, taneden elde edilen süzüntüden ve kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin asetik asit bakterileri sayıları sırasıyla 25×10^1 - 1×10^5 adet/ml, $2,5 \times 10^4$ - 6×10^5 adet/ml, 2×10^5 - 6×10^7 adet/ml olarak bulunmuştur. Yine tanede ve bu taneden üretilen kefir içeceğinde maya sayıları incelendiğinde tanedeki maya sayısının (10^6), kefir içeceğindeki maya sayısından (10^9) az olduğu görülmüştür (Karagözlü, 1990). Simova et al. (2002); kefir tanelerinden ve taneyle fermente olan kefirde inokülasyonla olacak şekilde 2 farklı kefir üretimi gerçekleştirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada tanenin %83-90'ının laktik asit bakterileri, %10-17'sinin maya olduğunu saptamışlardır. Danimarka'da yapılan bir araştırmada ise kefir tanesinden izole edilen

mikroorganizmaların %70'ini streptokokların, %25'ini laktobasillerin ve % 5'ini mayaların oluşturduğu ifade edilmektedir (Karagözlü, 1990).

Yukarıda özetlenen çalışmalardan da görüldüğü gibi gerek kefir tanesi, gerek kefir kültüründeki bakteri sayılarının çalışmamızda elde edilen verilere benzer sonuçlar vermesine karşın bakteri türleri dağılımı incelendiğinde bakteri tiplerinin sayılarının farklı bir dağılım gösterdiği saptanmıştır. Çalışmamızda yararlanılan tane ve kültürlerin yapısında saptanan bu farklılıkların nedeni kefir tanelerinin mikroflorası ve bunların birbirlerine oranının, tanenin orijinine, depolama koşullarına, işlenmesine bağlı olarak değişmesidir.

4.2.2.1. Kefir Tanesinde Ağırlık Artışı

Kefir üretimi için süte katılmadan önce oda sıcaklığında 1-2 saat dinlendirilip sonra tartılmış kefir taneleri ile kefir oluşumu için süte katılan, inkübasyondan sonra geri alınıp yıkanan ve oda sıcaklığında 1-2 saat dinlendirilen aynı kefir tanelerinin üretimden önceki ve sonraki ağırlıkları Çizelge 4.4.'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Kefir Tanesinde İnokülasyondan Önce ve Sonra Ağırlık Artışı

Ağırlık Değişimi	1. Tekerrür (g)	2. Tekerrür (g)	3. Tekerrür (g)	Ortalama (g)
İnokülasyondan Önce(Sütte)	210	210	210	210
İnokülasyondan Sonra (Sütte)	225.25	227.12	232.30	228.22
İnokülasyondan Önce(FOS'lu Sütte)	210	210	210	210
İnokülasyondan Sonra(FOS'lu Sütte)	256.62	260.74	261.48	259.61

Schoevers ve Britz (2003); az yağlı süt ile yağlı süttten sadece süt, süt + tripton (20 g/L) , süt + maya ekstraktı (20 g/L), süt + tripton + maya ekstraktı ilaveli olacak şekilde 18, 22, 25 ve 30 °C’de karıştırmalı ve karıştırmaz olarak gerçekleştirdikleri 4 farklı kefir üretiminde biomas artışını gözlemlemişlerdir. En yüksek tane artışını % 582 ile 25°C’de çalkalamalı üretimle tripton ilaveli az yağlı süttün sağladığı görölmüş, aynı koşullardaki tam yağlı sütte ise % 522’lik bir artış söz konusu olmuştur. Çalkalamasız üretimdeki biomas artışının az yağlı ve yağlı sütte sırasıyla % 175 ve % 173 oranında olduğu tespit edilmiştir.

Garrote et al. (1997); denemelerini, +4 °C’de ve -20 ile -80 °C’de dondurularak saklanan tanelerde gerçekleştirmişlerdir. -20 ve -80 °C’de saklanan taneler, +4 °C’de saklanan tanelerle karşılaştırıldığında, -20 ve -80 °C’de saklanan tanelerde ağırlık artışının olduğu, +4°C’de depolananlarda herhangi bir ağırlık artışı sağlanmadığı ifade edilmiştir.

Çalışmamızda oligofruktozlu ve oligofruktozsuz süte tane ilavesiyle gerçekleşen üretimlerde tanedeki ağırlık artışını değerlendirecek olursak süte katılan tanedeki ağırlık artışı % 109 iken fruktooligosakkaritli süte aşıl原因 tanedeki ağırlık artışının % 124 olduğu görölmüştür.

4.3.Kefirlerin Fiziksel Özellikleri

Kefir kültürü ve kefir tanesinin oligofruktoz ilaveli ve ilavesiz süte katılmasıyla elde edilen kefir içeceklerinin bazı fiziksel özellikleri ile olgunlaşma süresince meydana gelen değişimler Çizelge 4.5.’te toplu olarak verilmiştir.

Çizelge 4.5. Kefirlerin Fiziksel Özellikleri

	Günler	K	FK	T	FT
Serum Ayrılması (ml)	1	0.00±0.00 ^{B*d}	1.67±2.58 ^{B*c}	15.50±0.84 ^{B*b}	17.00±1.09 ^{B*a}
	10	0.00±0.00 ^{AB*d}	2.17±3.49 ^{AB*c}	16.92±1.86 ^{AB*b}	18.17±1.47 ^{AB*a}
	20	0.00±0.00 ^{A*d}	3.33±5.16 ^{A*c}	18.00±1.55 ^{A*b}	19.50±0.84 ^{A*a}
	30	0.00±0.00 ^{A*d}	3.33±5.16 ^{A*c}	18.33±2.16 ^{A*b}	20.50±0.84 ^{A*a}
	Ortalama	0.00	2.63	17.19	18.80
Viskozite (cp)	1	486.67±24.01 ^{Bb}	520.83±30.40 ^{Da}	44.17±7.36 ^{Bd}	91.67±13.29 ^{Dc}
	10	515.00±38.99 ^{Cb}	549.17±34.27 ^{Ca}	48.33±2.58 ^{Cd}	150.00±30.82 ^{Cc}
	20	542.50±47.62 ^{Bb}	577.50±32.98 ^{Ba}	50.83±3.76 ^{Bd}	179.17±15.63 ^{Bc}
	30	566.67±37.24 ^{Ab}	604.17±41.76 ^{Aa}	60.00±0.00 ^{Ad}	219.17±24.58 ^{Ac}
	Ortalama	527.71	562.92	50.83	160.00

(1) A,B,C,D: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler P<0.01 ve P<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır.

(2) a, b, c, d : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler P<0.01 ve P<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır.

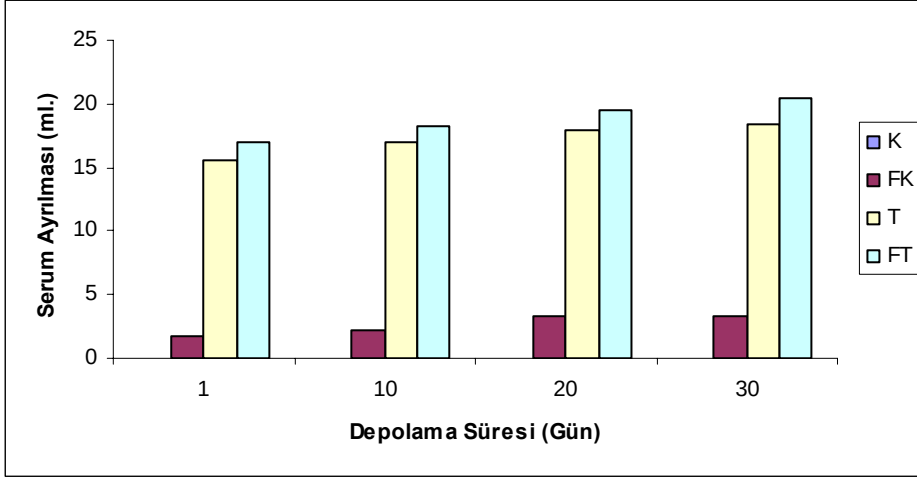
* : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler sadece P<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır.

4.3.1. Serum Ayrılması

Isı uygulaması ve asitlik gelişimi ile kolloidal stabilitesi bozulmuş olan süt proteinlerinin, içinde bulundukları serumun tabanına doğru (özellik ağırlık farkı ve yer çekimi kuvvetinin etkisiyle) çökmesi olarak tanımlanan serum ayrılması, fermente süt ürünlerinin stabilitesinin belirlenmesinde önemli bir parametre olarak karşımıza çıkmaktadır (Bodyfelt et al.,1988).

Kefir tanesi ve kefir kültürünün oligofruktoz ilaveli ve ilavesiz olarak süte katılmasıyla üretilen kefir içeceklerinin serum ayrılması

değerleri ve 30 günlük depolama süresince bu değerlerde meydana gelen değişimler Çizelge 4.5. ve Şekil 4.1.'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Kefirlerin Serum Ayrılması Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi

Araştırma verilerine göre yapılan istatistiksel değerlendirme, ürün çeşitleri arasındaki serum ayrılması farklarının ($P < 0.01$) düzeyinde önemli olduğunu göstermiştir. Yapılan varyans analizi ve Duncan testi 30 günlük olgunlaştırma periyodunun kefir içeceklerinin serum ayrılması parametresi üzerine ($P > 0.01$) düzeyinde önemli olmadığını ancak ($P < 0.05$) düzeyinde ise önem arz ettiğini göstermiştir.

Ürün çeşitleri açısından incelenecek olur ise 30 günlük olgunlaşma süresince sadece kültürle üretilen kefir içeceği ürünlerinde herhangi bir serum ayrılmasının görülmediği ve bunu fruktooligosakkarit ilave edilmiş süttten kültürle üretilen FK örneğinin 1.67 ml-3.33 ml aralığı gibi çok düşük oranda bir serum ayrılmasıyla takip ettiği görülmektedir. En yüksek serum ayrılması, fruktooligosakkarit ilaveli süte tane

inokülasyonu ile elde edilen kefir örneklerinde görülmüş olup en yüksek değerine 20.50 ml ile 30. depolama gününde ulaştığı saptanmıştır. Taneyle elde edilen ürünlerde kültürle elde edilen ürünlere oranla 13.83 ml ile 17.17 ml arasında değişen bir farkla serum ayrılmasında artış olduğu görülmektedir. $P < 0.05$ önem düzeyine göre günler bazında incelendiğinde ise ilk güne oranla serum ayrılmasının 20. ve 30. günlerde artış gösterdiği ve bu artışın birbiriyle benzer olduğu görülmektedir. Fruktooligosakkarit ilavesinin gerek taneyle gerekse kültürle üretilen kefirlerde serum artışına sebep olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.5).

Tonguç (2006); probiyotik ayran üretimiyle ilgili olarak yaptığı çalışmada, tam yağlı sütte elde ettiği ayranlarda 10 günlük depolama süresince herhangi bir serum ayrılması gözlemlenmezken yarım yağlı sütte elde ettiği probiyotik ayranlarda depolamanın sonunda tüm örneklerde % 2, % 10, % 10 ve % 6 oranlarında serum ayrılması gözlemiştir. Araştırmacı duyusal analizlerde de sıklıkla dile getirilen yüksek kurumadde oranı ve yüksek kültür aktivitesinin sonucu oluşan güçlü jel yapısının etkisiyle tam yağlı ayran örneklerinde yoğun kıvam ve viskoz yapı nedeniyle serum ayrılmasının olmadığını ifade etmiştir.

Araştırmacılar, ısıtma işleminin, proteinler üzerine yaptığı değişime paralel olarak serum ayrılmasını etkilediğine işaret etmektedir. Özellikle yoğurtlar üzerine yapılan araştırmalarda, ısıtma işlemi derecesi ve süresinin, serum proteinlerinin denatürasyon oranını ve β -laktoglobulin ile κ -kazein arasındaki interaksiyon oranını etkilediği ve hidrofilik özelliklerini artırarak serum ayrılmasının oranını azalttıkları belirlenmiştir (Özözlü, 2004).

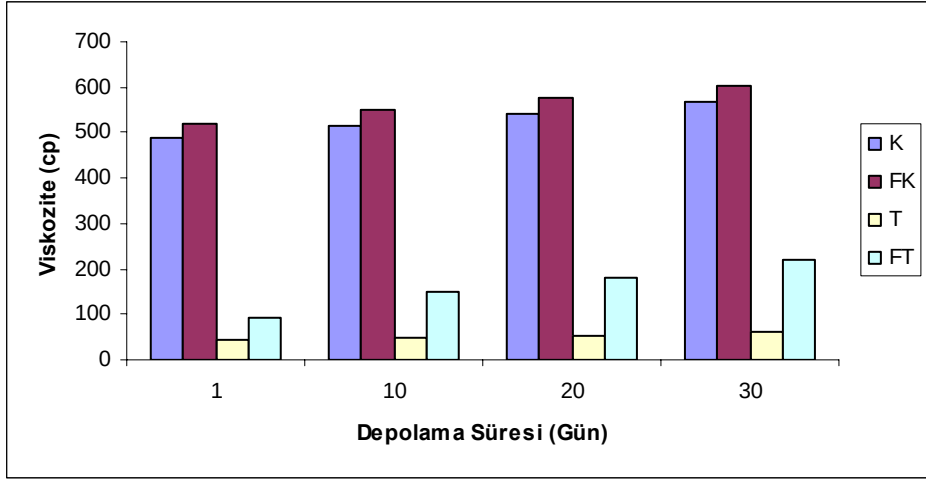
Özünlü (2004); ayran kalitesi üzerine bazı parametrelerle ilgili yaptığı çalışmada ayrana işlenecek süte 75°C , 85°C ve 95°C olmak üzere 3 farklı sıcaklık uygulamış ve bunlarda oluşan serum ayrılmalarını karşılaştırmıştır. En çok serum ayrılmasının 75°C 'de ısıtıl işlem görmüş üründe en az serum ayrılmasının ise 95°C 'de ısıtıl işlem görmüş üründe olduğunu tespit etmiştir.

Ersoy ve Uysal (2003); süttozu, peyniraltı suyu tozu ve yayıkaltı karışımları ile kefir üretimi gerçekleştirmişlerdir. Tane ve kültür olarak 2 farklı yöntemle ürettikleri kefirlerde her iki deneme grubunda da depolamanın her aşamasında en yüksek serum ayrılması değerleri peyniraltı suyundan elde edilen kefirde belirlenmiştir. Ürün çeşitleri ve depolama süresinin örneklerin serum ayrılması değerleri üzerine etkili iken tane yada kültür kullanımının etkisiz olduğu ifade edilmiştir.

4.3.2. Viskozite

Viskozite bir sıvının iç sürtünmesinin veya akışkanlığa karşı gösterdiği direncin bir ifadesidir. Birimi Pascal saniye (Pa.s) veya centipoise (cp)'dir. Esas olarak viskozite üzerinde önemli etkisi olan bileşen kazeindir. Sıcaklık, sütün emülsiyon ve kolloidal fazlarını etkileyerek viskoziteyi azaltır. Süt kurumaddesinin artması ve proteinin pıhtılaşması da viskoziteyi artırır.

Oligofruktoz ilaveli ve ilavesiz süte kefir tanesi ve kefir kültürünün inokülasyonu ile üretilen kefir içeceklerinin viskozite değerleri ve 30 günlük depolama süresince bu değerlerde meydana gelen değişimler Çizelge 4.5. ve Şekil 4.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Kefirlerin Viskozite Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi

Varyans analiz tablosu incelendiğinde, ürün çeşitleri arasındaki viskozite değerlerinin ve depolama süresi boyunca kefir içeceklerinde meydana gelen viskozite artışlarının ($P < 0.01$) düzeyinde önemli olduğu görülmektedir.

Taneyle elde edilen ve kültürle elde edilen kefir ürünleri açısından değerlendirme yapacak olur isek kültürle elde edilen ürünlerdeki ortalama viskozite değerinin (527.71-562.92), tane ile elde edilen ürünlerdeki ortalama viskozite değerine (50.83 -160.00) nazaran oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Kültürle ve taneyle gerçekleştirilen iki üretimde de fruktooligosakkarit kullanımının viskozite değerini arttırdığı görülmüştür. Şeker varlığında polisakkaritlerin su tutma özelliklerinin güçlenmesi ve oligofruktozların süt proteinleriyle olan potansiyel etkileşimi nedeniyle fruktooligosakkarit ilavesinin viskoziteyi arttırdığı düşünülmektedir.

Garrote et al. (1998); litreye 1, 10, 20, 50 ve 100g kefir tanesi kullanarak gerçekleştirdikleri üretimlerde mikrobiyal bileşimi, asitliği, viskozite ve CO₂ içeriğini incelemişlerdir. Litreye 10 g aşıl原因 kefirin, viskoz olması ve fazla asidik olmaması sebebiyle tercih edilebileceğini, litreye 100 g aşıl原因 kefirin ise daha CO₂'li, asitli ve düşük viskoziteli bir içecek olduğunu ifade etmişlerdir.

Irigoyen et al. (2005); % 1 ve % 5 oranında kefir tanesini süte aşıl原因 gerçekteştirdikleri üretimde depolama boyunca kefir içeceklerinde mikrobiyal, fizikokimyasal ve duysal özellikleri incelemişler ve % 5 tane ile aşıl原因 kefir örneklerinde % 1 aşıl原因 göre daha yüksek viskozite görüldüğünü bildirmişlerdir.

Ersoy ve Uysal (2003); süttozu, peyniraltı suyu tozu ve yayıkaltı karışımları ile kefir üretimi gerçekleştirmişlerdir. Tane ile üretilen kefirlerde depolamanın 1. gününde en yüksek viskozite süttozu ve süten yapılmış örneklerde en düşük viskozite ise peyniraltı suyu tozundan üretilen ürünlerde belirlenmiştir. Viskozitede belirlenen bu durumun depolama sonuna kadar benzer şekilde seyrettiği ifade edilmiştir.

Martin-Diana et al. (2004); yaptıkları çalışmalarında fermente süt üretiminde peynir suyu protein konsantresi ilavesini yağ ikame maddesi olarak kullanmışlardır. Çalışmada ürünün peynir suyu protein miktarının ve fermentasyon öncesi uygulanan ısıl işlem sırasındaki denatürasyonun protein bağlama kapasitesini arttırarak viskoziteyi önemli düzeyde etkilediği belirtilmiştir. Bunun yanında ürünün pH değeriinin viskoziteyi

etkilediği, daha düşük pH değerine sahip ürünlerin viskozite değerlerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Keçi sütünden üretilen probiyotik fermente sütler üzerinde diğer bir çalışmada da peynir suyu protein konsantresi ilavesinin ve ilave edilme oranının fermente sütlerin viskozite değerlerini önemli düzeyde arttırdığı bildirilmiştir (Martin-Diana et al., 2004).

4.4. Kefirlerin Biyokimyasal Özellikleri

4.4.1. Kefirlerin Bileşimi ve Kimyasal Özellikleri

Kefir kültürü ve tanesinin oligofruktozlu ve oligofruktozsuz süte katımıyla gerçekleştirilen kefir içeceklerinde bazı kimyasal özellikler ve olgunlaşma esnasında meydana gelen değişimler Çizelge 4.6.'da toplu olarak verilmiştir.

Çizelge 4.6. Kefirlerin Bileşimi ve Kimyasal Özellikleri

	Günler	K	FK	T	FT
Kurumadde (%)	1	10.23±0.29 ^{Bc}	11.76±0.34 ^{Ba}	10.32±0.18 ^{Bc}	11.58±0.14 ^{Bb}
	10	10.52±0.07 ^{Ac}	12.14±0.07 ^{Aa}	10.35±0.14 ^{Ac}	11.60±0.26 ^{Ab}
	20	10.44±0.12 ^{Ac}	12.10±0.13 ^{Aa}	10.32±0.13 ^{Ac}	11.57±0.30 ^{Ab}
	30	10.23±0.22 ^{Ac}	12.10±0.19 ^{Aa}	10.45±0.21 ^{Ac}	11.75±0.30 ^{Ab}
	Ortalama	10.36	12.03	10.36	11.63
Yağ (%)	1	2.41±0.02 ^c	2.42±0.04 ^b	2.60±0.03 ^a	2.58±0.04 ^a
	10	2.40±0.00 ^c	2.43±0.04 ^b	2.58±0.04 ^a	2.53±0.10 ^a
	20	2.42±0.04 ^c	2.48±0.09 ^b	2.59±0.05 ^a	2.58±0.03 ^a
	30	2.40±0.00 ^c	2.42±0.03 ^b	2.59±0.02 ^a	2.60±0.00 ^a
	Ortalama	2.41	2.44	2.59	2.57

Çizelge 4.6.(devam) Kefirlerin Bileşimi ve Kimyasal Özellikleri

	Günler	K	FK	T	FT
Laktoz (%)	1	3.13±0.15 ^A	3.16±0.13 ^A	2.98±0.05 ^A	3.24±0.15 ^A
	10	2.83±0.18 ^B	2.85±0.26 ^B	2.70±0.11 ^B	2.66±0.29 ^B
	20	2.39±0.26 ^C	2.37±0.06 ^C	2.36±0.11 ^C	2.32±0.06 ^C
	30	2.24±0.15 ^D	2.20±0.08 ^D	2.14±0.12 ^D	2.16±0.03 ^D
	Ortalama	2.65	2.65	2.55	2.60
Protein (%)	1	3.35±0.08 ^a	3.23±0.19 ^a	2.94±0.06 ^b	2.77±0.10 ^c
	10	3.29±0.15 ^a	3.21±0.08 ^a	3.01±0.15 ^b	2.75±0.15 ^c
	20	3.30±0.24 ^a	3.26±0.08 ^a	2.85±0.18 ^b	2.93±0.09 ^c
	30	3.36±0.26 ^a	3.31±0.20 ^a	2.96±0.09 ^b	2.79±0.18 ^c
	Ortalama	3.33	3.25	2.94	2.81
Proteolitik Aktivite (Tirozin Değeri) (mg/100ml)	1	0.105±0.00 ^D	0.105±0.00 ^D	0.092±0.00 ^D	0.093±0.01 ^D
	10	0.112±0.00 ^C	0.108±0.00 ^C	0.101±0.01 ^C	0.104±0.00 ^C
	20	0.112±0.01 ^B	0.114±0.01 ^B	0.118±0.02 ^B	0.115±0.00 ^B
	30	0.122±0.01 ^A	0.121±0.01 ^A	0.122±0.02 ^A	0.130±0.01 ^A
	Ortalama	0.113	0.112	0.108	0.111
Asitlik (SH)	1	31.88±0.61 ^{Bc}	32.54±0.83 ^{Bc}	36.01±1.29 ^{Bb}	37.93±1.92 ^{Ba}
	10	29.34±0.53 ^{Dc}	26.69±0.25 ^{Dc}	33.05±1.36 ^{Db}	34.39±1.65 ^{Da}
	20	30.63±1.89 ^{Cc}	28.93±0.60 ^{Cc}	35.24±1.35 ^{Cb}	36.60±1.48 ^{Ca}
	30	32.31±3.59 ^{Ac}	35.01±1.01 ^{Ac}	35.69±2.60 ^{Ab}	39.25±1.95 ^{Aa}
	Ortalama	31.04	30.79	35.00	37.04
pH	1	3.61±1.79	4.36±0.26	4.36±0.15	4.22±0.19
	10	3.75±1.84	4.49±0.12	4.42±0.12	4.25±0.12
	20	3.76±1.84	4.53±0.06	4.41±0.04	4.31±0.04
	30	4.58±0.06	4.59±0.03	4.43±0.15	4.35±0.03
	Ortalama	3.93	4.49	4.41	4.28

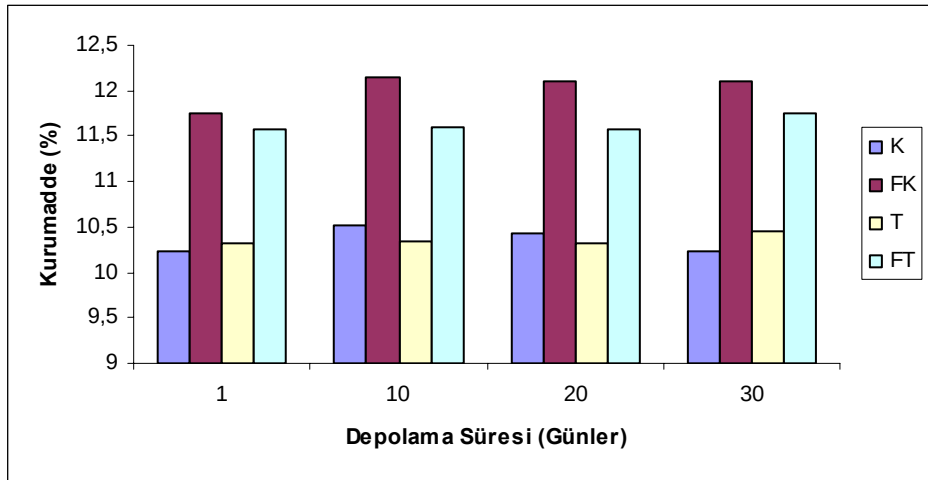
(1) A,B,C, D: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler P<0.01 ve P<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır.

(2) a, b, c, d : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler P<0.01 ve P<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır.

4.4.1.1. Kurumadde

Süt ve süt ürünlerinin istenilen yapısal ve duysal özelliklerinin elde edilebilmesinde bu ürünlerin kurumadde içerikleri ve özellikleri önem taşımaktadır. Birçok bilimsel çalışmada ürünlerin kurumadde içeriklerinin, o ürünün yapısal, mikrobiyolojik ve duysal özelliklerini ve ürünün besleyici değerini direk olarak etkilediği belirtilmiştir.

Çizelge 4.6. ve Şekil 4.3.'te, kefir tanesinin ve kefir kültürünün oligofruktoz ilaveli ve ilavesiz süte katılmasıyla gerçekleşen üretimlerde, kefir içeceklerinin kurumadde değerleri ve depolama süresince bu değerlerde meydana gelen değişimler verilmiştir. Ek 4'teki çizelgede de ürün çeşitlerinin ve depolama süresinin % kurumadde oranları açısından önemli olduğu görülmektedir ($P<0.01$).



Şekil 4.3. Kefirlerin Kurumadde Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi

Ortalama % kurumadde değerleri ürün eşitleri açısından kendi arasında incelendiğinde K ve T rnekleri birbirleriyle benzerken FK ve FT rneklerinin birbirleriyle farklılık gösterdiği görülmektedir. FOS ilaveli tane ile üretilen ürünlerin kültürle üretilene oranla daha düşük kurumadde içermesinin nedeninin tane ile üretimdeki süzme işleminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çizelge 4.6.'da kurumadde oranlarının %10.23 ile %12.14 arasında değiştiği ve en yüksek kurumadde oranının 10. depolama gününde FK rneğinde en düşük kurumadde oranının ise 1. ve 30. depolama gününde K rneğinde olduğu görülmektedir. Fruktooligosakkarit ilavesinin ortalama bazında % kurumadde oranında ne kadar artış sağladığına bakılacak olursa bu değerin kültürle üretilen kefir içeceklerinde %1.67 iken tane ile üretilen kefir içeceklerinde %1.27 olduğu görülmektedir.

Irigoyen et al. (2005); %1 ve %5 oranında kefir tanesi kullanarak gerçekleştirdikleri kefir üretiminde 28 günlük depolama süresince kurumadde değerlerinin %11.3-%11.7 ve Tonguç (2006); probiyotik ayran üretimi üzerine yaptığı çalışmada kurumadde oranlarını %9.52 ile %11.12 arasında değiştiğini saptamışlardır. Bu değerler çalışmamızda elde edilen değerler ile benzerlik göstermektedir. Ayrıca Wszolek et al. (2001); İskoçya ve Polonya'da inek, koyun, keçi sütüne farklı starter kültürler katılarak üretilen kefirlerin özelliklerini inceledikleri çalışmalarında kefirin kimyasal bileşimini 106-149 toplam kurumadde, 29-64 ham protein, 38-47 karbonhidrat ve 7-11 kül olarak belirtmişlerdir.

Ersoy ve Uysal (2002); süttozu, peyniraltı suyu tozu ve yayıkaltı karışımları ile tane ve kültürden kefir üretmişler ve tane ile üretilen kefirlerde kurumadde %7.71-%8.56 arasında değişirken kültür kullanılarak elde edilen ürünlerde %8.18-%8.85 arasında tespit edilmiştir.

Tratnik et al. (2006); %2 oranında süttozu, peynir suyu protein konsantresi ve inülin ile zenginleştirdikleri inek ve keçi sütünden ürettikleri kefirlerde kurumadde oranının %12.55 ve %12.44 arasında değiştiğini bulmuşlardır.

Martin-Diana et al. (2003); probiyotik bakteri içeren keçi sütüne % 3 ve % 5 oranında peynir suyu protein konsantresi (WPC) ilave ederek ürettikleri fermente süt örneklerinin kurumaddelerinde % 2.5-3.6 artış meydana geldiğini belirlemişlerdir.

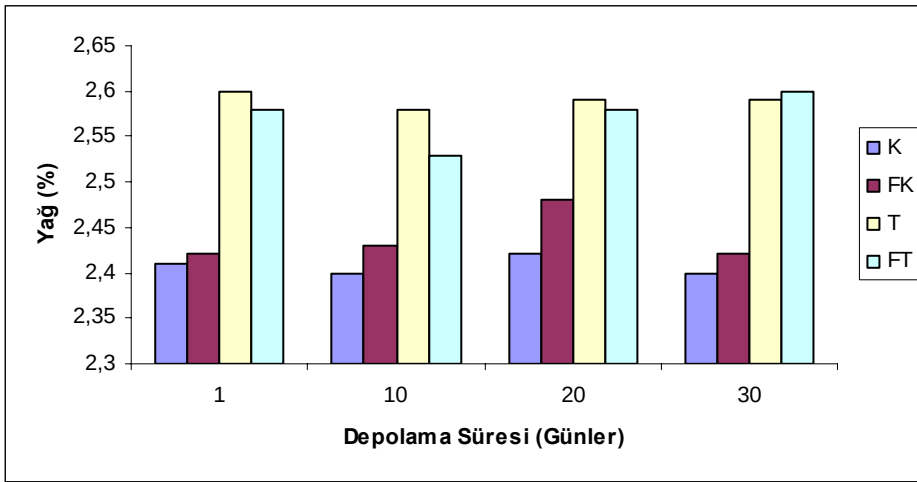
Guggisberg et al. (2007); farklı oranlarda peynir suyu protein izolatu ilave ederek ürettikleri yoğurtlarda, ürünlerin kurumadde miktarları arasındaki farkın ilave edilen ingrediye oranından daha az olduğunu belirlemelerine paralel olarak çalışmamızda da %2 oranında ilave edilen oligofruktozun kurumaddede %1.27-%1.67 oranında artış sağladığı g r lm ştir.

4.4.1.2. Yağ

Süt yağı; pütürlü yapı gibi kusurları önlemesi açısından ürünün fiziksel özelliklerini olumlu yönde etkilemesi, beslenme fizyolojisi açısından iyi bir enerji kaynağı olması, hoş bir tat ve kokuya sahip

olması, süt ürünlerine duyuasal açıdan üstünlük kazandırması nedeniyle kefir içeceği için de değerli bir maddedir.

Oligofruktoz ilave edilmiş ve ilave edilmemiş sütlere kefir tanesi ve kültürünün aşılmasıyla üretilen kefirlerde yağ değerleri ve depolamadaki değişimler Çizelge 4.6. ve Şekil 4.4.'de verilmiştir.



Şekil 4.4. Kefirlerin Yağ Oranlarının Depolama Süresi Boyunca Değişimi

Uygulanan varyans analizi ve Duncan testine göre kurumadde oranlarının aksine 30 günlük depolama süresinin, kefir içeceklerinin yağ oranlarında herhangi bir değişime neden olmadığı ve istatistiksel açıdan önemsiz olduğu belirlenmiştir ($P > 0.05$). Ancak yine aynı istatistiki çalışma, ürünler arasındaki % yağ oranları değişiminin önem arz ettiğini göstermektedir ($P < 0.01$) (Ek 4).

Bütün veriler dikkate alındığında üretilen kefir içeceklerindeki yağ oranlarının %2.40 ile %2.60 arasında değişim gösterdiği görülmektedir.

Araştırmamızda elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, esas olarak fruktooligosakkarit ilavesinin kültürle üretilen kefir içeceklerinde farklılığa neden olduğu ancak tane ile üretilen kefir içeceklerinde benzerlikler olduğu görülmüştür.

16.02.2009 tarihli Resmi Gazetede yayınlanan Fermente Süt Ürünleri Tebliği (Tebliğ No:2009/25)'nde ve FAO/WHO'nun 2001'de yayınladığı Gıda Kodeksine göre kefirdeki süt yağının %10'dan az olması gerektiği bildirilmektedir. İlgili çizelgelerden örneklerimizin sonuçlarının belirtilen değerler içinde bulunduğu görülmektedir.

Tonguç (2006); probiyotik olarak ürettiği ayranlarda depolama süresinin yağ miktarına etkisi istatistiki açıdan bizim çalışmamıza benzer şekilde önemsiz bulunmuştur. Guggisberg et al. (2007); farklı oranlarda peynir suyu protein izolatu ilave ederek ürettikleri yoğurtlar üzerinde yaptıkları çalışmada ilave edilen ingrediyen miktarı arttıkça yağ oranının da arttığını bildirmişlerdir.

Irigoyen et al. (2005); %1 ve %5 oranında kefir tanesi kullanarak yaptıkları kefir içeceği üretiminde 28 günlük depolama sonunda yağ içeriklerinin her iki örnekte de benzer olduğu görülmüştür. Ayrıca kefire işlenen sütle kefirler arasındaki yağ oranları arasında da bir fark olmadığı bildirilmiştir.

Schoevers and Britz (2003); normal süte ve 20g/L triptoz ilavesiyle zenginleştirilmiş az yağlı süte kefir tanesi ilavesiyle kefir içeceği üretmiş ve normal süttten üretilen kefirlerde yağ oranı 1.35-1.69 aralığında iken

triptoz ilaveli süttten üretilen kefir içeceğinin yağ oranının 2.68-7.48 arasında değiştiğı saptanmıştır.

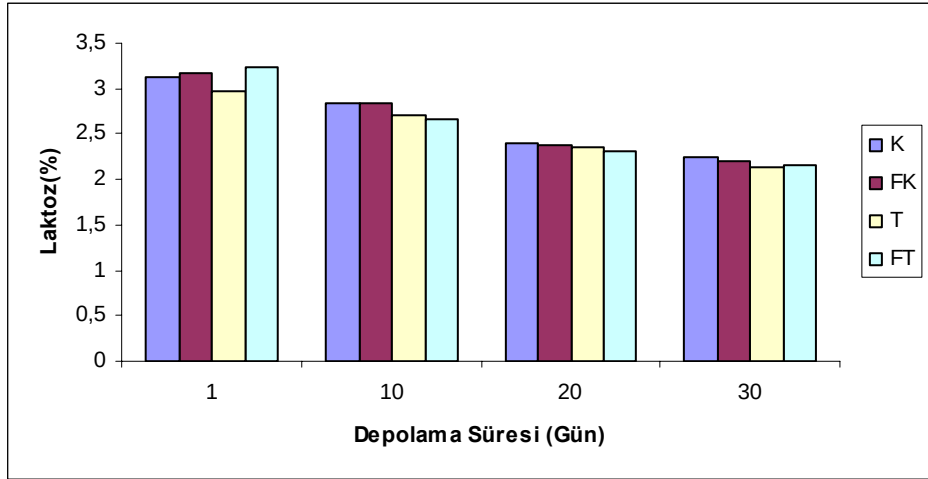
İsrail’de %1 ve %3 yağlı UHT süte %5 kefir tanesi katılarak kefir içeceği üretimi gerçekleştirilmiştir. Kimyasal özellikleri açısından çalışma irdelendiğinde %1 ve %3 yağlı sütlerden elde edilen içeceklerde yağ içeriğinde önemli bir değişiklik olmamıştır. Yapılan denemelerde araştırmacılar UHT sütlerde kefir yapımının hiçbir sakıncası olmadığını ve önemli kimyasal kriterleri incelendiğinde geleneksel yolla ısıl işlem uygulanan sütlerle belli bir farklılığın görülmediğini bildirmişlerdir (Merin and Rosenthal, 1986).

Öte yandan özellikle fermente süt ürünlerinde bazı besin maddelerinin miktarının, biyolojik değeri ve sindirilebilirliğinin probiyotik suşların faaliyetleri ile iyileştiğı, protein, yağ ve karbonhidratların, bakteriler tarafından salgılanan değişik enzimler vasıtasıyla fermentasyona uğratıldığı böylece bunların besin değerinin arttığı ve sindirilmelerinin kolaylaştığı bildirilmiştir (Koop-Hoolihan, 2001). Nitekim çalışmamızda da başlangıçta kefir üretiminde kullanılan süütün yağı % 2.8 olarak belirlenmiş olup bu değerler üretilen kefir içeceğinde % 2.40-% 2.60’a düşmüştür. Isıl işlem görmüş süütün yağıyla kefirdeki yağ miktarı arasındaki bu azalmanın üretim sırasında meydana gelen kayıplara ve fermentasyon sırasında serbest yağ asitleri miktarının artmasına bağlı olduğu düşünülmektedir.

4.4.1.3. Laktoz

Laktoz, sütün tek karbonhidratı olup beslenme fizyolojisi ve sütün teknolojisi açısından sütün çok önemli bir bileşenidir.

Oligofruktozlu ve oligofruktozsuz süte kefir tanesi ve kefir kültürünün katımıyla elde edilen kefir içeceklerinin laktoz miktarları ile 30 günlük depolama süresince bu oranlarda meydana gelen değişimler Çizelge 4.6. ve Şekil 4.5.'de verilmiştir.



Şekil 4.5. Kefirlerin Laktoz Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi

İlgili çizelgelerden, kefir içeceklerinin laktoz değerlerindeki değişimin depolama süresi açısından önemliyken ($P < 0.01$) ürünler arasında önemli olmadığı görülmektedir ($P > 0.05$).

Bütün veriler dikkate alındığında üretilen kefir içeceklerindeki laktoz değerlerinin % 2.14 ile % 3.24 arasında değişim gösterdiği tespit

edilmiştir. Araştırmamızda elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, oligofruktozlu ve oligofruktozsuz süte kefir tanesi ve kefir kültürü katılarak üretilen kefir içeceklerinde en yüksek laktoz değeri olgunlaşmanın 1. gününde saptanmış olup bu değerler azalarak 30. günde en düşük seviyesine ulaşmıştır.

Martin-Diana et al. (2003); probiyotik bakteri içeren keçi sütüne % 3 ve % 5 oranında peynir suyu protein konsantresi (WPC) ilave ederek ürettikleri fermente süt örneklerinde % laktoz değerlerinin 1.19-2.18 aralığında seyrettiği görülmüştür.

Normal süte kefir tanesi ilavesiyle ve 20g/L triptoz ilavesiyle zenginleştirilen az yağlı süte kefir tanesi ilavesiyle kefir içeceği üretilmiş ve normal süttten üretilen kefirlerde toplam şeker miktarı 6.34-7.76 aralığında iken triptozla zenginleştirilen süttten üretilen kefir içeceğinin toplam şeker miktarı 8.93-9.46 olarak bulunmuştur (Schoevers and Britz, 2003).

Irigoyen et al. (2005); % 1 ve % 5 oranında kefir tanesi kullanarak gerçekleştirdikleri üretimde 24 saatlik fermentasyon sonunda başlangıç süttünde mevcut olan laktoz düzeyinin %20-25 oranında azaldığını bildirmişlerdir. Ayrıca %1 tane ile aşılana kefir örneklerinde %5 tane aşılana göre daha yüksek laktoz değeri görülmüştür. Araştırmacılar 28 günlük depolama sonunda laktoz değerlerinin %1 taneden üretilen kefirlerde % 3.51'den % 3.20'ye düşerken %5 taneden üretilen kefirde % 3.41'den % 2.94'e düştüğünü bildirmişlerdir. Ancak bu değerler istatistiki açıdan incelendiğinde önemsiz bulunmuştur. Alm, 1982 yılında

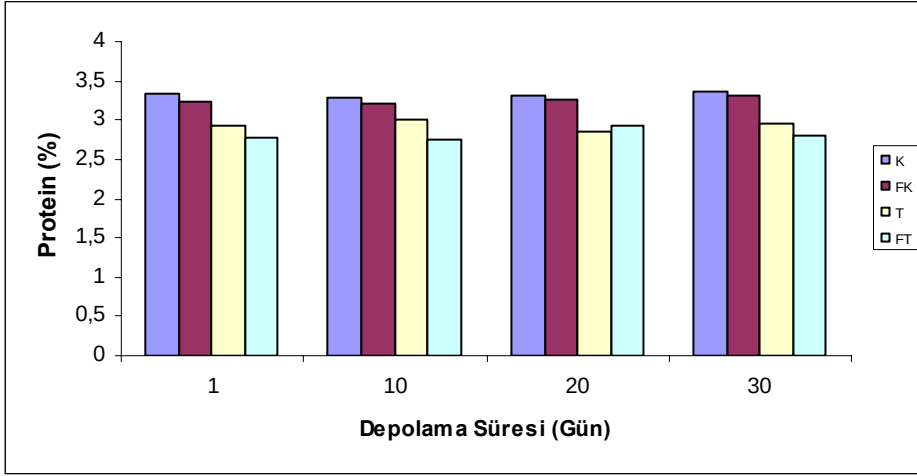
yaptığı çalışmada da benzer sonuçlar bulmuştur. Assadi et al. ise 2000 yılında gerçekleştirdiği benzer bir çalışmada % 5'lik bir inokülasyonla 24 saatlik fermentasyon sonunda laktoz seviyesinde % 1.4'lük bir azalma bildirmiştir. Laktozdaki daha büyük azalmalara yoğurt benzeri diğer fermente süt ürünlerinin depolanmasında görülen bakteri kültürlerinin sebep olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda 30 günlük depolama süresince laktoz miktarında azalmalar görülmüştür. Tane ile üretilen kefirlerde asitlik gelişiminin kültür ile üretilen kefiirlere nazaran daha fazla olması ve laktoz miktarındaki azalmanın da yine aynı şekilde tane ile üretilen kefirlerde kültür ile üretilenlere nazaran daha fazla olması bu durumu doğrulamaktadır.

4.4.1.4. Protein

İnsan beslenmesinde proteinler yüksek biyolojik yararlılıkları sebebiyle beslenme fizyolojisi açısından önem taşımaktadır.

Araştırmamızda oligofruktoz ilaveli ve ilavesiz süte kefir tanesi ve kefir kültürü ilavesiyle elde edilen kefir içeceklerinin protein değerleri ve depolama süresince içeriklerde meydana gelen değişimler Çizelge 4.6. ve Şekil 4.6.'da verilmiştir.



Şekil 4.6. Kefirlerin Protein Miktarlarının Depolama Süresi Boyunca Değişimi

Varyans analizi ve Duncan testi sonuçları incelendiğinde kefir tanesi ve kefir kültürünün fruktooligosakkarit ilaveli ve ilavesiz süte katımıyla gerçekleştirilen üretimlerde kefir çeşitlerinin protein miktarları arasındaki farkın önemli olduğu ($P < 0.01$) ancak depolama süresi yönünden önemli bir etki göstermediği belirlenmiştir ($P > 0.05$).

K, FK, T ve FT örneklerinin ortalama protein değerlerinin sırasıyla 3.33; 3.25; 2.94; 2.81 olduğu ve örneklerdeki toplam protein oranlarının % 2.75 ile % 3.36 arasında değiştiği ilgili çizelgede görülmektedir. Oligofruktoz ilaveli ve ilavesiz olarak taneyle üretilen kefir içeceklerinin protein miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli olup kültürle üretilen kefir içeceklerindeki protein değerleri kendi aralarında benzerlikler göstermiştir. En yüksek protein miktarları kültürle üretilen kefir içeceklerinde görülmüş bunu taneyle üretilen kefir içeceği ve sonra

da fruktooligosakkarit ilaveli sütün taneyle üretilen kefir içeceği takip etmiştir.

16.02.2009 tarihli Resmi Gazetede yayınlanan Fermente Süt Ürünleri Tebliği (Tebliğ No:2009/25)'nde kefirdeki süt proteinin ağırlıkça en az %2.7 olması gerektiği bildirilmektedir. Çizelge 4.6. ve Şekil 4.6. incelendiğinde fruktooligosakkarit ilaveli ve ilavesiz sütlerden kefir tanesi ve kültürüyle üretilen kefir içeceklerimizin sonuçlarının belirtilen sınır değerin üzerinde olduğu görülmektedir.

Wszolek et al. (2001); farklı süt türlerinden ve farklı starter kültürlerle ürettikleri kefir örneklerindeki protein miktarlarını % 2.85-% 6.45 olarak Garrote et al. (2001) ise Arjantin'in 4 farklı bölgesinden aldıkları kefir taneleriyle ürettikleri kefir içeceklerindeki protein değerlerini % 4.7-6.6 aralığında belirlemişlerdir.

Macaristan'da 58 kefir örneği 1 yıl boyunca kimyasal açıdan incelenmiştir. Çalışmada kefirlerin içerdiği protein miktarının ortalaması % 3,47 bulunmuştur. Bu değer kışın % 3,57, yazın % 3,43, ilkbaharda % 3,46 olmuştur. Kefire işlenen sütün ortalama protein değeri ise % 3,39 olarak belirtilmektedir (Karagözlü,1990).

İsrail'de % 1 ve % 3 yağlı UHT süte % 5 kefir tanesi katılarak kefir içeceği üretimi gerçekleştirilmiştir. Kimyasal özellikleri açısından çalışma irdelendiğinde % 1 ve % 3 yağlı sütlerden elde edilen içeceklerde protein içeriğinde önemli bir değişiklik olmamıştır (Merin and Rosenthal, 1986).

Martin-Diana et al. (2003); probiyotik bakteri içeren keçi sütüne % 3 ve % 5 oranında peynir suyu protein konsantresi (WPC) ilave ederek ürettikleri fermente süt örneklerinde protein miktarlarını % 3.71-5.31 olarak bulmuşlardır.

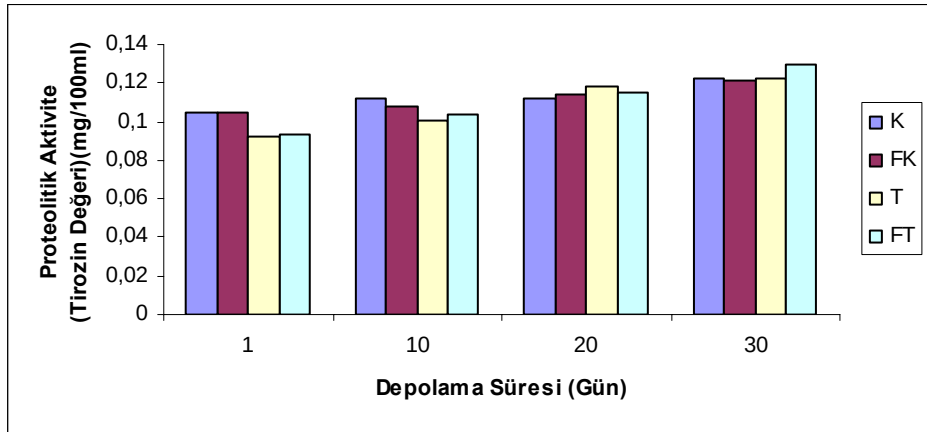
Schoevers and Britz (2003); normal süte ve triptozla zenginleştirilmiş az yağlı süte kefir tanesi ilavesiyle kefir içeceği üretmiş ve normal süttten üretilen kefirlerde protein miktarı % 4.61-5.43 aralığında iken triptoz ilaveli süttten üretilen kefir içeceğinin protein miktarı % 4.17-4.66 olmuştur.

Kefir üretiminde kullanılan süttün % 3.5 olan protein miktarının kefirde % 2.75-% 3.36 aralığında değiştiği ilgili çizelgeden görülmektedir. Bunun nedeni proteinin, bakteriler tarafından salgılanan değişik enzimler vasıtasıyla bir ön fermentasyona uğratılmasıdır. Bu durum kefirin besin değerini arttırmakta ve sindirilebilirliğini kolaylaştırmaktadır. Ayrıca kefir içeceğinin protein miktarındaki azalması tane ile elde edilen üründe kültürle elde edilen ürüne nazaran daha fazladır. Bunun nedeni tane ile üretim esnasında süzme işlemi sırasında bir kısım proteinin kefir tanesi yada elekte kalabileceği olasılığından kaynaklanmaktadır.

4.4.1.5. Proteolitik (Tirozin Değeri) Aktivite

Tirozin analizi, fermente süt ürünlerinde proteolitik aktivitenin tespitinde kullanılan bir yöntemdir.

Kefir tanesi ve kefir kültürünün oligofruktoz ilaveli ve ilavesiz süte inokülasyonu ile gerçekleştirilen üretimlerdeki kefir içeceklerinin tirozin değerleri ve depolama süresinin bu değerlerde meydana getirdiği değişimler Çizelge 4.6. ve Şekil 4.7.'de verilmiştir.



Şekil 4.7. Kefirlerin Tirozin Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi

İlgili çizelgelerden 30 günlük depolama süresinin, kefir içeceklerinin proteolitik aktivitesindeki değişimin istatistiksel açıdan önemli olduğu anlaşılmaktadır ($P < 0.01$). Ancak yine aynı istatistiki çalışma, ürünler arasındaki farklılığın önemli olmadığını göstermiştir ($P > 0.05$).

Eldeki verilere göre üretilen kefir içeceklerindeki tirozin değerlerinin 0.092 mg tirozin/100 ml ile 0.130 mg tirozin/100 ml arasında değişim gösterdiği ve depolama süresince arttığı görülmektedir. Depolama süresince tirozin içeriğinde meydana gelen değişim kültürle elde edilen kefir içeceklerinde 0.105, 0.112, 0.112, 0.122 mg tirozin/100 ml, fruktooligosakkarit ilaveli süttten kültürle elde edilen kefir

içeceklerinde 0.105, 1.108, 0.114, 0.121 mg tirozin/100 ml, taneyle elde edilen kefir içeceklerinde 0.092, 0.101, 0.118, 0.122 mg tirozin/100 ml, fruktooligosakkarit ilaveli sütten taneyle elde edilen kefir içeceklerinde 0.093, 0.104, 0.115 ve 0.130 mg tirozin/100 ml olmuştur. Tirozin değerlerinin taneyle ve kültürle elde edilen kefir içeceklerinde önemli bir fark yaratmadığı görülmektedir.

Kılıç et al. (1999); kefir tanesi ve starter kültürle üretilen kefirlerin, olgunlaşması sırasında kimyasal, mikrobiyolojik ve duysal özelliklerindeki değişimlerini 5 günlük depolama süresince incelemişler ve tane ile üretilen kefir ieeğinde proteolitik aktivite 0,297 mg tirozin/100 ml iken starter kültürle ürettikleri kefir ieeğinde bu değerin 0,267 mg tirozin/100 ml olduğunu ifade etmişlerdir.

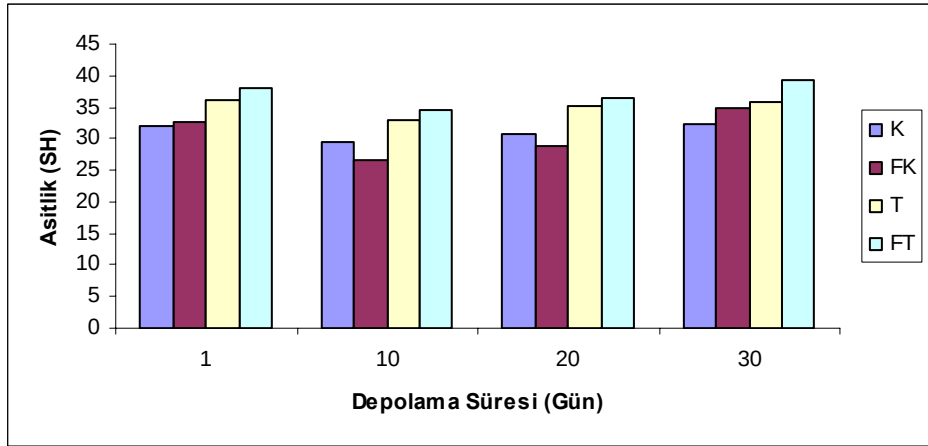
Yüksekdağ et. al. (2004); Türk kefir örneklerinden laktik asit bakterilerini izole ettikleri çalışmalarında identifikasyon sonucunda *Lactococcus lactis* Z2S ve Z3S, *Streptococcus thermophilus* Z5S, Z12S, *Streptococcus durans* Z7S, Z8S, *Lactococcus cremoris* Z14S ve Z16S'nin hiçbir proteolitik aktivite göstermezken *Lactococcus cremoris* Z20S suşunun 0,09 mg/ml ile en yüksek proteolitik aktiviteyi gösterdiğini bildirmişlerdir.

Ersoy ve Uysal (2002); süttozu, peyniraltı suyu tozu ve yayıkaltı karışımları ile tane ve kültürden kefir üretmişlerdir. Proteolitik aktivitenin göstergesi olan tirozin değerinde en yüksek değerin yayıkaltıdan (% 0.136) en düşük değerin de peyniraltı suyu tozundan (% 0.069) retilen içeceklerde olduğunu bildirmişlerdir.

4.4.1.6. Asitlik (SH)

Süt işletmelerinde titrasyon asitliği genellikle sütte asitlik artışını belirlemek amacıyla yapılır. Titrasyon asitliği ile sütün özellikleri arasında bir ilişki kurulur ve bu süttten işlenecek çeşitli süt ürünleri hakkında kararlar verilebilir. SH derecesi bazı süt ürünlerinde kalite kriteri olarak değerlendirilir, bazen de üretim sırasında üretimin yönlendirilmesinde yardımcı olur.

Çizelge 4.6. ve Şekil 4.8.'de oligofruktoz ilaveli ve ilavesiz süte kefir tanesi ve kefir kültürünün katılmasıyla üretilen kefir içeceklerinin SH cinsinden asitlik değerleri ile 30 günlük depolama süresince bu oranlarda meydana gelen değişimler verilmiştir.



Şekil 4.8. Kefirlerin Asitlik Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi

İstatistiksel değerlendirme sonucunda da ürün çeşitleri arasındaki SH cinsinden asitlik değerlerinin ve depolama süresi boyunca kefir

içeceklerinde meydana gelen SH cinsinden asitlik değişimlerinin ($P<0.01$) nemli olduğu görülmüştür.

rn eşitleri arasında K ve FK rneklerinin SH cinsinden asitlik değerleri birbirleriyle benzer olup T ve FT rneklerinin SH cinsinden asitlik değerleri birbirleriyle farklılık göstermektedir. Bütün veriler dikkate alındığında üretilen kefir içeceklerindeki SH cinsinden asitlik değerlerinin 26.69 SH- 39.25 SH (laktik asit cinsinden % 0.6- % 0.9) arasında değişim gösterdiği ilgili izelge ve şekilden görülmektedir. Fruktooligosakkarit ilaveli sütlerden kefir tanesi ile üretilen kefir içeceklerindeki asitlik değerlerinin 39.25 SH ile en yüksek olduğu ve bunu kefir tanesiyle üretilen kefir içeceğinin takip ettiği görülmektedir. Kültürle üretilen kefir içecekleri örneklerinde ise herhangi bir farklılık görülmemiş olup istatistiki açıdan birbirleriyle benzer sonuçlar elde edilmiştir.

İncelemelerde kefir içeceklerinde 1., 10., 20. ve 30. gün depolama sürelerinde, SH cinsinden asitlik değerlerinin düzensiz değişimler gösterdikleri ve ürünlerdeki en yüksek asitlik değerinin 30 gün olduğu dikkat çekmektedir. Depolamanın 10. gününde en düşük seviyeye inen asitlik miktarı 30. günde en yüksek değeri bulmuştur. Bu durum, kefir içeceğinde başlangıç aşamasında meydana gelen laktik asit fermentasyonuna bağlı olarak laktoz oranında az veya çok bir azalma olduğunun göstergesidir.

Kefirdeki asitliğin büyük bir kısmı azotlu maddelerden bir kısmı da olgunlaşma sırasında laktik asit ve proteolitik bakterilerin faaliyetleri

sonucu laktoz ve azotlu maddelerin parçalanması ile meydana gelen organik asitlerden kaynaklanmaktadır. Ayrıca mayalar da ortam asitliğini düşürerek üretimde kullanılan laktik asit bakterilerinin faaliyetini olumlu yönde etkilerler. Mayaların ortam asitliğini düşürmesinin en büyük etkeni, kültür bakterileri tarafından oluşturulan laktik asidi kullanmaları ile açıklanabilir. Böylece olgunlaşma süresince laktik asit bakterileri daha uzun süre faaliyetlerini devam ettirebilmekte ve kefirin duyuusal özellikleri bakımından önemli lezzet bileşiklerini oluşturabilmektedirler.

16.02.2009 tarihli Resmi Gazetede yayınlanan Fermente Süt Ürünleri Tebliği (Tebliğ No:2009/25)'nde kefirdeki titre edilebilir asitliğin en az % 0.6 olması gerektiği bildirilmektedir. Çalışmamızda elde edilen sonuçların % 0.6 – 0.9 arasında değişim gösterdiği ve belirtilen sınırlar içinde olduğu görülmektedir.

Garrote et al. (2001), Arjantin'in 4 farklı bölgesinden elde ettikleri kefir taneleriyle ürettikleri kefir içeceklerindeki laktik asit değerlerini % 1.30-2.03 aralığında belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada ise kefir tanelerinin kimyasal kompozisyonunun kültürün orijinine göre değiştiği, tanede yer alan bakterilerin aktivitesine bağlı olarak son üründe ortalama olarak %0,8-1,0 laktik asit bulunduğu ve ürünün keskin asit ve mayamsı tatta olup ekşi olduğu bildirilmektedir (Gilliland, 2001; Wszolek et. al., 2006).

Ersoy ve Uysal (2002); süttozu, peyniraltı suyu tozu ve yayıkaltı karışımları ile tane ve kültürden kefir üretmişler ve tane ile üretilen kefirlerde kültürle üretilene oranla SH cinsinden daha yüksek asitlik

değeri bulmuşlardır. 9 günlük depolama sonunda tane ile üretilen kefirde asitlik 32 SH'dan 36 SH'ya artarken kültürle üretilmiş kefirlerde bu değer 30-34 SH aralığında olmuştur. Bu artışın kaynağı tane ile üretilmiş kefirlerde asitliğin daha hızlı gelişmesi olarak gösterilmiştir. Kılıç et al. (1999); kefir tanesi ve starter kültürle kefir üretimi gerçekleştirdiği çalışmasında 5 günlük depolama süresince tane ile ürettiği kefirde (60^0SH) kültürle üretilene (54^0SH) nazaran daha yüksek bir asitlik değeri tespit etmişlerdir.

Görüldüğü gibi asitlik gelişimi tane kullanılarak üretilen kefirlerde kültür kullanılanlara göre daha hızlı olmuş ve daha yüksek değerler alınmıştır. Tane ve kültürle elde edilen ürünler kendi içlerinde değerlendirildiğinde fruktooligosakkarit ilavesi asitlik gelişimini arttırmıştır. Bu da bize çalışmamızda ilave edilen oligosakkaritlerin kefirde bulunan laktik asit bakteri ve mayalar tarafından karbon kaynağı olarak kullanıldığını göstermektedir.

Tavlaş (1986); kefir tanesi (% 5) ve kefir kültürü (taneyle elde edilen süzüntüden % 2-3 aşılamaıyla) kullanılarak üretilen kefirin kalitesi üzerine olgunlaşma koşullarının etkisini incelediği çalışmasında asit oluşumunun her iki üretim yönteminde ve olgunlaşma koşulunda artış gösterdiğini, 15^0C 'de olgunlaştırılan kefirlerde asitlik gelişiminin daha fazla olduğunu ifade etmiştir.

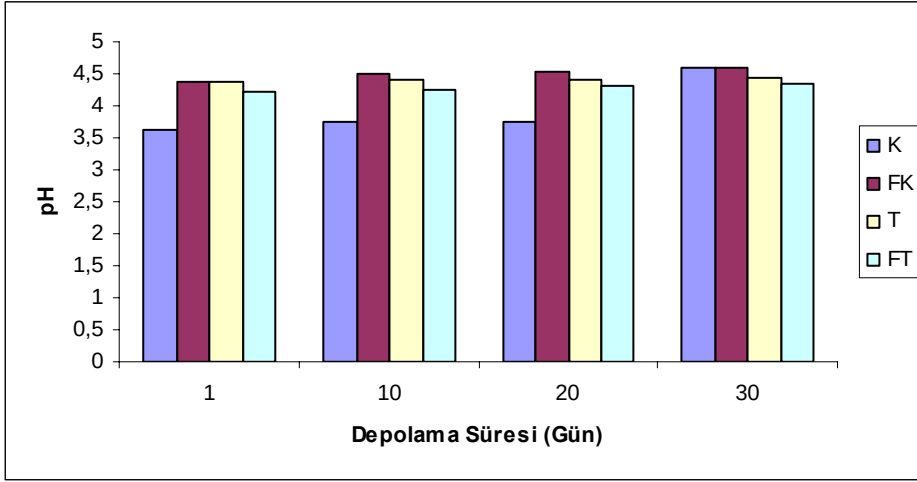
Tratnik et al. (2006); inek ve keçi sütünden üretilen kefiirlere % 2 oranında yağsız süttozu, peyniraltı suyu konsantratu ve inülin katmışlardır. Kefir tanesi ile inoküle edilen sütler 25^0C 'de 19 saat

inkübasyona bırakılmış ve fermente edilen tüm sütler 10 gün boyunca 5 °C'de depolanmıştır. Örneklerde depolama boyunca asitlik düzeyi önemli bir değişiklik göstermemiştir. Benzer şekilde İsrail'de % 1 ve % 3 yağlı UHT süte % 5 kefir tanesi katılarak kefir içeceği üretimi gerçekleştirilmiştir. Kimyasal özellikleri açısından çalışma irdelendiğinde % 1 ve % 3 yağlı sütlerden elde edilen içeceklerde asitlik aynı kalmıştır (Merin and Rosenthal, 1986).

4.4.1.7. pH

Süt ve süt ürünlerinde aktüel asitlik olarak da bilinen pH değerini serbest ve aktif hidrojen iyonu ile dengede bulunan diğer bileşikler meydana getirir ve gerek mikrobiyolojik gerekse diğer değişimlerde asitliğin dissosiyeye olan kısmı önem taşır. Dissosiyeye olan kısım hakkında ise en doğru sonucu pH değerinden anlamak mümkündür. Süt teknolojisinde pH ölçümü asitliğin gelişebileceği her durumda tespit edilmelidir. Çünkü pH değeri, ürünün kalitesi ve randımanı hakkında çok kıymetli ip uçları verir.

Oligofruktoz ilaveli ve ilavesiz süte kefir tanesi ve kefir kültürünün inokülasyonu ile üretilen kefir içeceklerinde pH değerleri ve bu değerlerde depolama süresince meydana gelen değişimler Çizelge 4.6. ve Şekil 4.9.'da verilmiştir.



Şekil 4.9. Kefirlerin pH Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi

Varyans analizi ve Duncan testi sonuçları incelendiğinde gerek ürün bazında gerekse depolama süresince kefir içeceklerindeki pH değişimlerinin istatistiksel açıdan önemsiz olduğu belirlenmiştir ($P>0.05$). Çalışmamızda üretilen kefir örneklerindeki pH değerleri 3.61-4.59 aralığında değişmiş ve K, FK, T ve FT örneklerinin ortalama pH değerleri sırasıyla 3.93; 4.49; 4.41; 4.28 olmuştur.

% 3 ve % 5 oranında peynir suyu protein konsantratu ilavesiyle keçi sütünden üretilen fermente sütler üzerinde yapılan çalışmada 4°C’de 3 haftalık depolamada pH değerlerindeki değişmelerin önemli olmadığı ifade edilmiştir (Martin-Diana et al., 2003).

Simova et. al (2002); kefir tanelerinden ve süzüntüden inokülasyonla olmak üzere 2 farklı kefir üretimi gerçekleştirmişlerdir. Yaptıkları incelemede taneyle üretilen kefir içeceğinde ve bundan

inokülasyonla üretilen içecekte pH değerleri sırasıyla 4.5-4.35 olarak bildirilmiştir.

Beshkova et. al. (2002); ardışık laktik asit - maya fermentasyonu ile kefir üretimi (A), eş zamanlı laktik asit - maya fermentasyonu ile kefir üretimi (B) ve kefir tanesiyle kefir üretimi (C)'yi gerçekleştirerek üretimde 3 farklı yol izlemişlerdir. A, B, C örneklerinde pH değerleri sırasıyla 4.45, 4.40 ve 4.50 şeklinde olmuştur.

Garrote et al. (1998); farklı oranlarda kefir tanesi kullanarak gerçekleştirdikleri üretimde pH değerlerini 3.74-5.36 aralığında bulmuşlardır. Çalışmada, litreye 1 g kefir tanesi katılarak elde edilen içeceklerin 48 saatlik inkübasyondan sonra en yüksek pH değerini aldığını ve tane artışıyla birlikte bu değer azaldığını bildirmişlerdir.

Garrote et al. (2001), 4 farklı kefir tanesinden ürettikleri kefir içeceklerindeki pH değerlerini 3.69-3.83 aralığında belirlemişlerdir.

Irigoyen et al. (2005); % 1 ve % 5 oranında kefir tanesi kullanarak gerçekleştirdikleri üretimde pH'nın 28 günlük depolama süresince kendi içlerinde önemli bir değişiklik göstermediğini ancak inoküle edilen tane miktarındaki artışın pH değerini azaltıcı yönde önemli farklılıklara sebep olduğunu belirtmişlerdir. Yoğurt benzeri diğer fermente süt ürünlerinde laktozun kültür bakterileri tarafından parçalanması sonucu pH'nın depolama süresince azalmasına karşın üretilen kefirin pH değerinin depolama süresince değişmemesinin mayalardan kaynaklanmasının muhtemel olduğunu belirtmişlerdir.

4.4.2. Aroma Maddeleri

Kefir, fermentasyonda spesifik olarak *Lactobacillus kefiri*, *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 tanımlanmaktadır (Anonymous, 2006). Kefir tanesi yada kefir starterlerinde bulunan sayısız bakteri ve maya türlerinin metabolik aktivitesi sonucu geleneksel kefirin eşsiz ve benzersiz tat ve aroması oluşmaktadır. Kefir yarı karbonatlı bir içecek olup kendisini diğer ürünlerden ayıran benzersiz tat ve aroması üretimden sonra da devam eden bakteri-maya interaksiyonuna ve fermentasyonun sürmesine bağlı bulunmaktadır (laktik asit, CO₂, etanol ve diğer aroma oluşturan bileşikler). Kefir üretimini kolaylaştırmak ve kontrol edilebilen, standart bir ürün olmasını sağlamak açısından üretimde starter kültür kullanılması işi kolaylaştırmaktadır. Bunların ikincil metabolitleri olan aroma maddeleri de bu ürünlerin kalitesi ve kalite kontrolleri için önemlidir (Simova et al, 2002; Beshkova et al., 2002).

Aroma bileşikleri üretme yetenekleri, fermente süt ürünlerinde bulunan starter kültürlerde aranan en temel karakteristik özelliklerden biridir (Kneifel et al. 1992; Beshkova et al., 2003). Araştırmacılar, yoğurt ve yoğurt benzeri süt ürünlerinde tat ve aromanın uçucu ve uçucu olmayan asitler ile karbonil bileşiklerinden kaynaklandığını bildirmişlerdir (Tamime and Robinson, 1999; Fernandez-Garcia and McGregor, 1994). Uçucu organik karbonil bileşiklerinin sadece bir

kısının oldukça yüksek konsantrasyonda olması sebebiyle aroma oluşumunda belirli bir etkisi olduklarına inanılmaktadır (Imhof et al., 1994; 1995). Yoğurt ve yoğurt benzeri ürünlerde starter kültürler incelendiğinde bunların sadece asetaldehit, diasetil, etanol, propanon ve 2-bütanon içerdiği (Imhof et al., 1995; Ott et al., 1997; Kneifel et al., 1992) fermente sütlerde 2,3-butanedione ve 2,3-pentanedione benzeri diketonların başlıca aroma bileşiklerine dahil oldukları görülmüştür.(Ott et al., 1997; Imhof et al., 1994; 1995). Kefirde ise tat ve aroma standart değildir. Her işletmede üretilen kefirin içerdiği süt asidi ve etil alkol oranı farklıdır. Bu nedenle işletmeler arasında kefir üretim teknolojisinde değişiklikler görülür (Yetişmeyen, 1997).Asetaldehit, yoğurdun en belirgin ve önde gelen aroma bileşiği kabul edilmiştir ve diğer yoğurt benzeri fermente sütlerde de tipik aromayı oluşturduğu belirtilmektedir (Marshall and Cole, 1983; Kneifel et al., 1992; Ott et al.,1997; 1999).

Kefir kültürü ve kefir tanesinin oligofruktozlu ve oligofruktozsuz süte aşılansıyla elde edilen kefir içeceklerinde aroma maddeleri ile olgunlaşma süresince meydana gelen değişimler Çizelge 4.7.'de toplu olarak verilmiştir.

Çizelge 4.7. Kefirlerde Aroma Maddeleri

	Günler	K	FK	T	FT
Asetaldehit (ppm)	1	8.15±2.29 ^{Ba}	8.39±1.26 ^{Ba}	8.20±1.65 ^{Ba}	7.22±2.60 ^{Bb}
	10	9.07±0.18 ^{Aa}	9.38±0.22 ^{Aa}	9.64±0.52 ^{Aa}	8.86±0.81 ^{Ab}
	20	9.95±0.63 ^{ABa}	10.76±0.51 ^{ABa}	8.83±0.85 ^{ABa}	5.42±0.64 ^{ABb}
	30	5.69±2.57 ^{Ca}	5.55±1.98 ^{Ca}	4.33±0.21 ^{Ca}	4.73±0.98 ^{Cb}
	Ortalama	8.22	8.52	7.75	6.56

Çizelge 4.7. (devam) Kefirlerde Aroma Maddeleri

	Günler	K	FK	T	FT
Diasetil (ppm)	1	2.83±0.45 ^A	2.72±0.51 ^A	2.16±0.75 ^A	2.05±0.86 ^A
	10	2.93±1.36 ^A	2.28±0.61 ^A	2.76±0.20 ^A	2.26±0.19 ^A
	20	2.72±0.24 ^A	2.87±0.36 ^A	2.61±0.92 ^A	1.88±0.61 ^A
	30	1.79±0.74 ^B	1.71±0.60 ^B	1.58±0.67 ^B	2.07±0.95 ^B
	Ortalama	2.57	2.40	2.28	2.07
Alkol (%)	1	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.16±0.19 ^b	0.29±0.15 ^a
	10	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.22±0.20 ^b	0.43±0.14 ^a
	20	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.23±0.20 ^b	0.52±0.16 ^a
	30	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.40±0.46 ^b	0.66±0.32 ^a
	Ortalama	0.00	0.00	0.25	0.48

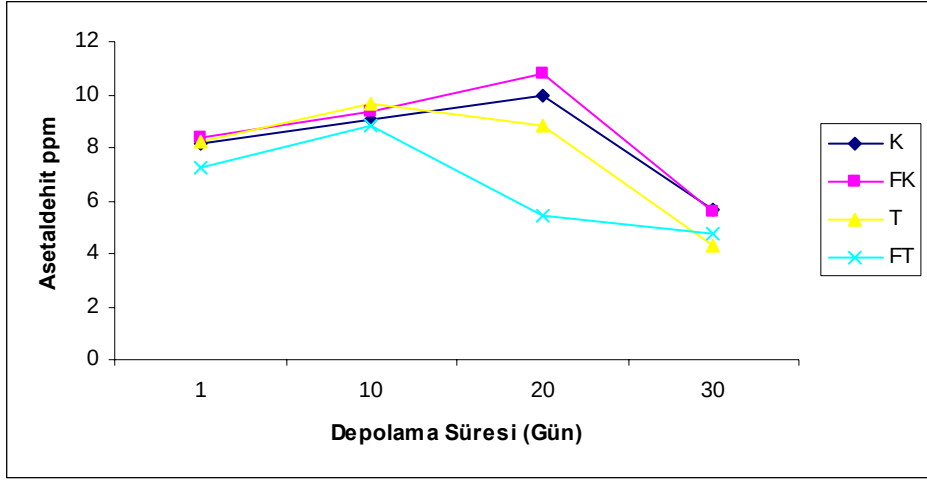
(1) A,B,C,D: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler P<0.01 ve P<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır.

(2) a, b, c, d : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler P<0.01 ve P<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır.

4.4.2.1. Asetaldehit

Asetaldehit, yoğurt, ayran gibi fermente süt ürünlerinin üretimi sırasında bakterilerin metabolik aktiviteleri sonucu meydana gelen ve bu ürünlerin karakteristik aromasının oluşumunda rol oynayan en önemli karbonil bileşiğidir. Kefir içeceğindeki seviyesinde, kefir üretim yöntemi ve kullanılan starter kültürünün tipi etkili olmaktadır (Tamime, A.Y., 2006).

Çizelge 4.7. ve Şekil 4.10.'da oligofruktozlu ve oligofruktozsuz süte tane ve kültür ilavesiyle üretilen kefirlerde 30 günlük depolama süresince asetaldehit miktarında meydana gelen değişimler gösterilmiştir.



Şekil 4.10. Kefirlerin Asetaldehit Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi

Varyans analizi ve Duncan testi sonuçlarına göre 30 günlük depolama süresinin ve ürünler arasındaki farklılığın, asetaldehit oluşumunda önemli olduğu bulunmuştur ($P<0.01$).

Ürünler açısından Çizelge 4.7. incelendiğinde K, FK ve T örneklerinin birbirleriyle benzer olduğu ancak FT örneğinin diğerlerinden farklı olduğu görülmektedir. En yüksek asetaldehit miktarına 10,76 ppm düzeyiyle FK örneğinin 20. depolama gününde ulaşılmış olup en düşük asetaldehit miktarına ise 4.33 ppm ile T örneğinin 30. gününde rastlanmıştır. Çizelge 4.7.'de ortalama asetaldehit miktarı K örneğinde 8.22 ppm, FK örneğinde 8,52 ppm, T örneğinde 7,75 ppm, FT örneğinde ise 6,56 ppm olarak saptanmış ve kefir kültürleri tarafından üretilen asetaldehit miktarının tanelerle üretilene göre daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Oligofruktoz ilaveli ve ilavesiz süte kefir kültürü inokülasyonu ile gerçekleşen kefir içecekleri kendi aralarında karşılaştırıldığında asetaldehit miktarlarının 1. depolama gününden 20. depolama gününe kadar artış gösterdiği ancak bu değerin 30. depolama gününde hızla azaldığı ve fruktooligosakkarit ilavesinin asetaldehit oluşumunu arttırdığı görülmektedir. Taneyle elde edilen kefir içeceklerinde ise asetaldehit miktarındaki artışların depolamanın 10. gününe kadar gerçekleştiği ve 10. depolama gününden sonra da azalmaya başladığı görülmektedir.

Güzel-Seydim et al. (2000a); kefir kültürü ile ürettikleri kefir içeceğinde fermentasyon süresince aroma bileşiklerini incelemişlerdir. Fermentasyonun 0., 5., 10., 15 ve 22. saatlerinde ve son pH 4,6 oluncaya kadar beklettikleri örneklerde aroma maddelerini belirlemişler ve fermentasyon süresince asetaldehitin arttığını ifade etmişlerdir. Çalışmada, asetaldehit ilk olarak fermentasyonun 10. saatinde belirlenmiş ve 15. saatin sonuna kadar önemli oranda artmıştır. Son konsantrasyonunun ortalama 5 ppm olduğu belirtilmiştir.

Güzel-Seydim et al. (2000b); kefir içeceğinin buzdolabında depolanması süresince aroma maddelerini belirledikleri çalışmalarında, diğer birçok kültürlü süt ürünü olduğu gibi fermentasyon süresince görülen artışın depolama esnasında artarak 2 katına çıktığını ve 21 gün sonra ulaşılan son asetaldehit konsantrasyonunun 11 ppm olduğunu bildirmişlerdir.

Beshkova et al. (2003); kefir taneleri ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* HP1 + *Lactobacillus helveticus* MP12 + *Lactococcus*

lactis subsp. *lactis* C15 + *Streptococcus thermophilus* T15 + *Saccharomyces cerevisiae* A13 kefir starterlerinin fermentasyon ve depolama boyunca karbonil bileşikler oluşumunu incelemiştir. Kefir starterleri tarafından üretilen karbonil bileşik miktarları, tanelerle üretilene göre daha fazla olmuştur. Starterle üretilen kefir içeceklerinde maksimum asetaldehit konsantrasyonu 18,3 ppm iken taneyle elde edilen üründe bu değerin maksimum 9,5 ppm olduğu belirlenmiştir.

Yüksekdağ et al. (2004a); Türk kefir örneklerinden laktik asit bakterisi olarak izole ettiği laktokoklardan toplam 21 coccoid form tespit etmişlerdir. Laktobasillus suşlarının ürettiği asetaldehit konsantrasyonu 0,18 ve 3,96 µg/ml aralığında değişmiştir.

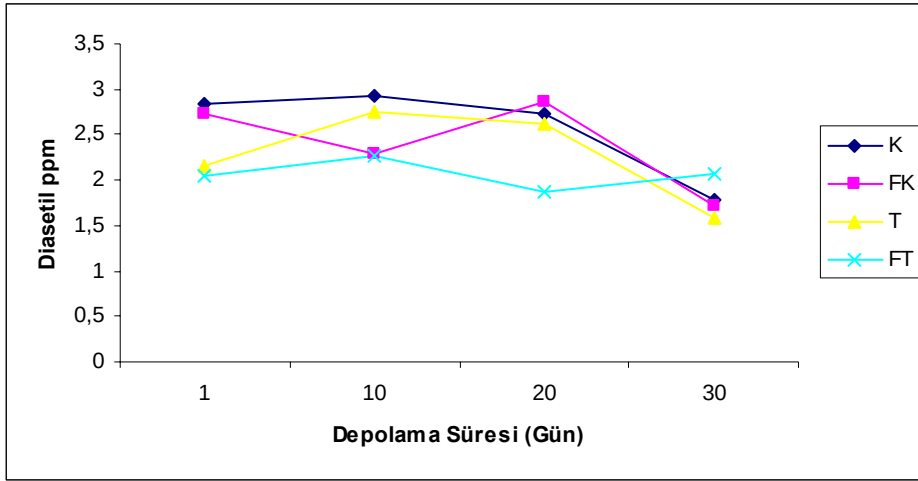
Liu et al. (2002a); soya sütünden üretilen kefir içeceğinde aroma maddeleri üretimini fermentasyonun 0., 8., 16. ve 24. saatlerinde belirlemişlerdir ve soya sütü kefirinde asetaldehit miktarı süt kefirine göre biraz daha yüksek bulunmuştur. Fermentasyon saatleri dikkate alındığında asetaldehit miktarı sırasıyla süt kefirinde 1.63 ppm, 3,47 ppm, 3,44 ppm ve 3,28 ppm olurken soya sütü kefirinde bu değerlerin 3,64 ppm, 3,78 ppm, 4,63 ppm ve 5,28 ppm olduğu görülmüştür.

Karagözlü (1990); ürettikleri kefirde 1., 6. ve 9. depolama günlerinde asetaldehit miktarını sırasıyla 29.5 ppm, 65.0 ppm, 75.0 ppm olarak bulmuştur.

4.4.2.2. Diasetil

Yoğurtta az miktarda bulunan diasetil ve asetoin, yayıkaltı ve kültürle olgunlaştırılmış kremanın karakteristik tat ve aroma maddeleridir. Diasetil ve asetoin, sitratların değişimi yolu ile meydana gelmektedir. Az miktarda da olsa yoğurtta tat ve aroma üzerine etkili olan bu maddenin, özellikle asetaldehit miktarı az olduğu zaman önemi artmaktadır (Yaygın, 1999).

Oligofruktoz ilaveli ve ilavesiz süte tane ve kültür katılmasıyla üretilen kefirlerde 30 günlük depolama süresince diasetil miktarında meydana gelen değişimler Çizelge 4.7. ve Şekil 4.11.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.11. Kefirlerin Diasetil Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi

İlgili çizelgelerden 30 günlük depolama süresinin diasetil oluşumunda önemli olduğu ($P < 0.01$) fakat ürünler arasındaki farklılığın istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir ($P > 0.05$).

Kefir kültürü ile üretilen ürünlerde depolamanın 1., 10. ve 20. gününde diasetil değerleri birbirleriyle benzer olmuş 30. depolama gününde ise düştüğü görülmüştür. En yüksek diasetil miktarına 2.93 ppm ile depolamanın 10. gününde kültürlü kefir içeceğinde rastlanmış olup en düşük diasetil içeriği ise 1.58 ppm ile 30. depolama gününde taneyle üretilen kefir içeceğinde görülmüştür.

Oligofruktoz ilaveli ve ilavesiz süttten kültür ve tane ilavesiyle elde edilen kefir içeceklerinin ortalama diasetil değerleri kültürden üretilen kefir içeceğinde 2.57 ppm, fruktooligosakkarit ilaveli süttten kültürle elde edilen kefir içeceğinde 2.40 ppm, taneden elde edilen kefir içeceğinde 2.28 ppm, fruktooligosakkarit ilaveli süttten taneyle elde edilen kefir içeceğinde 2.07 ppm olduğu görülmektedir (Çizelge 4.7.). Kültürle elde edilen kefir içecekleri kendi aralarında incelendiklerinde diasetil değerlerinin fruktooligosakkarit ilaveli kefirde daha düşük olduğu ancak taneyle elde edilende ise daha yüksek olduğu görülmektedir.

Güzel-Seydim et al. (2000a); starter ile ürettikleri kefir içeceğinde fermentasyon süresince aroma bileşiklerini incelemişlerdir. Fermentasyonun 0., 5., 10., 15 ve 22. saatlerinde, son pH 4,6 oluncaya kadar beklettikleri örneklerde fermentasyon süresince diasetile rastlanmadığını ifade etmişlerdir. Güzel-Seydim et al. (2000b); kefir içeceğinin buzdolabında depolanması süresince de diasetille ilgili herhangi bir veriye rastlamadıklarını bildirmişlerdir.

Tamime and Robinson (1999) benzer şekilde kefir tanesinde ve kültüründe diasetili belirleyememişlerdir.

Beshkova et al. (2003); kefir taneleri ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* HP1 + *Lactobacillus helveticus* MP12 + *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* C15 + *Streptococcus thermophilus* T15 + *Saccharomyces cerevisiae* A13 kefir starterlerinin fermentasyon ve depolama boyunca karbonil bileşikleri oluşumunu incelemişlerdir. Kefir starterleri tarafından üretilen karbonil bileşik miktarları, tanelerle üretilene göre daha fazla olmuştur. En yüksek diasetil üretim aktivitesi, starter kültürle üretimde (1,87 µg/g) olduğu belirtilmiş ve tek başlarına *Streptococcus thermophilus* T15 suşunun (1,62 µg/g), *Lactobacillus helveticus* MP12 suşunun (0,85 µg/g), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* C15'in (0,42 µg/g) diasetil ürettiği görülmüştür. Starter kullanımı ile üretilen kefir içeceğinde fermentasyonun 2. saatinde 0,18 ppm diasetil belirlenmiştir. Taneyle üretilen kefir içeceğinde ise diasetil fermentasyonun 12. saatinde tespit edilmiştir ve onu izleyen 42 saat içinde de bu değerin arttığı görülmüştür.

Araştırmacılar starter kültürlerle elde edilen kefir içeceğinde diasetil oluşumunun sadece sitrat metabolizmasıyla açıklanamayacağını ve diasetilin büyük ihtimalle glikoz katabolizmasının bir ürünü olabileceğini düşünmektedirler (Beshkova et al., 2002).

Liu et al. (2002a); soya sütünden üretilen kefir içeceğinde aroma maddeleri üretimini fermentasyonun 0., 8., 16. ve 24. saatlerinde belirlemişlerdir ve soya sütü kefirinde diasetil miktarı, süt kefirine göre biraz daha düşük bulunmuştur. Fermentasyon saatleri dikkate alındığında diasetil miktarı sırasıyla süt kefirinde 2.60 ppm, 241.10 ppm, 266.47 ppm

ve 253.29 ppm olurken soya sütü kefirinde bu değerlerin 1.53 ppm, 151.90 ppm, 73.09 ppm ve 55.51 ppm olduğu görülmüştür.

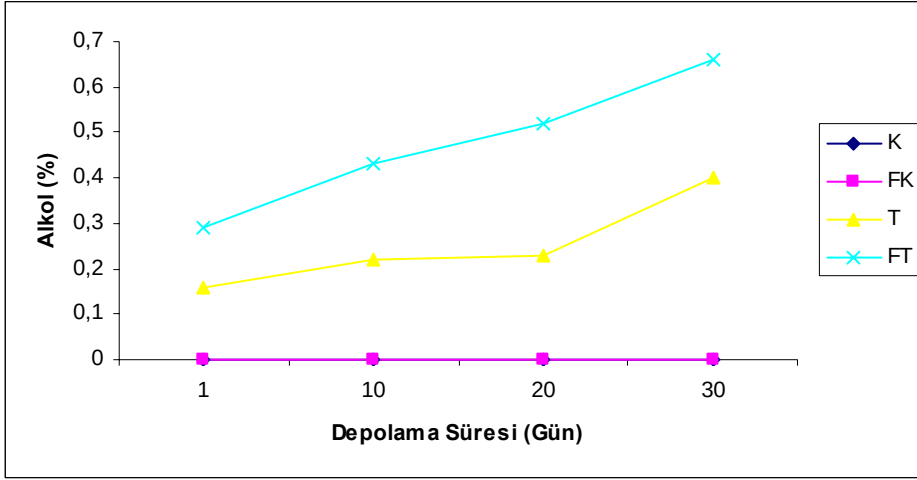
Wszolek et al. (2001); İskoçya ve Polonya’da inek, koyun, keçi sütüne farklı starter kültürlerin katılarak yapıldığı kefir içeceklerinin özelliklerini incelemişler ve diasetil miktarının süt türleriyle ilişkili olarak değiştiğini belirtmişlerdir.

4.4.2.3. Alkol

Maya fermentasyonunun son ürünü olan alkol ve CO₂, kefirin farklı ve ferahlatıcı aromasını oluşturmaktadır. Kefirin alkol içeriğiyle ilgili bilgiler oldukça çeşitlilik (% 0.026-1 gibi) göstermektedir. Daha yüksek alkol içeriğinin maya aromasıyla ilişkili olabileceği, gerçekte kefirin kendine has, olması gereken aromasında çok zayıf maya aroması olması gerektiği bildirilmiştir (Kurman et al., 1992; Marshall and Cole, 1985). Kefirdeki alkol içeriği tanede yada kültürde mevcut bulunan mayanın tipine ve olgunlaşma süresinin uzunluğuna bağlı bulunmaktadır (Tamime, 2006).

Kefirdeki alkol üretiminden öncelikle mayalar sorumludur. Ayrıca bazı laktokok ve laktobasil türlerinin alkol dehidrogenaz aktivitesiyle asetaldehiti etanole çevirdikleri bildirilmiştir. (Imhoff and Bosset, 1994; Imhof et al., 1994; Ott et al., 1999).

Oligofruktoz ilaveli ve ilavesiz süte tane ve kültür katılmasıyla gerçekleştirilen üretimde 30 günlük depolama süresince alkol miktarında meydana gelen değişimler Çizelge 4.7. ve Şekil 4.12.’de gösterilmiştir.



Şekil 4.12. Kefirlerin Alkol Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi

İstatistiksel incelemede, alkol içeriği açısından 30 günlük depolama süresinin önemli olmadığı ($P>0.05$) ancak ürünler arasındaki farklılığın önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$).

Çizelge 4.7. incelendiğinde kültürden elde edilen kefir örneklerinde alkole rastlanmadığı görülmektedir. Ayrıca fruktooligosakkarit ilavesi kefir kültürüyle üretilen ürünlerde alkol oluşumunu etkilememiştir. Taneyle elde edilen kefir içecekleri baz alındığında fruktooligosakkarit ilaveli ürünlerde alkol miktarında artış görülmüştür. 1., 10., 20. ve 30. depolama günlerinde tane ile elde edilen kefir içeceğinde alkol değerlerinin sırasıyla % 0.16, % 0.22, % 0.23, % 0.40 olduğu fruktooligosakkarit ilaveli süttan ile elde edilen kefir içeceğinde bu değerlerin % 0.29, % 0.43, % 0.52 ve % 0.66 olduğu belirlenmiştir. Kefir içeceklerinde alkol oluşumundan başlıca mayaların sorumlu olduğu bilinen bir gerçektir.

Simova et al. (2002) ve Stam et al., (1998), üründe arzu edilen duyuşsal özelliklerin açığa çıkabilmesi için tanede mevcut olan maya sayısının minimum 1×10^5 kob/g olması gerektiğini belirtmişlerdir. Bu bulgu bizim çalışmamızda alkol oluşumunda mayaların etkisini destekler niteliktedir.

Tavlaş (1986); kefir tanesi (% 5) ve kefir kültürü (taneyle elde edilen süzüntüden % 2-3 aşlamayla) kullanılarak üretilen kefirin kalitesi üzerine olgunlaşma koşullarının etkisini araştırmıştır. Çalışmada alkol ve asit oluşumu her iki üretim yönteminde ve olgunlaşma koşulunda artış göstermiş ve alkol miktarının 10^0 C'de olgunlaştırılan kefirlerde 15^0 C'de olgunlaştırılan kefiirlere göre daha yüksek değerlere ulaştığı bildirilmiştir.

Liu and Lin (2000); glikoz, laktoz, sakkaroz ilaveli ve ilavesiz olarak soya sütünden kefir üretimini gerçekleştirmişlerdir. Soya sütüne %1 glikoz ilavesi, laktik asit bakterisi ve maya gelişimini dolayısıyla da laktik asit ve etanol üretimini de teşvik etmiştir.

Liu et al. (2002a); soya sütünden üretilen kefir içeceğinde alkol üretimini fermentasyonun 0., 8., 16. ve 24. saatlerinde belirlemişlerdir ve soya sütü kefirinde alkol miktarı süt kefirine göre daha düşük olmuştur. Fermentasyon saatleri dikkate alındığında alkol değerleri sırasıyla süt kefirinde 35.51 ppm, 522.48 ppm, 853.25 ppm ve 2291.97 ppm olurken soya sütü kefirinde bu değerlerin 14.58 ppm, 633.54 ppm, 1254.06 ppm ve 1223.81 ppm olduğu görülmüştür.

Beshkova et al. (2003); ardışık laktik asit - maya fermentasyonu ile kefir üretimi (A) ile eş zamanlı laktik asit - maya fermentasyonu ile kefir üretimi (B) olmak üzere üretimde 2 farklı yol izlemişlerdir. *Saccharomyces cerevisiae* A13'ün ise %0,48 alkol üretimiyle kefirin tipik maya aromasından sorumlu olduğu görülmüştür. Her iki üretimde de fermentasyonun ilk saatlerinde yüksek alkol içeriği belirlenmiş ve bu değerler son üründe belirgin bir şekilde artış göstermiştir. Kefir A'da etanol miktarı 3975 ppm iken kefir B'de bu değer 2876 ppm olmuştur.

Güzel-Seydim et al. (2000a); kültürle ürettikleri kefir içeceğinde fermentasyon süresince alkol miktarını değerlendirmişlerdir. Fermentasyonun 0., 5., 10., 15 ve 22. saatlerinde, son pH 4,6 oluncaya kadar beklettikleri örneklerde fermentasyonun 5. saatinde çok az miktarda alkol oluştuğunu, 15. saatten sonra önemli bir artış olduğunu ve 22 saat sonunda son ürün konsantrasyonunun % 0.04 olduğunu bildirmişlerdir.

Güzel-Seydim et al. (2000b); kefir içeceğinin buzdolabında depolanması süresince oluşan alkol miktarını incelemişler ve depolamanın ilk gününden 21. gününe kadar alkol miktarının 2 kat arttığı ve 21. günde bu değer % 0.08'e ulaştığı bildirilmiştir.

Wszolek et al. (2001); İskoçya ve Polonya'da inek, koyun, keçi sütüne farklı starter kültürlerin katılarak yapıldığı kefir içeceklerinin özelliklerini incelemişlerdir. Mikrobiyal metabolitlerden etanol süt türleriyle ilişkili olarak değişmiştir.

Karagözlü (1990); gerçekleştirdiği üretimde 1., 6. ve 9. depolama günlerinde kefirdeki alkol miktarını sırasıyla 1365 ppm, 2205 ppm ve 2280 ppm olarak saptamıştır.

4.4.3. Organik Asitler

Süt ürünlerinde organik asitlerin, biyokimyasal metabolik işlemler, bakteri metabolizmaları ve yağ asitlerinin hidrolizi sonucu meydana gelebileceği ifade edilmiştir (Güzel-Seydim et al., 2000b).

Süt ve ürünlerinde bulunan ve bir kısmı da hayvanın biyometabolizması sonucunda ortaya çıkan organik asitlerin meydana gelmesinde esas kaynak yağ, protein ve laktozdur. Diğer bir deyişle, mikrobiyal aktivite ile lipoliz, proteoliz ve glikoliz sonucu oluşan primer ürünlerden çok değişik yapıda serbest organik asitler meydana gelmektedir (Öztek, 1985). Süt ürünlerinde organik asitlerin kantitatif tespiti gerek beslenme gerekse bakteriyel aktivite ve aroma göstergesi olarak önem taşımaktadır. Özellikle fermente süt ürünleri için bu asitler ürünün duyuşal özellikleri yönünden ve doğal koruyucu maddeler olarak olumlu etki göstermektedir (Akalin ve ark., 1998).

Diğer yandan son yıllarda yoğurt ve değişik fermente süt ürünleri tüketiminde görülen anlamlı ve büyük artışlar onların besleyici ve sağlığa elverişli gıdalar olduğu imajına bağlanmaktadır. Örneğin bazı organik asitlerin belirli hastalıkları tedavi edici rol oynadıkları, bu arada laktik asidin yoğurda yeniden bulaşan birtakım patojen bakterilerin inhibisyonunda etkili olduğu belirtilmektedir (Akalin ve ark., 1998).

Kefir üretimi sırasında da fermentasyon sonucu gerek kefirin beslenme değeri gerekse insan sağlığı üzerine ilişkin özelliklerini etkileyen maddeler ortaya çıkmaktadır. Örneğin süt asidi fermentasyonu sonucu oluşan laktik asit kefirin sevilerek tüketilmesi ve ferahlatıcı niteliği yanında antibakteriyel etkisinde de önemli role sahiptir. Kefirde oluşan asetik asit, H_2O_2 gibi maddelerin de patojen bakterilere karşı antagonistik etki gösterdiği bildirilmiştir (Yaygın, 1999). Fermentasyon sırasında meydana gelen diğer organik asitler, kefirin beslenme ve sağlık bakımından bireye sunduğu yararlar açısından etkili olmakta özellikle tat ve aroma ile duyuşsal nitelikler açısından ortamdaki mikrobiyal metabolizmanın açığa çıkması yönünden önem taşımaktadır (Kınık ve ark., 1998).

Çalışmamızda oligofruktozlu ve oligofruktozsuz süte kefir kültürü ve tanesinin aşılınmasıyla elde edilen kefir içeceklerinde organik asit miktarları ile olgunlaşma süresince meydana gelen değişimler Çizelge 4.8.'de toplu olarak ve kefire ve organik asit standartlarına ait kromotogramlar Ek 5 ve Ek 6'da verilmiştir.

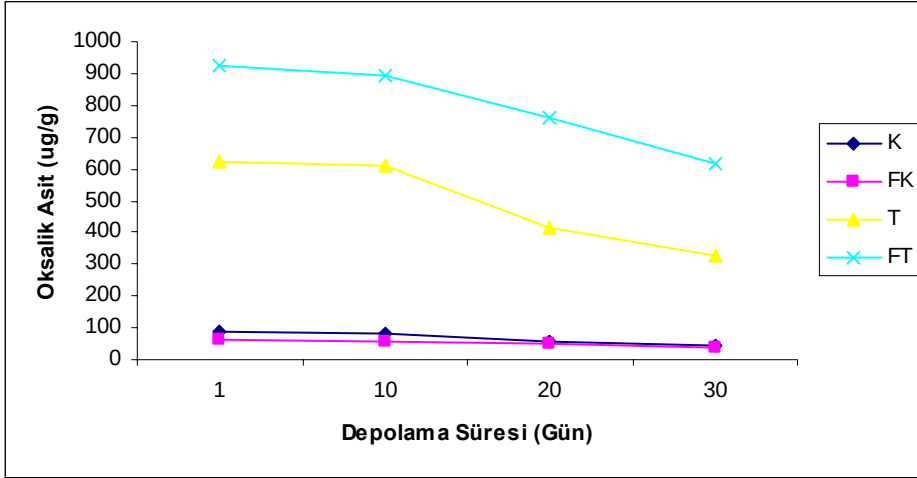
Çizelge 4.8. Kefirde Organik Asitler (n=2)

Organik Asitler ($\mu\text{g/g}$)	Günler	K	FK	T	FT
Oksalik Asit	1	84.99	61.70	622.07	923.37
	10	81.84	57.35	612.45	893.34
	20	55.79	50.87	415.83	761.20
	30	45.09	39.96	329.38	614.08
	Ortalama	66.93	52.47	494.93	798.00

Çizelge 4.8. (devam) Kefirde Organik Asitler (n=2)

Organik Asitler (µg/g)	Günler	K	FK	T	FT
Laktik Asit	1	88495.53	97173.13	122308.10	308966.60
	10	91400.58	101658.28	180809.95	374463.95
	20	100514.13	114429.03	183939.00	410644.81
	30	106005.32	116180.31	187701.56	412906.38
	Ortalama	72753.89	107360.18	168689.65	376745.40
Pirüvik Asit	1	88.79	128.19	923.27	2135.91
	10	88.03	130.30	904.28	2055.00
	20	94.40	128.68	818.77	1903.02
	30	88.01	107.79	717.93	1629.08
	Ortalama	89.81	123.74	841.06	1930.75
Fumarik Asit	1	803.38	960.51	944.03	1032.16
	10	755.96	907.01	898.54	1027.62
	20	668.63	805.76	827.09	987.96
	30	563.11	753.39	775.24	902.78
	Ortalama	697.77	856.67	861.23	987.63
Sitrik Asit	1	1007.32	1893.02	1377.66	2970.23
	10	1091.26	1972.63	1408.57	2971.97
	20	940.47	1809.89	1305.27	2827.69
	30	872.66	1638.21	1245.02	2499.09
	Ortalama	977.93	1828.44	1334.13	2817.25

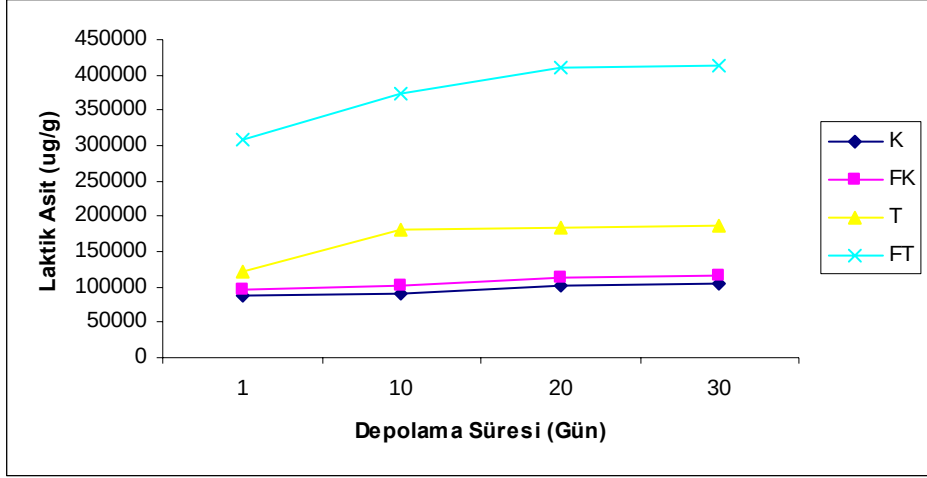
Çizelge 4.8. ve Şekil 4.13.'te oligofruktoz ilaveli ve ilavesiz süte tane ve kültür ilavesiyle üretilen kefirlerde 30 günlük depolama süresince oksalik asit değerlerinde meydana gelen değişimler gösterilmiştir.



Şekil 4.13. Kefirlerin Oksalik Asit Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi

Çizelge 4.8. ürünler açısından incelendiğinde K, FK, T ve FT örneklerinde sırasıyla 84.99; 61.70; 622.07; 923.37 $\mu\text{g/g}$ olan oksalik asit değerlerinin depolamanın 1. gününden başlayarak azaldığı ve 30. depolama gününde en düşük seviyeye ulaştığı belirlenmiştir. K, FK, T ve FT örneklerinde ortalama oksalik asit değerleri sırasıyla 66.93; 52.47; 494.93 ve 798.00 $\mu\text{g/g}$ olarak saptanmıştır. Fruktooligosakkarit ilavesinin oksalik asit oluşumunda taneyle elde edilen kefirlerde artışa sebep olduğu ancak kültürle üretilen ürünlerdeyse azaldığı görülmektedir. Bu durumun tanede ve kültürde bulunan mikroorganizma türlerindeki farklılıktan kaynaklandığı düşünülebilir.

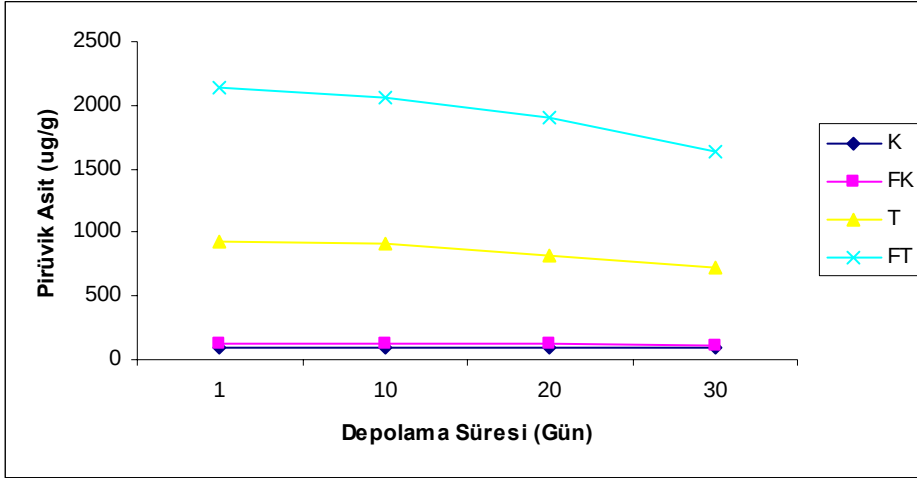
Çizelge 4.8. ve Şekil 4.14.'te oligofruktozlu ve oligofruktozsuz süte tane ve kültür ilavesiyle üretilen kefirlerde 30 günlük depolama süresi boyunca laktik asit değerleri ve meydana gelen değişimler gösterilmiştir.



Şekil 4.14. Kefirlerin Laktik Asit Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi

İlgili çizelgeden de anlaşılacağı üzere ürünler bazında başlangıçta 88495.53; 97173.13; 122308.10 ve 308966.60 $\mu\text{g/g}$ olarak tespit edilen laktik asit içeriğinin depolama süresince arttığı görülmektedir. Tane ve kültürle üretilen ürünler birbirleriyle karşılaştırıldıklarında tane ile elde edilen ürünlerde laktik asit içeriğinin daha fazla olduğu görülmüştür. Ürünler kendi aralarında karşılaştırıldıklarında ise fruktooligosakkarit ilavesinin oluşan laktik asit miktarını arttırdığı görülmektedir. 30 günlük depolama sonunda K, FK, T ve FT örneklerinde ortalama laktik asit miktarları sırasıyla 72753.89; 107360.18; 168689.65 ve 376745.40 $\mu\text{g/g}$ olmuştur.

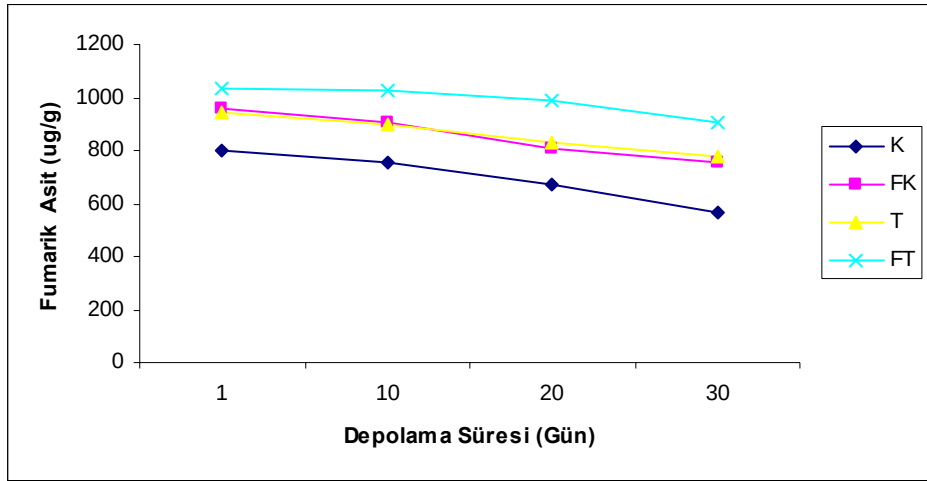
Çizelge 4.8. ve Şekil 4.15.'te kefir tanesi ve kültürüne oligofruktozlu ve oligofruktozsuz sütün katılmasıyla gerçekleştirilen üretimlerde depolama boyunca pürvik asit değerlerinde meydana gelen değişimler gösterilmiştir.



Şekil 4.15. Kefirlerin Pürüvik Asit Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi

Çizelge 4.8. incelendiğinde T ve FT örnekleri 923.27 ve 2135.91 $\mu\text{g/g}$ pürüvik asit değeri ile depolamanın 1. gününde en yüksek değerini almış olup bu değerlerin 30 günlük depolama esnasında azaldığı görülmüştür. Kültürle üretilen örnekler kendi aralarında değerlendirildiklerinde ise K örneği depolamanın 20. gününde 94.40 $\mu\text{g/g}$ pürüvik asit miktarıyla en yüksek değerine ulaşırken FK örneğinin en yüksek değerine 130.30 $\mu\text{g/g}$ ile depolamanın 10. gününde ulaştığı görülmektedir. İlgili çizelgeden ortalama pürüvik asit miktarının K örneğinde 89.81 $\mu\text{g/g}$, FK örneğinde 123.74 $\mu\text{g/g}$, T örneğinde 841.06 $\mu\text{g/g}$ ve FT örneğinde ise 1930.75 $\mu\text{g/g}$ olduğu görülmektedir. Kültürle ve taneyle üretilen kefirler kendi aralarında karşılaştırıldıklarında taneyle üretilen kefirlerde pürüvik asit değerlerinin daha yüksek olduğu ve fruktooligosakkarit ilavesinin pürüvik asit miktarını arttırdığı anlaşılmaktadır.

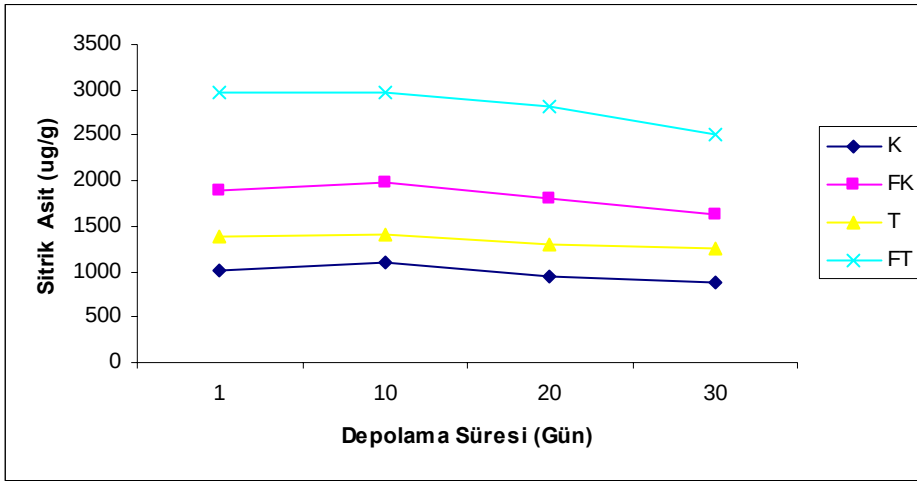
Çizelge 4.8. ve Şekil 4.16.'da oligofruktoz ilaveli ve ilavesiz süte tane ve kültür katımıyla üretilen kefirlerde 30 günlük depolama süresi boyunca fumarik asit değerleri ve bu değerlerde meydana gelen değişimler gösterilmiştir.



Şekil 4.16. Kefirlerin Fumarik Asit Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi

K, FK, T ve FT örnekleri fumarik asit miktarları açısından birbirine benzer sonuçlar vermekle birlikte taneyle üretilen kefirlerin fumarik asit değerlerinin kültürle üretilen kefiirlere kıyasla daha yüksek olduğu ve fruktooligosakkarit ilavesinin bu değerleri arttırdığı ilgili çizelgeden anlaşılmaktadır. 30 günlük depolama süresi boyunca azalan fumarik asit miktarlarının ortalaması kültürle elde edilen kefirlerde 697.77 $\mu\text{g/g}$, fruktooligosakkaritli süttten kültürle elde edilen kefirlerde 856.67 $\mu\text{g/g}$, tane ile elde edilen kefirlerde 861.23 $\mu\text{g/g}$, fruktooligosakkaritli süttten tane ile elde edilen kefirlerde 987.63 $\mu\text{g/g}$ olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.8. ve Şekil 4.17.'de oligofruktozlu ve oligofruktozsuz süte tane ve kültür katılmasıyla elde edilen kefirlerin sitrik asit değerlerinde 30 günlük depolama süresinin etkisi ve meydana gelen değişimler gösterilmiştir.



Şekil 4.17. Kefirlerin Sitrik Asit Değerlerinin Depolama Süresi Boyunca Değişimi

Çizelge 4.8. ürünler açısından incelendiğinde K, FK, T ve FT örneklerinde depolamanın 1. gününde sırasıyla 1007.32; 1893.02; 1377.66; 2970.23 $\mu\text{g/g}$ olan sitrik asit değerlerinin azalarak 30. depolama gününde en düşük seviyeye ulaştığı belirlenmiştir. Ortalama sitrik asit değerleri sırasıyla 977.93 $\mu\text{g/g}$, 1828.44 $\mu\text{g/g}$, 1334.13 $\mu\text{g/g}$ ve 2817.25 $\mu\text{g/g}$ olarak tespit edilmiştir. Pürivik, laktik ve oksalik asitte de olduğu gibi taneyle elde edilen kefirlerdeki sitrik asit değerlerinin kültürle elde edilen kefirlerdeki sitrik asit değerlerine nazaran daha yüksek olduğu ve fruktooligosakkarit ilavesinin sitrik asit oluşumunu arttırdığı

görülmektedir. Bu durumun tanede ve kültürde bulunan mikroorganizma türlerindeki farklılıktan kaynaklandığı düşünülebilir.

Güzel-Seydim et al. (2000a); kültür ilavesiyle gerçekleştirdikleri üretimde fermentasyonun 0., 5., 10., 15 ve 22. saatlerinde ve son pH 4,6 oluncaya kadar beklettikleri örneklerde, organik asit miktarlarını belirlemişlerdir. Fermentasyon süresince orotik, sitrik ve pürivik asitler belli belirsiz çok az miktarda azalırken inkübasyonun 15. saatinde hüpirik asit tamamen uçmuştur. Asetik, propiyonik ve bütirik asitler belirlenmemiştir.

Güzel-Seydim et al. (2000b); kefir içeceğinin buzdolabında depolanması süresince organik asitleri belirledikleri çalışmalarında ise depolama boyunca laktik asit konsantrasyonunun arttığını ve 21. gün sonunda 7739 ppm'e ulaştığını belirtmişlerdir. Orotik ve sitrik asit üretimi depolama esnasında belli belirsiz artarken, 22 saatlik fermentasyon süresinde ortamda olduğu belirlenen hipürük ve pürivik asitler, depolama aşamasında tespit edilememiştir. Asetik, bütirik, propiyonik asit saptanmamıştır.

Kınık ve ark. (1998); kefir üretimi ve depolama sırasında organik asitlerin değişimi üzerine yaptıkları çalışmada, kefir inkübasyonunun 2., 4., 6. ve 8. saatleri ile depolamanın 24. ve 48. saatlerinde örneklerdeki organik asit miktarlarını belirlemişlerdir. Kefir yapımı sırasında fermentasyonun 6. saatine kadar pürivik, süksinik ve propionik asitlerin arttığını ve daha sonra depolama boyunca azaldığını, ürik asidin ise

önemli bir değişim göstermezken orotik ve sitrik asit miktarlarının hem fermentasyon hem de depolama süresince azaldığını tespit etmişlerdir.

Akalın ve ark. (1998); yoğurt üretimi ve depolanması sırasında organik asitlerin belirlenmesi üzerine yaptıkları çalışmalarında, inkübasyonun 1., 2., 3. saatleri ile 14 günlük depolama boyunca organik asit değerlerini tespit etmişlerdir. Yoğurt yapımı ve muhafazası sırasında organik asitlerden laktik, asetik ve propionik asitlerin arttığı orotik asidin ise azaldığı belirlenmiştir. Pürivik asit maksimum konsantrasyonuna inkübasyonun 3. saatinde ulaşmış ve depolama sırasında düşmüştür. İnkübasyon sırasında azalan ürik ve sitrik asit miktarının depolamada önemli bir değişim göstermediği saptanmıştır.

4.5.Kefirlerin Mikrobiyolojik Özellikleri

4.5.1.Antimikrobiyal Aktivite

Oligofruktoz ilaveli ve ilavesiz süte kefir kültürü ve kefir tanesinin katılmasıyla elde edilen kefir içeceklerinin *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aureginosa* ve *Escherichia coli*'ye karşı göstermiş oldukları antimikrobiyal aktiviteleri ve 30 günlük depolama süresince bu değerlerde meydana gelen değişimler Çizelge 4.9.'da toplu olarak verilmiştir. Şekil 4.18., oligofruktoz ilaveli ve ilavesiz süte kefir tanesi ve kefir kültürünün katılmasıyla gerçekleştirilen üretimlerde kefir içeceklerinin *Salmonella* spp. türlerine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite ile 30 günlük depolama süresince bu değerlerde meydana gelen değişimleri göstermektedir.

Çizelge 4.9. Kefirlerin Antimikrobiyal Aktiviteleri

Kefirde Antimikrobiyal Aktivite	Günler	K (R')	FK (R')	T (R')	FT (R')
<i>Salmonella typhimurium</i>	1	1.00±0.00	0.92±0.04	1.03±0.05	1.00±0.06
	10	0.97±0.05	0.97±0.05	0.98±0.04	0.80±0.40
	20	1.00±0.00	1.07±0.05	0.93±0.05	0.98±0.08
	30	0.98±0.04	1.03±0.05	0.98±0.08	0.97±0.05
	Ortalama	0.99	1.00	0.98	0.94
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1.00±0.00 ^a	1.08±0.04 ^a	0.70±0.36 ^b	0.95±0.06 ^a
	10	0.93±0.19 ^a	0.97±0.18 ^a	0.82±0.45 ^b	0.96±0.12 ^a
	20	0.97±0.08 ^a	1.02±0.04 ^a	0.88±0.04 ^b	0.97±0.05 ^a
	30	0.93±0.10 ^a	1.05±0.06 ^a	0.75±0.38 ^b	0.98±0.08 ^a
	Ortalama	0.96	1.03	0.79	0.97
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1.00±0.16 ^{A*}	1.02±0.04 ^{A*}	1.12±0.12 ^{A*}	1.12±0.10 ^{A*}
	10	0.95±0.16 ^{B*}	1.07±0.10 ^{B*}	0.82±0.45 ^{B*}	1.00±0.06 ^{B*}
	20	0.98±0.04 ^{A*}	1.10±0.13 ^{A*}	1.10±0.06 ^{A*}	1.12±0.08 ^{A*}
	30	0.98±0.13 ^{AB*}	1.03±0.05 ^{AB*}	1.03±0.05 ^{AB*}	1.10±0.09 ^{AB*}
	Ortalama	0.98	1.06	1.02	1.09
<i>Escherichia coli</i>	1	0.92±0.04 ^{Ab}	1.00±0.17 ^{Aab}	1.03±0.05 ^{Ab}	1.05±0.11 ^{Aa}
	10	0.88±0.16 ^{Bb}	0.72±0.56 ^{Bab}	0.55±0.44 ^{Bb}	1.07±0.05 ^{Ba}
	20	0.97±0.08 ^{Ab}	1.03±0.10 ^{Aab}	0.88±0.04 ^{Ab}	1.03±0.12 ^{Aa}
	30	0.92±0.04 ^{Ab}	1.00±0.19 ^{Aab}	0.88±0.08 ^{Ab}	1.05±0.06 ^{Aa}
	Ortalama	0.92	0.94	0.84	1.05

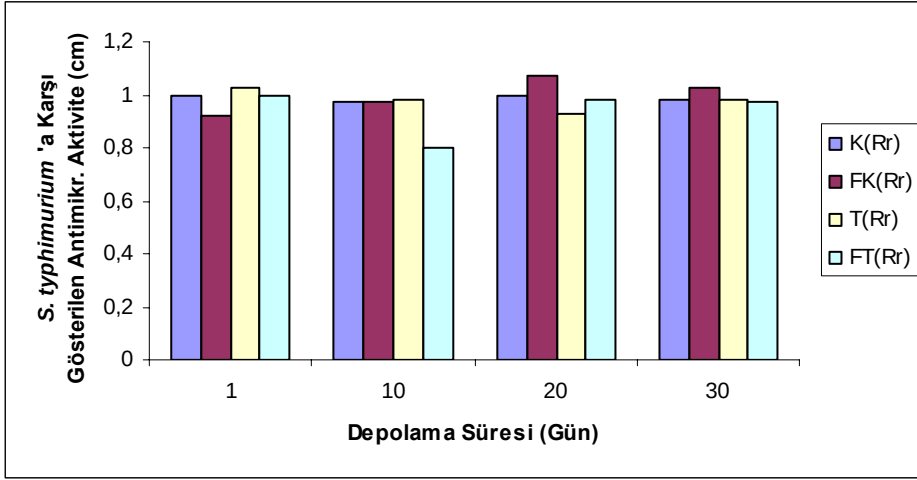
(1) A,B,C,D: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler P<0.01 ve P<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır.

(2) a, b, c, d : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler P<0.01 ve P<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır.

* : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler sadece P<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır.

R: Ölçülen çap (cm)

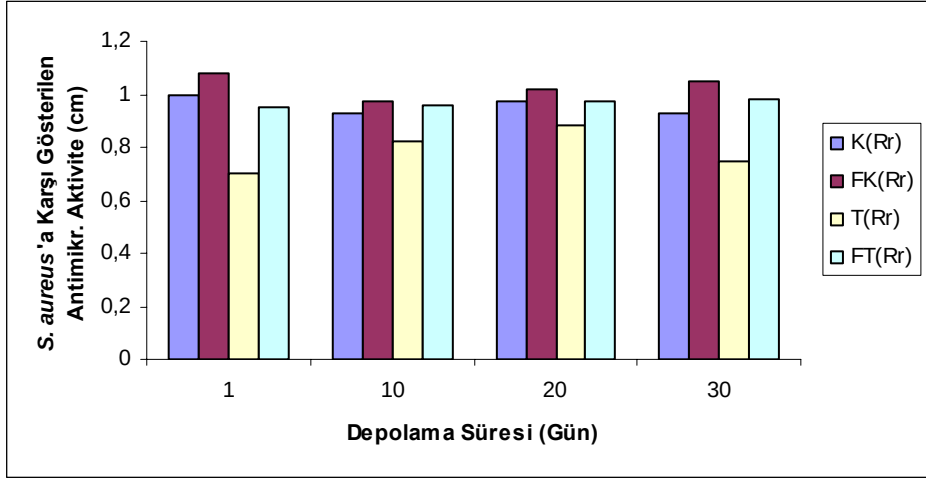
r: Disk çapı (6 mm)



Şekil 4.18. Kefirlerin *Salmonella typhimurium*'a Karşı Gösterdiği Antimikrobiyal Aktivitenin Depolama Süresi Boyunca Değişimi

Araştırma verilerine göre yapılan istatistiksel değerlendirme, ürün çeşitleri arasında ve depolama süresi boyunca kefir içeceklerinin meydana getirdiği antimikrobiyal aktivitenin *Salmonella typhimurium*'un inhibisyonu açısından önemli olmadığını göstermiştir ($P>0.05$). Çizelge 4.9. incelendiğinde, gerek kültürle elde edilen ürünler arasında gerekse taneyle elde edilen ürünler arasında fruktooligosakkarit ilavesinin ürünün antimikrobiyal özelliklerini etkilemediği ayrıca tane veya kültürle üretilen ürünlerin de birbirinden farklılık göstermediği görülmüştür. Çalışmada en büyük zon çapı 1.07 cm ile oligosakkarit ilaveli süttten kültürle üretilen kefir içeceğinin 20. gün depolamasında görülmüştür. En küçük değer ise 0.80 cm'lik zon çapıyla fruktooligosakkarit ilaveli süttten taneyle üretilen kefir içeceğinde depolamanın 10. gününde olmuştur. Ürün bazında ortalamalar dikkate alındığında *Salmonella*'ya karşı oluşturulan ortalama zon çapı K örneğinde 0.99 cm, FK örneğinde 1.00 cm, T örneğinde 1.00 cm ve FT örneğinde 0.94 cm olarak saptanmıştır.

Şekil 4.19.'da, 4 farklı şekilde üretilen kefir içeceklerinin *Staphylococcus aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivitesinin ve depolama süresinde bu değerlerde meydana gelen değişimler görülmektedir.



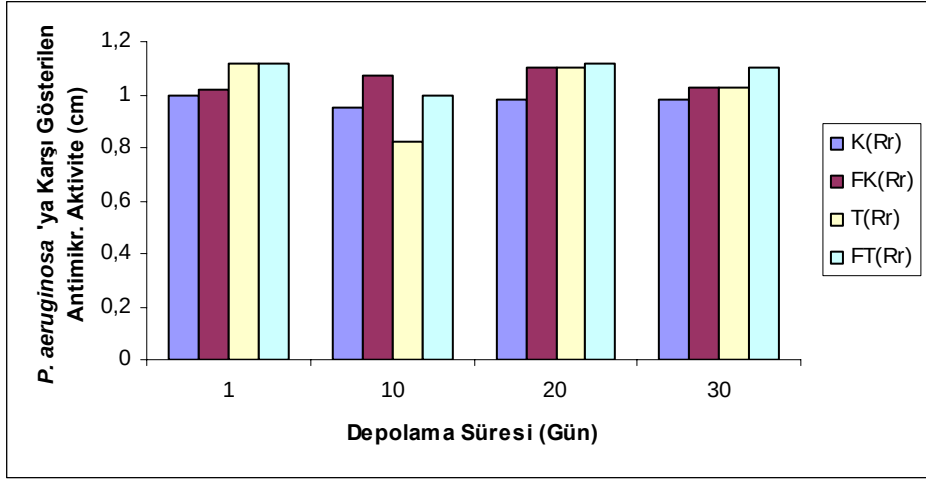
Şekil 4.19. Kefirlerin *Staphylococcus aureus*'a Karşı Gösterdiği Antimikrobiyal Aktivitenin Depolama Süresi Boyunca Değişimi

Yapılan varyans analizi ve Duncan testine göre *Staphylococcus aureus*'a karşı 30 günlük depolama süresinin kefirin antimikrobiyal aktivitesinde herhangi bir değişime neden olmadığı ve istatistiksel açıdan önemsiz olduğu belirlenmiştir ($P>0.05$). Ancak fruktooligosakkarit ilaveli ve ilavesiz süte, kefir kültürü ve tanesi katılarak üretilen ürünler arasında antimikrobiyal aktivitenin ($P<0.01$) düzeyinde önemli olduğu görülmektedir. Kültürle üretilen ürünler arasında istatistiki açıdan fark olmamakla birlikte fruktooligosakkarit ilaveli süttten kültürle üretilen kefir içeceğine ait zon çaplarının daha büyük olduğu görülmektedir. Aynı şekilde taneyle üretilen kefir içeceklerinde de en büyük zon çapının

fruktooligosakkarit ilaveli ürünlerde olduğu ve bunun kültürle elde edilen ürünlerle benzerlik gösterdiği görülmektedir.

Çalışmada en büyük zon çapı 1.08 cm ile oligosakkarit ilaveli süttten kültürle üretilen kefir içeceğinin 1. gün depolamasında görülmüştür. En küçük değer ise 0.70 cm'lik zon çapıyla taneyle üretilen kefir içeceğinde depolamanın 1. gününde olmuştur. Ürün bazında ortalamalara bakıldığında ise en yüksek antimikrobiyal aktivitenin 1.03 cm zon çapıyla fruktooligosakkarit ilaveli süttten kültürle üretilen kefirlerde görüldüğü en düşük antimikrobiyal aktivitenin ise 0.79 cm zon çapıyla taneyle üretilen kefirlerde görüldüğü anlaşılmaktadır.

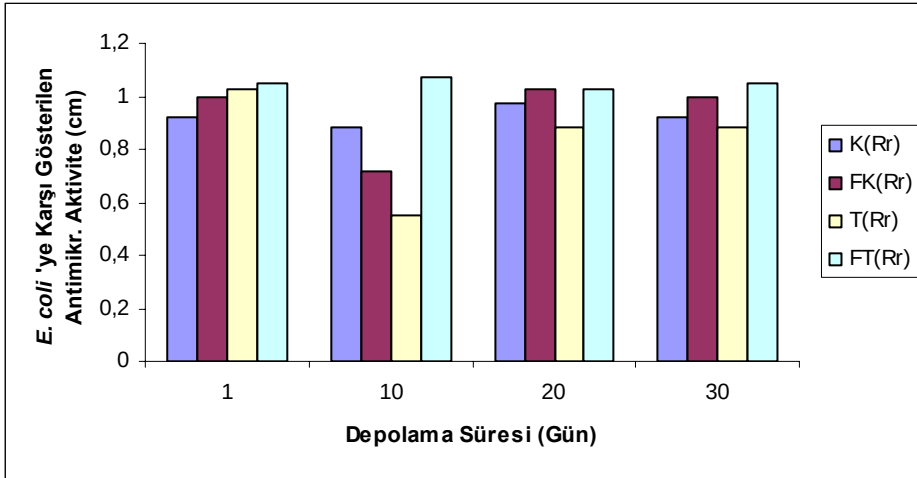
Şekil 4.20.'de, süte ve oligofruktoz ilaveli süte kefir tanesi ve kefir kültürünün ilavesiyle üretilen kefir içeceklerinin *Pseudomonas aeruginosa*'a karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktivite ve depolama süresince bu değerlerde meydana gelen değişimler görülmektedir.



Şekil 4.20. Kefirlerin *Pseudomonas aeruginosa*'ya Karşı Gösterdiği Antimikrobiyal Aktivitenin Depolama Süresi Boyunca Değişimi

İstatistiksel analiz sonucunda 30 günlük depolama süresinin *Pseudomonas aeruginosa*'a karşı kefirin antimikrobiyal aktivitesinin önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.01$). Ancak fruktooligosakkarit ilaveli ve ilavesiz süttten, kefir kültürü ve tanesi katılarak üretilen ürünler arasında antimikrobiyal aktivitenin önemli olmadığı görülmüştür ($P > 0.05$). Çizelge 4.9. incelendiğinde kültürle üretilen ürünler arasında istatistiki açıdan fark olmamakla birlikte fruktooligosakkarit ilaveli kültürden üretilen kefir içeceğine ait zon çaplarının daha büyük olduğu görülmektedir. Aynı şekilde taneyle üretilen kefir içeceklerinde de en büyük zon çapının fruktooligosakkarit ilaveli ürünler olduğu ve bunun kültürle elde edilen ürünlerle benzerlik gösterdiği görülmektedir. Çalışmada en büyük zon çapının 1.12 cm en küçük zon çapının ise 0.82 cm olduğu görülmektedir.

Şekil 4.21., 4 farklı kefir içeceğinin *Escherichia coli*'e karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite ve 30 günlük depolama süresince bu değerlerde meydana gelen değişimler görülmektedir.



Şekil 4.21. Kefirlerin *Escherichia coli*'e Karşı Gösterdiği Antimikrobiyal Aktivitenin Depolama Süresi Boyunca Değişimi

Araştırma verileri, *Escherichia coli*'e karşı gerek ürün çeşitleri arasında gerekse depolama süresi boyunca kefir içeceklerinin gösterdiği antimikrobiyal aktivitenin ($P < 0.01$) düzeyinde önemli olduğunu göstermektedir. Genel olarak incelendiğinde en düşük zon çapının 10. günde olduğu diğer depolama günlerinin birbirleriyle benzer olup daha yüksek zon çapı oluşturduğu görülmektedir.

Oligosakkarit ilaveli süttan taneyle üretilen kefir içeceğinin 10. gün depolamasında 1.07 cm ile en büyük zon çapının oluştuğu görülmüştür. En küçük değer ise 0.55 cm'lik zon çapıyla taneyle üretilen kefir içeceğinde depolamanın 10. gününde olmuştur. Ürün bazında ortalamalar

incelendiğinde antimikrobiyal aktivitenin K örneğinde 0.92 cm, FK örneğinde 0.94 cm, T örneğinde 0.84 cm ve FT örneğinde 1.05 cm olduğu görülmektedir.

Çalışmalar, *Lactobacillus acidophilus* LB ve LA1'in, ürettiği antimikrobiyal madde ile *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter* suşlarını inhibe ettiğini göstermiştir (Saarela, 2000; Gürsoy, 2005; Shah, 2001).

Kefir florasında yer alan laktik asit bakterilerinin; laktik asit, H₂O₂ ve antibiyotik üretme güçleri patojen mikroorganizmaların gelişmelerini önleyici etki yaratmaktadır. Oluşan laktik asidin ortam pH'sını düşürerek diğer bakterilerin gelişmesini inhibe ettiği, H₂O₂'nin bağırsak patojenlerine karşı antagonistik etki yarattığı ve asetik asitin de antibakteriyel etki gösterebildiği bildirilmiştir. Kefir, Gram(-) organizmalara karşı daha yüksek bakteriyostatik etkiye sahipken Gram(+) organizmalara karşı daha iyi bakterisidal etki göstermektedir (Lopitz-Otsoa et al.,2006; Çevikbaş et al.1994; Angulo et al.,1993).

Kefirin antagonistik etkisinin, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Yersinia enterocolitica* ve *Salmonella enteritis* gibi bakterilere karşı olduğu belirtilmiştir (Sarkar, 2007). Santos et al. (2003); kefir tanelerinden izole edilen Laktobasil türlerinin *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*,

Salmonella enteritis, *Shigella flexneri* ve *Yersinia enterocolitica* gibi patojenlere karşı antagonistik etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Kefirin antimikrobiyal aktivitesi fermentasyon süresine bağlı olmaktadır. Rodrigues et al. (2005) tarafından agar difüzyon metodu kullanılarak yapılan bir çalışmada, kefirin test edilen mikroorganizmalara (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* ve *Escherichia coli*) karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve en yüksek aktivitesinin *Streptococcus pyogenes*'e karşı olduğu belirtilmiştir (Sarkar, 2007; Rodrigues et al., 2005; Zubillaga et al., 2001; Lopitz-Otsoa et al., 2006). Çalışmada ayrıca farelerde *Staphylococcus aureus* ile enfekte edilmiş yara üzerine %70'lik kefir jelinin skatrizan etkisi araştırılmış ve clostebolneomisin antibiyotik emilsiyonundan daha iyi yara iyileşmesi sağladığı görülmüştür.

Etöz (2006); kefirde izole edilen laktik asit bakterileri ve mayaların bazı patojen bakteriler üzerine göstermiş olduğu inhibitör aktivitelerinin belirlenmesi üzerine çalışmış ve bu amaçla kefir örneklerinden izole edilen *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Leuconostoc cremoris*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Candida kefir*, *Candida famata* türlerinin antimikrobiyal aktivitelerini araştırmıştır. Klinik, peynir ve süt örneklerinden izole edilen 20 *Staphylococcus*, 13 *Salmonella*, 3 *Shigella*, 22 *Klebsiella*, 11 *Enterobacter*, 6 *Hafnia*, 4 *Citrobacter*, 2 *Pseudomonas*, 2 *Proteus*, 1 *Listeria*, 2 *Serratia*, 4 *Escherichia*, 1 *Aeromonas* olmak üzere toplam 91 patojen bakteriyi indikatör olarak kullanmıştır. Kefirden

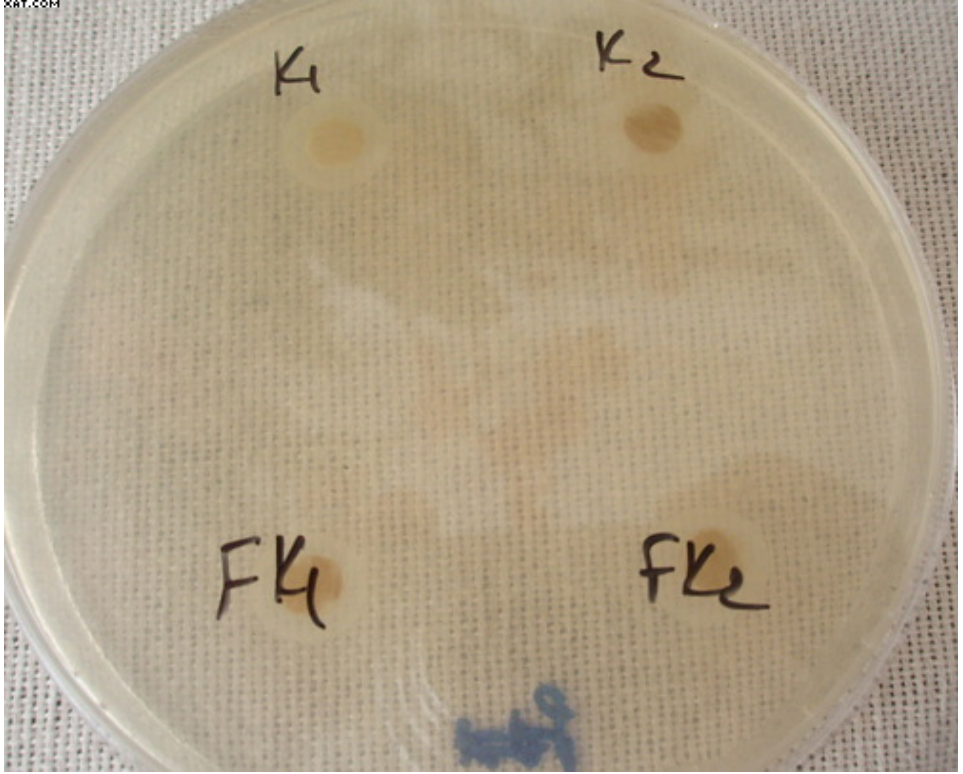
izole edilen *Candida* türleri ve laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal aktiviteleri kuyu difüzyon metodu ile test edilmiştir. *Candida famata* ve *Candida kefir* mayalarının, en etkin inhibitör aktiviteyi *Staphylococcus* türleri üzerinde gösterdiğini, *Candida kefir*'in *Candida famata*'ya oranla tüm izolatlarda daha etkin inhibitör aktivite oluşturduğunu, *Candida kefir* ve *Candida famata*'nın tüm *Klebsiella pneumoniae* izolatları üzerinde inhibitör etki gösterdiği belirtilmiştir. *Candida kefir* ve *Candida famata*'nın *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* ve *Salmonella typhimurium* türlerine karşı oluşturdukları zon çapı 6 mm ile 18 mm arasında değişmiş ve 2 *Salmonella choleraesuis* izolatından yalnız birinde inhibitör zonu tesbit edilmiştir. *Candida kefir* ve *Candida famata*'nın *Pseudomonas putida*, *Shigella flexneri*, *Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae* ve *Proteus mirabilis* üzerine inhibitör etkileri tespit edilmiş ancak *Listeria monocytogenes*, *Shigella sonnei* izolatlarında inhibitör zonu oluşmamıştır. Bazı *Escherichia* suşlarında *Candida kefir* ve *Candida famata* mayalarının inhibitör etkisi gözlemlenmiştir. *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* bakterilerinin *Staphylococcus*, *Listeria*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Serratia*, *Escherichia*, *Aeromonas* izolatları üzerinde büyük inhibitör zonu tespit etmiştir. *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* bakterileri tüm patojenler üzerinde benzer antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Kefirden izole edilen, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Leuconostoc cremoris* bakterileri tüm patojenler üzerinde antimikrobiyal aktivite göstermiş, *Lactobacillus delbrueckii* subsp.

bulgaricus bakterisinin en etkin antimikrobiyal aktiviteyi *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus* üzerinde gösterdiği belirtilmiştir. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Leuconostoc cremoris* bakterileri *Pseudomonas putida* izolatları üzerinde çok düşük enzim aktivitesi göstermiştir. *Leuconostoc cremoris*, *Staphylococcus* izolatlarında etkin inhibitör aktivite göstermiştir.

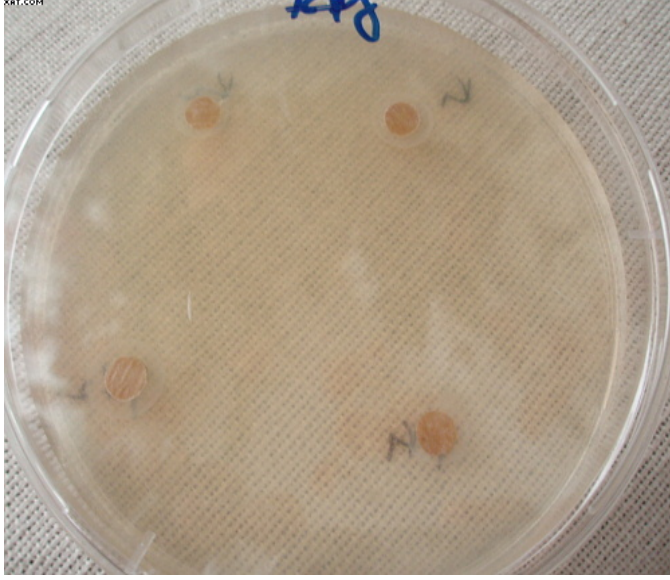
Ulusoy et al. (2007); kefirin gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyal etkisi üzerine yaptığı in vitro çalışmada disk difüzyon metodunu kullanmıştır. Bu amaçla 24 ve 48 saat fermentasyona bırakılmış kefir örneklerinin *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) ve *Escherichia coli*'ye (ATCC 8739) karşı gösterdikleri antimikrobiyal etki incelenmiştir. 24 ve 48 saatlik kefirin gösterdiği en kuvvetli antimikrobiyal etkinin 21.4 ve 21.1 mm'lik etki alanı yarıçaplarıyla *Staphylococcus aureus*'a karşı olduğu gözlenmiş olup + 4 °C'de muhafaza süresi boyunca 1., 4., ve 7. günlerde de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Depolama boyunca, antimikrobiyal etki değişmezken yada azalırken sadece *Salmonella enteritidis*'te artış görülmüştür.

Yüksekdağ et al. (2004a); Türk kefir örneklerinden laktik asit bakterisi olarak izole ettiği laktokoklardan toplam 21 coccoid form tespit etmişlerdir. İdentifikasyon sonucunda, 21 laktokok izolatu olarak *Lactococcus cremoris* (11 suş), *Lactococcus lactis* (4 suş), *Streptococcus thermophilus* (3 tür), *Streptococcus durans* (3 tür) belirlenmiştir. Laktokokların antimikrobiyal etkileri *Escherichia coli*

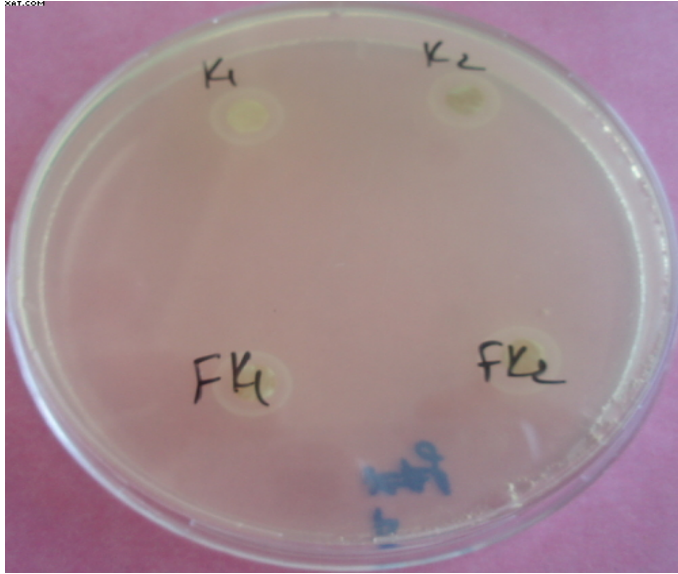
NRLL B-704, *Staphylococcus aureus* 4-63, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 29212 üzerinde agar difüzyon yöntemiyle incelenmiştir. *Lactococcus lactis* Z1S,Z2S ve *Lactococcus cremoris* Z6S suşları *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'yı inhibe edebilirken *Staphylococcus aureus*'u tüm suşların inhibe ettiği görülmüştür. Ayrıca *Streptococcus thermophilus* Z5S suşu da *Pseudomonas aeruginosa*'yı inhibe edebilmektedir.



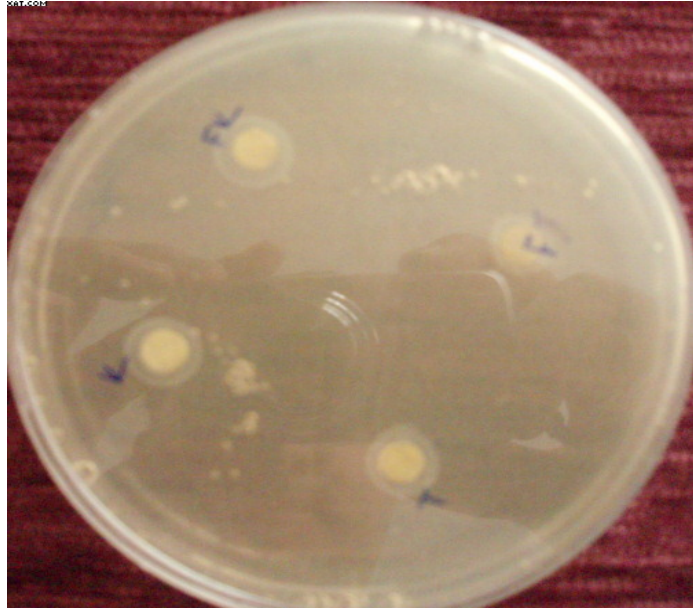
Resim 4.1. Kültürle Üretilen Kefirlerde Antimikrobiyal Aktivite (arkadan görünüş)



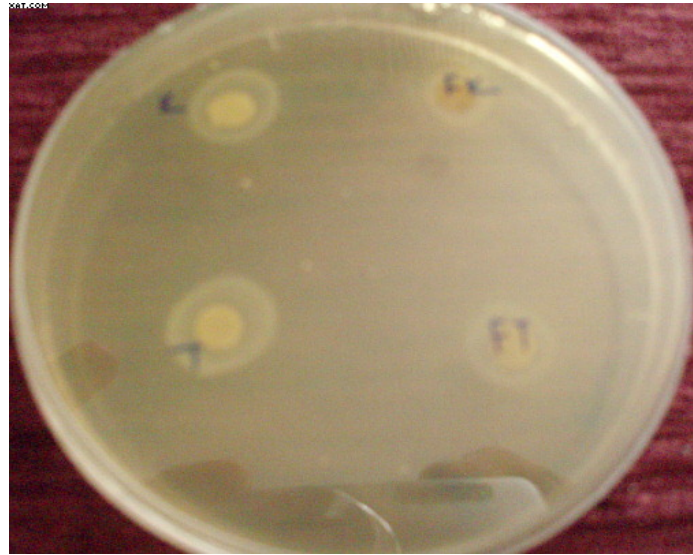
Resim 4.2. Kültürle Üretilen Kefirlerde Antimikrobiyal Aktivite (önden görünüş)



Resim 4.3. Kültürle Üretilen Kefirlerde Antimikrobiyal Aktivite (*Pseudomonas aeruginosa*'da floresans oluşumu)



Resim 4.4. Kültürle ve Taneyle Kefir retiminde Antimikrobiyal Aktivite



Resim 4.5. Kültürle ve Taneyle Kefir retiminde Antimikrobiyal Aktivite

4.5.2. Mikrobiyolojik Sayımlar

Süte ve oligofruktoz ilaveli süte kefir kültürü ve kefir tanesi katılmasıyla üretilen kefir içeceklerinin mikrobiyolojik özellikleri ve olgunlaşma süresince meydana gelen değişimler Çizelge 4.10.'da toplu olarak verilmiştir.

Çizelge 4.10. Kefirlerin Mikrobiyolojik Özellikleri

Mikrobiyolojik Analizler	Gün	K	FK	T	FT
Laktobasil Sayısı (10 ⁸ kob/ml)	1	1.7±0.17 ^A	1.4±3.27 ^A	1.2±8.80 ^A	0.6±3.04 ^A
	10	1.4±9.44 ^A	1.3±4.93 ^A	1.7±8.25 ^A	0.8±2.63 ^A
	20	0.6±5.90 ^B	0.6±3.39 ^B	0.6±2.36 ^B	0.6±2.75 ^B
	30	0.3±1.48 ^B	0.7±3.17 ^B	0.7±0.67 ^B	0.8±0.78 ^B
	Ort.	1.0	1.0	1.1	0.7
Laktokok Sayısı (10 ⁸ kob/ml)	1	1.6±11.09 ^{Ba*}	2.1±4.09 ^{Ba*}	1.6±9.39 ^{Bab*}	0.8±3.78 ^{Bb*}
	10	3.1±27.36 ^{Aa*}	2.8±3.29 ^{Aa*}	2.0±12.62 ^{Aab*}	1.5±3.98 ^{Ab*}
	20	1.0±4.93 ^{Ba*}	1.3±6.80 ^{Ba*}	0.4±0.57 ^{Bab*}	0.8±4.13 ^{Bb*}
	30	1.0±6.97 ^{Ba*}	1.3±5.75 ^{Ba*}	0.4±0.41 ^{Bab*}	0.4±0.89 ^{Bb*}
	Ort.	1.7	1.9	1.1	0.9
Leukonostok Sayısı (10 ⁸ kob/ml)	1	0.3±1.39 ^B	0.1±0.49 ^B	1.4±7.32 ^B	0.5±4.30 ^B
	10	2.1±15.86 ^A	1.2±7.99 ^A	1.9±11.05 ^A	1.1±4.42 ^A
	20	0.6±4.32 ^B	1.1±6.77 ^B	0.5±0.44 ^B	0.5±1.75 ^B
	30	0.3±1.5 ^B	0.1±0.23 ^B	0.5±0.197 ^B	0.4±0.423 ^B
	Ort.	0.8	0.6	1.1	0.6

Çizelge 4.10 (devam). Kefirlerin Mikrobiyolojik Özellikleri

Mikrobiyolojik Analizler	Gün	K	FK	T	FT
Asetik Asit Bakterileri Sayısı (10 ⁸ kob/ml)	1	0.4± 0.05 ^{Db}	0.4± 0.03 ^{Db}	1.7±0.05 ^{Da}	1.6± 0.16 ^{Da}
	10	0.5±0.05 ^{Cb}	0.5±0.06 ^{Cb}	1.9±0.22 ^{Ca}	2.0± 0.08 ^{Ca}
	20	0.6±0.02 ^{Bb}	0.5±0.04 ^{Bb}	2.2±0.18 ^{Ba}	2.4±0.09 ^{Ba}
	30	0.9±0.09 ^{Ab}	0.7±0.07 ^{Ab}	2.8±0.13 ^{Aa}	3.0±0.09 ^{Aa}
	Ort.	0.6	0.5	2.2	2.3
Maya-Küf Sayısı (kob/ml)	1	3.3±0.84 ^{B*b}	3.3±0.84 ^{B*b}	3.0.10 ⁵ ±120.99 ^{B*b}	6.3 x 10 ⁵ ±104.56 ^{B*b}
	10	2.4x10 ² ±3.68 ^{B*b}	6.7 x 10 ² ±8.91 ^{B*b}	9.1 x 10 ⁵ ±131.62 ^{B*b}	9.9 x 10 ⁵ ±222.84 ^{B*b}
	20	2.2 x 10 ³ ±14.56 ^{AB*b}	2.2 x 10 ⁴ ±7.04 ^{AB*b}	1.4 x 10 ⁶ ±206.1 ^{AB*b}	3.8 x 10 ⁷ ±212.7 ^{AB*b}
	30	6.3 x 10 ⁵ ±10.76 ^{A*b}	9.9 x 10 ⁵ ±32.15 ^{A*b}	2.1 x 10 ⁷ ±388.6 ^{A*b}	5.2 x 10 ⁷ ±144.24 ^{A*b}
	Ort.	1.6 x 10⁵	2.5 x 10⁵	6.0 x 10⁶	2.3 x 10⁷

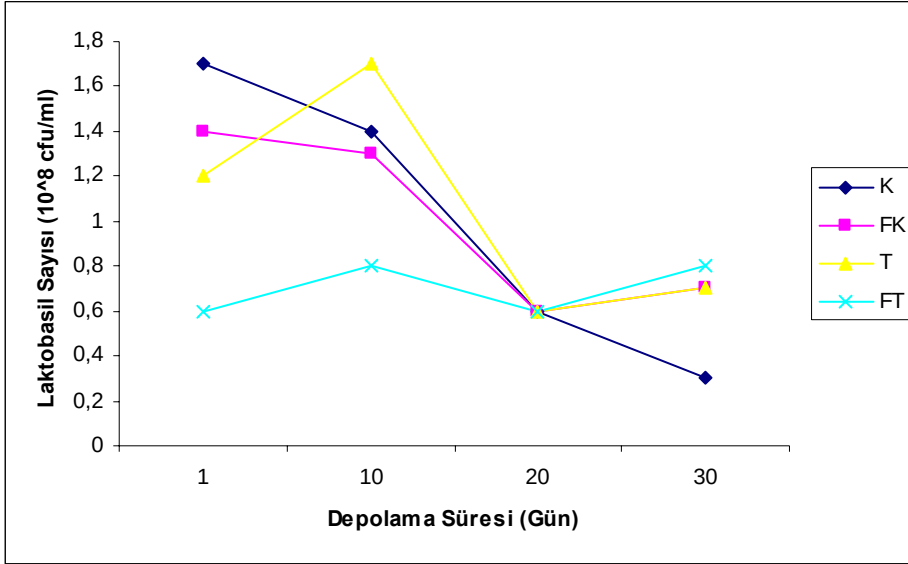
(1) A,B,C D: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler P<0.01 ve P<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır.

(2) a, b, c, d : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler P<0.01 ve P<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır.

* : Aynı satırda yada aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler sadece P<0.05 düzeyinde birbirinden farklıdır.

4.5.2.1. Laktobasil Sayısı

Oligofruktoz ilaveli ve ilavesiz süte tane ve kültür ilavesiyle elde edilen kefirlerde 30 günlük depolama süresince meydana gelen değişimler Çizelge 4.10. ve Şekil 4.22.'de gösterilmiştir. Ayrıca laktobasil kolonilerinin besiyerinde gelişimi ise Resim 4.6.'da verilmiştir.



Şekil 4.22. Depolama Süresi Boyunca Kefirlerin Laktobasil Sayılarında Meydana Gelen Değişimler

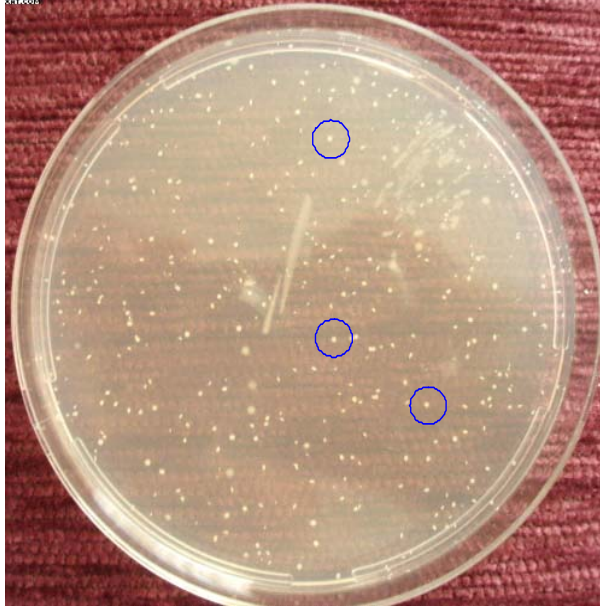
Uygulanan varyans analizi ve Duncan testine göre 30 günlük depolama süresinin laktobasil sayım sonuçlarında değişime neden olduğu ve bu değişimin ($P < 0.01$) düzeyinde istatistiksel açıdan etkili olduğu belirlenmiştir. Ancak yine aynı istatistiki çalışma, ürünler bazında incelendiğinde fruktooligosakkarit ilavesinin ve kefir tanesi yada kefir kültürü kullanımının ($P > 0.05$) düzeyinde önemli olmadığını da göstermiştir.

Çizelge 4.10. incelendiğinde, K örneğinde, 1. depolama gününde $1,7 \times 10^8$ kob/ml ve 10. depolama gününde $1,4 \times 10^8$ kob/ml olan laktobasil sayılarının 20. depolama gününden itibaren $0,6 \times 10^8$ kob/ml'e gerilediği ve depolamanın sonuna kadar da laktobasil sayılarının $0,3 \times 10^8$ kob/ml'e azaldığı görülmüştür. FK örneğinin içerdiği laktobasil sayısı K örneği ile

benzer şekilde olup 1. ve 10. gündeki laktobasil sayıları ile 20. ve 30. gündeki laktobasil sayıları kendi aralarında benzer bulunmuştur. Çizelge 4.2. ve Çizelge 4.10. birlikte incelendiğinde başlangıçta süte inoküle edilen kültürde $2,2 \times 10^9$ kob/ml olan laktobasil sayısının kefir içeceğinde $1,7 \times 10^8$ kob/ml iken fruktooligosakkaritli kefir içeceğinde $1,2 \times 10^8$ kob/ml olduğu görülmektedir.

Taneyle elde edilen kefir örnekleri incelendiğinde, T örneğinde 1. depolama gününde $1,2 \times 10^8$ kob/ml olan laktobasil sayısı 10. depolama gününde sayıca artmakla birlikte istatistiki olarak aynı kalmış fakat 20. depolama gününden itibaren laktobasil sayıları $0,5 \times 10^8$ kob/ml'e gerilemiş ve depolamanın sonunda da $0,7 \times 10^8$ kob/ml olmuştur. FT örneğinde ise laktobasil sayıları, depolamanın başından sonuna kadar $0,6 \times 10^8$ – $0,8 \times 10^8$ kob/ml aralığında değişmiştir. Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.10. birlikte incelendiğinde başlangıçta süte inoküle edilen kefir tanesinde $1,3 \times 10^8$ kob/g olan laktobasil sayısının taneyle elde edilen kefir içeceğinde $1,2 \times 10^8$ kob/ml, fruktooligosakkarit ilaveli süttten tane ile elde edilen kefir içeceğinde $0,6 \times 10^8$ kob/ml'e gerilediği ve $0,8 \times 10^8$ kob/ml olan en yüksek düzeyine depolamanın 10. gününde ulaştığı görülmüştür.

Kılıç et al. (1999); kefir tanesi ve kültürle yapılan kefirlerin olgunlaşması sırasında mikrobiyolojik özelliklerini incelemişler ve kefir içeceğinin mikroorganizma konsantrasyonu bakımından üretimden itibaren 3 gün içerisinde tüketilebileceği sonucuna varmışlardır. Çalışmalarında *Laktobacillus* sayılarını tane ile ürettikleri kefir içeceğinde $3,93 \times 10^7$ kob/ml olarak belirlerken kültürden ürettikleri kefir içeceğinde ise $3,34 \times 10^7$ kob/ml olarak bulmuşlardır.



Resim 4.6. Kefirde Bulunan Laktobasillerin Petri Kutusunda Görünümü

Güzel-Seydim et al. (2005); kefir taneleri ve içeceğindeki mikrobiyal dağılımı incelemişlerdir. İçecekteki toplam laktik asit bakterilerinin fermentasyon boyunca artış gösterdiği ve soğuk depolamada da artışların önemsiz derecelerde bulunduğu ve ortalama laktobasil sayısı $9,05 \log_{10}$ kob/ml olarak ifade edilmiştir.

Simova et al. (2002); kefir tanesinden ve süzöntüsünden elde ettiği kefir içeceğinde 24 saat sonra homofermantatif laktobasil sayılarını sırasıyla 8×10^6 kob/ml ve 2×10^6 kob/ml olarak bulmuşlardır.

Beshkova et al. (2002); gerçekleştirdikleri kefir üretiminde fermentasyon ve olgunlaşma süresince, saf kültürle üretilen kefirlerde laktobasil sayılarının 10^{11} kob/ml'ye ulaştığını bildirmişlerdir.

Irigoyen et al. (2005); %1 ve %5 taneyle elde ettikleri kefir içeceklerinde depolamanın 2. gününde laktobasil sayılarını 10^8 kob/ ml olarak tespit etmişlerdir. %1 tane ile aşılanan kefir örneklerinde laktobasil sayısının daha yüksek olduğu görülmüştür.

Garrote et al. (1998); süte %1, %10, %20, %50, %100 oranında tane katarak gerçekleştirdikleri kefir üretiminde laktobasil sayılarını katılan % tane oranına göre sırasıyla $3,0 \times 10^8$ kob/ml, $3,2 \times 10^8$ kob/ml, $3,5 \times 10^8$ kob/ml, $6,3 \times 10^8$ kob/ml, $3,6 \times 10^8$ kob/ml olarak bulmuşlardır.

Garrote et al. (1997); -80°C , -20°C , $+4^\circ\text{C}$ gibi farklı koşullar altında 120 gün boyunca depolanan kefir tanelerinde laktobasil sayılarının değişimini incelemişler ve normalde kefir tanesinde bulunan laktobasil sayısı 159×10^7 kob/g iken bu değer -80°C 'de saklanan tanelerde $123,3 \times 10^7$ kob/g, -20°C 'de saklanan tanelerde $162,9 \times 10^7$ kob/g, $+4^\circ\text{C}$ 'de saklananlarda ise $558,4 \times 10^7$ kob/g olmuştur. Bu tanelerden elde edilen kefir ieğinde ise laktobasil sayıları sırasıyla $30,00 \times 10^9$ kob/g, $20,40 \times 10^9$ kob/g, $0,31 \times 10^9$ kob/g olarak tespit edilmiştir.

Liu and Lin (2000); glikoz, laktoz, sakkaroz ilaveli ve ilavesiz olarak soya sütünden kefir üretimini gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada soya sütüne taneler eklendikten hemen sonra laktobasil sayıları süte oranla daha yüksek olmuştur. Soya sütüne %1 glikoz ilavesi laktobasil sayısının gelişimini teşvik ettiği belirtilmiştir.

Bottazzi et al. (1994) ve Rea et al. (1996)'nın yaptıkları çalışmalarda, kefir tanesindeki laktobasil sayıları 10^6 - 10^9 kob/g, kefir kültüründeki laktobasil sayıları 10^8 - 10^9 kob/ml olarak bulunmuştur.

Witthuhn et al. (2004); Güney Afrika'nın 8 farklı bölgesinden elde ettikleri kefir tanelerinde bakteri türleri sayısının minimum $6,4 \times 10^4$ kob/ml ve maksimum $8,5 \times 10^8$ kob/ml olduğunu bildirmişlerdir.

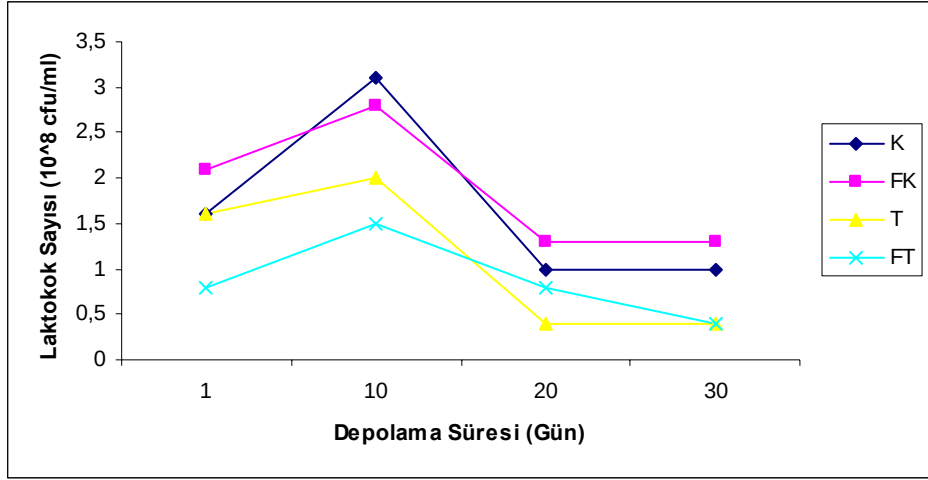
Abraham and Antoni (1999); inek ve soya sütüne tane katarak elde ettikleri kefirlerde 20 saat sonra mikrobiyal gelişime bakmışlar ve laktobasil sayılarının inek sütünden elde edilen kefir içeceğinde $1,2 \times 10^7$ - $1,4 \times 10^8$ kob/g aralığında değişim gösterirken soya sütünden elde edilen kefir içeceğinde $5,0 \times 10^7$ - $1,3 \times 10^8$ kob/g olduğunu belirtmişlerdir.

Marquina et al. (2002); fare bağırsaklarındaki mikrobiyal faaliyette diyetle alınan kefirin etkisinin incelendiği çalışmada kefir tanesindeki laktobasil sayısını $9,2 \log_{10}$ kob/ml olarak bildirmişlerdir.

Figler et al. (2006); fekal mikroflorada Macaristan probiyotik kefirinin etkileri üzerine yaptıkları çalışmada kontrol grubunda laktobasil sayısı $0,15 \times 10^6$ kob/ml iken probiyotik özellikli kefirde bu değer $1,48 \times 10^6$ kob/ml olmuştur.

4.5.2.2. Laktokok Sayısı

Süte ve oligofruktoz ilaveli süte kefir tanesi ve kefir kültürü katımıyla elde edilen kefir içeceklerinde laktokok sayım sonuçları ve 30 günlük depolama süresince meydana gelen değişimler Çizelge 4.10. ve Şekil 4.23.'te gösterilmiştir. Ayrıca laktokok kolonilerinin besiyerinde gelişimi ise Resim 4.7.'de verilmiştir.



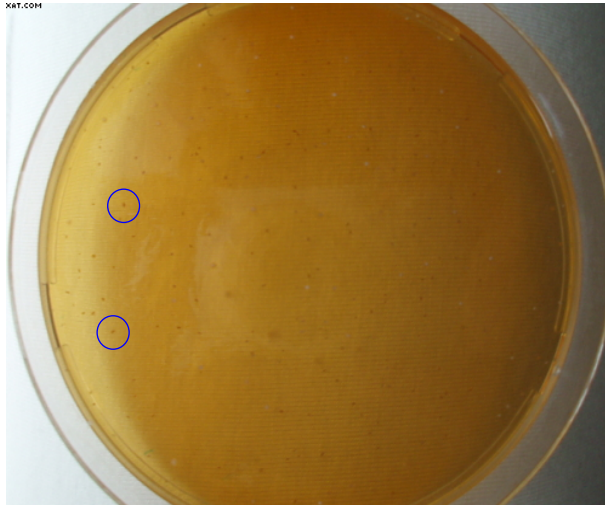
Şekil 4.23. Depolama Süresi Boyunca Kefirlerin Laktokok Sayılarında Meydana Gelen Değişimler

Araştırma verilerine göre uygulanan varyans analizi ve Duncan testine göre yapılan istatistiksel değerlendirme, ürün çeşitlerinde laktokok sayıları arasındaki farkın ($P < 0.05$) düzeyinde, depolama süresi boyunca kefir içeceklerinde meydana gelen laktokok sayıları arasındaki farkın ise ($P < 0.01$) düzeyinde önemli olduğunu göstermiştir.

Çizelge 4.10. incelendiğinde, K ve FK örneklerinde, 1. depolama gününde sırasıyla $1,6 \times 10^8$ ve $2,1 \times 10^8$ kob/ml olan laktokok sayılarının 10. depolama gününde $3,1 \times 10^8$ ve $2,8 \times 10^8$ kob/ml'e yükseldiği görülmektedir. Ancak laktokok sayısının 10. depolama gününden sonra azaldığı ve 30. depolama gününde sırasıyla $1,0 \times 10^8$ kob/ml ve $1,3 \times 10^8$ kob/ml olduğu görülmüştür. Taneden elde edilen kefir içeceğinde ise 10. depolama gününe kadar $1,6 \times 10^8$ kob/ml'den $2,0 \times 10^8$ kob/ml'e artan laktokok sayılarının 20. depolama gününden itibaren $0,4 \times 10^8$ kob/ml'e düştüğü görülmüştür. Tüm örnekler birlikte incelendiğinde 10. depolama

gününde 1. depolama gününe göre laktokok sayısında artış olmakla birlikte özellikle fruktooligosakkarit ilave edilen süttan tane ile üretilen kefir içeceğinde bu artışın diğerlerine göre 10 kat fazla olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.10. birlikte incelendiğinde, başlangıçta süte inoküle edilen tanede $2,1 \cdot 10^7$ kob/g olan laktokok sayısının taneden elde edilen kefir içeceğinde $1,6 \times 10^8$ kob/ml'e arttığı, fruktooligosakkaritli taneden elde edilen kefir içeceğinde $0,8 \times 10^8$ kob/ml olduğu ve laktokok sayısındaki artışın daha kısıtlı olduğu görülmektedir. Benzer şekilde kefir kültüründe belirlenen laktokok sayıları $1,5 \times 10^{10}$ kob/ml olarak bulunmuş iken kefir içeceklerinde bu sayının $1,6 \times 10^8$ kob/ml'ye düştüğü depolama sürecinde laktokok sayıları azalma eğilimi göstermekle birlikte sayılarının örneklerde benzer düzeylerde kaldığı ilgili çizelge ve şekilde görülmektedir.



Resim 4.7. Kefirde Bulunan Laktokokların Petri Kutusunda Görünümü

Kılıç et al. (1999); kefir tanesi ve starter kültürle ürettikleri kefirlerde 5 günlük olgunlaşma süresince inceledikleri mikrobiyolojik özelliklerinde, *Laktococcus* sayılarını tane ile ürettikleri kefir içeceğinde $5,07 \times 10^7$ kob/ml, kültürden ürettikleri kefir içeceğinde ise $4,70 \times 10^7$ kob/ml olarak bulmuşlardır.

Güzel-Seydim et al. (2005); kefir taneleri ve içeceğindeki toplam laktokok sayılarının fermentasyon esnasında arttığını ancak soğuk depolamadaki artışların önemsiz olduğunu ve ortalama laktokok sayısının $8,87 \log_{10}$ kob/ml bildirmişlerdir.

Simova et al. (2002); kefir tanesinden ve süzöntüsünden elde ettikleri kefir içeceğinde mezofilik streptokok sayılarını sırasıyla 8×10^9 kob/ml ve 6×10^9 kob/ml olarak bulurken termofilik streptokok sayılarını 3×10^6 kob/ml ve 4×10^6 kob/ml olarak bulmuşlardır.

Beshkova et al. (2002); yaptıkları çalışmada fermentasyon ve olgunlaşma süresince, saf kültürle üretilen kefirlerde laktokok sayılarını 10^{11} kob/ml olarak tespit etmişlerdir.

Irigoyen et al. (2005); kefir tanelerini %1 ve %5 oranında süte aşılamışlar ve üretimin 2. günde laktokoklar 10^8 kob/ ml'e ulaştığı saptanmıştır.

Garrote et al. (1998); süte %1, %10, %20, %50, %100 oranında tane katarak gerçekleştirdikleri kefir üretiminde laktokok sayılarını katılan % tane katım oranına göre sırasıyla $22,9 \times 10^8$ kob/ml, $19,6 \times 10^8$ kob/ml, $15,8 \times 10^8$ kob/ml, $4,0 \times 10^8$ kob/ml, $0,2 \times 10^8$ kob/ml olarak bulmuşlardır.

Garrote et al. (1997); -80°C , -20°C , $+4^{\circ}\text{C}$ gibi farklı koşullar altında 120 gün boyunca sakladığı kefir tanelerinde laktokok sayılarına bakmış ve normalde kefir tanesinde bulunan laktokok sayısı $1,64 \times 10^7$ kob/g iken bu değer -80°C 'de saklanan tanede $24,7 \times 10^7$ kob/g, $+4^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan tanede $18,1 \times 10^7$ kob/g olmuş ve -20°C 'de saklanan tanede laktokok belirlenememiştir. Bu tanelerden elde edilen kefir içeceğinde ise laktokok sayıları sırasıyla $30,00 \times 10^9$ kob/g, $35,00 \times 10^9$ kob/g, $0,31 \times 10^9$ kob/g olmuştur.

Liu and Lin (2000); glikoz, laktoz, sakkaroz ilaveli ve ilavesiz olarak soya sütünden kefir üretimini gerçekleştirmişler ve soya sütüne taneler ilave edildikten hemen sonra laktokok sayıları süte oranla daha yüksek bulunmuştur.

Bottazzi et al. (1994) ve Rea et al. (1996)'nın yaptıkları çalışmalarda kefir tanesindeki laktokok sayılarını 10^6 kob/g, kefir kültüründeki sayısını ise 10^8 - 10^9 kob/ml olarak bulmuşlardır.

Abraham and Antoni (1999); inek ve soya sütünden taneyle elde ettikleri kefirlerde laktokok sayılarını inek sütünden elde edilen kefir içeceğinde $1,0 \times 10^6$ - $1,3 \times 10^7$ kob/g aralığında değişim gösterirken soya sütünden elde edilen kefir içeceğinde $1,3 \times 10^7$ - $2,9 \times 10^7$ kob/g olduğunu belirtmişlerdir.

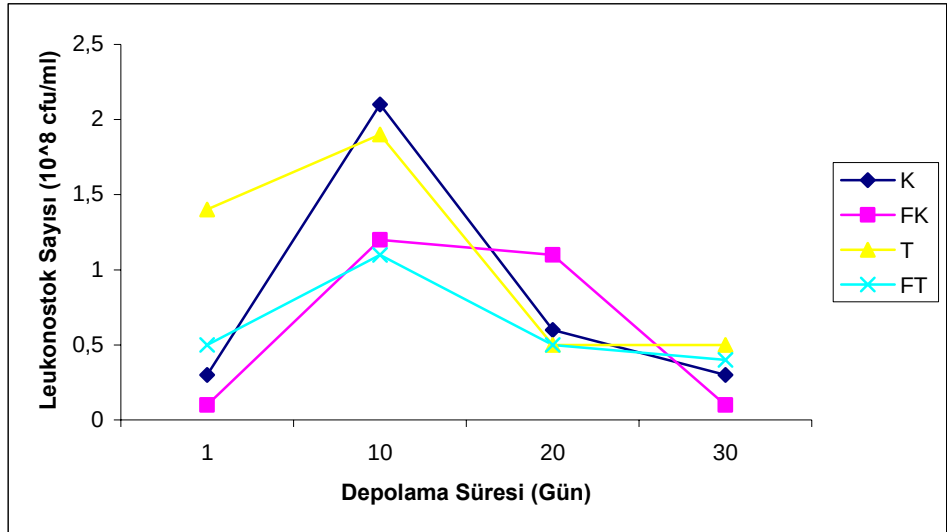
Marquina et al. (2002); fare bağırsaklarındaki mikrobiyal faaliyette diyetle alınan kefirin etkisinin incelendiği çalışmada kefir tanesindeki laktokok sayısını $1,1 \log_{10}$ kob/ml olarak bildirmişlerdir.

Figler et al. (2006); fekal mikroflorada Macaristan probiyotik kefirinin etkileri üzerine yaptıkları çalışmada kontrol grubunda laktokok

sayısı $165,00 \times 10^6$ kob/ml iken probiyotik özellikli kefirde bu değer $227,50 \times 10^6$ kob/ml olmuştur.

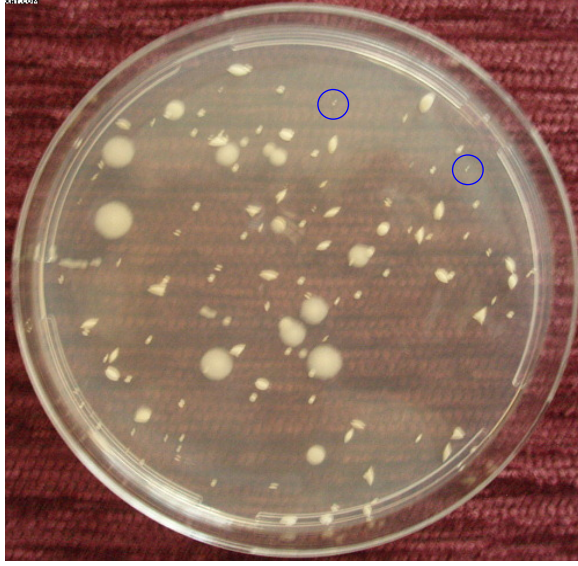
4.5.2.3. Leukonostok Sayısı

Tane ve kültürün süt yada oligofruktozlu süte ilavesiyle elde edilen kefirlerde 30 günlük depolama süresince meydana gelen değişimler Çizelge 4.10. ve Şekil 4.24.'te gösterilmiştir. Ayrıca leukonostok kolonilerinin besiyerinde gelişimi Resim 4.8. ve 4.9.'da verilmiştir.



Şekil 4.24. Depolama Süresi Boyunca Kefirlerin Leukonostok Sayılarında Meydana Gelen Değişimler

İstatistiksel değerlendirme, ürün çeşitlerinde leukonostok sayıları arasındaki farkın ($P > 0.05$) düzeyinde önemsiz olduğu ancak depolama süresi boyunca kefir içeceklerinde meydana gelen leukonostok sayıları arasındaki farkın ise ($P < 0.01$) düzeyinde önemli olduğunu göstermiştir.



Resim 4.8. Kefirde Bulunan Leukonostokların Petri Kutusunda Görünümü



Resim 4.9. Leukonostok Besiyerinde Gelişen Şüpheli Kolonilerin Arginin Broth'ta (Mor Renk Oluşumu) Görünümü

K, FK, T ve FT örneklerinde leukonostok sayıları sırasıyla $2,1 \times 10^8$; $1,2 \times 10^8$; $1,9 \times 10^8$ ve $1,1 \times 10^8$ kob/ml olarak depolamanın 10. gününde en yüksek değerine ulaşmış olarak bulunmuş ve diğer depolama günlerindeki leukonostok sayıları ise birbirleriyle benzer ancak 10. depolama gününden farklı ve düşüş olduğu görülmüştür (Çizelge 4.10.). Ayrıca taneyle ve kültürle elde edilen kefir içecekleri kendi aralarında karşılaştırıldığında fruktooligosakkarit ilavesinin leukonostok gelişimini olumsuz etkilediği ve taneyle elde edilen kefir içeceğindeki leukonostok sayısının kültürle elde edilene oranla sayıca daha yüksek olduğu saptanmıştır.

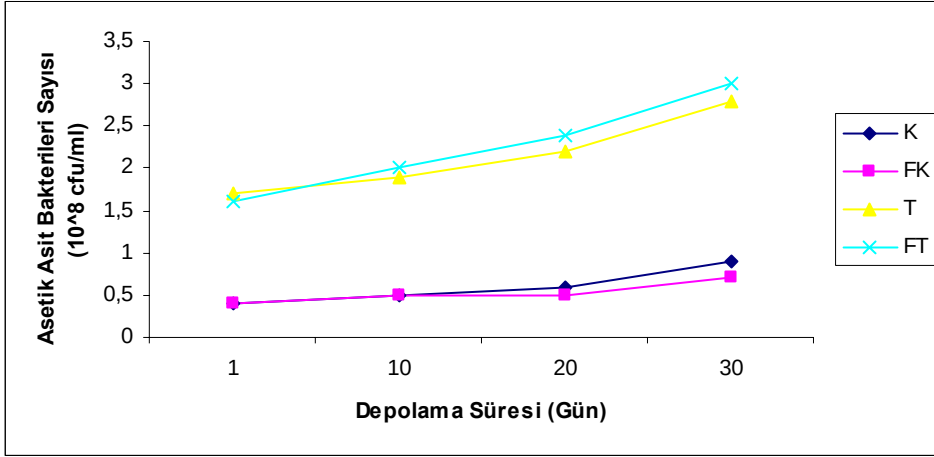
Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.10. birlikte incelendiğinde başlangıçta süte inoküle edilen tanede $1,7 \times 10^8$ kob/g olan leukonostok sayısının taneyle üretilen kefir içeceğinde 1. gün depolama sonunda $1,4 \times 10^8$ kob/ml olduğu görülmektedir. Leukonostok sayısının en yüksek değerine ulaşıldığı depolamanın 10. gününde ise bu değer $1,9 \times 10^8$ kob/ml olmuştur. Kefir kültüründe $9,4 \times 10^8$ kob/ml olan leukonostok sayısı kültürle üretilen kefir içeceğinde $0,3 \times 10^8$ kob/ml olarak saptanmıştır (Çizelge 4.2.).

Bottazzi et al. (1994) ve Rea et al. (1996)'nın yaptıkları çalışmalarda kefir tanesindeki leukonostok sayıları 10^6 kob/g, kefir kültüründeki sayıları ise 10^8 kob/ml olarak bulunmuştur.

4.5.2.4. Asetik Asit Bakterileri Sayısı

Oligofruktoz ilaveli ve ilavesiz süte tane ve kültür ilavesiyle gerçekleştirilen üretimde kefirlerdeki asetik asit bakteri sayısında 30

günlük depolama süresince meydana gelen değişimler Çizelge 4.10. ve Şekil 4.25.'te gösterilmiştir. Asetik asit bakterileri kolonilerinin besiyerinde gelişimi Resim 4.10.'da verilmiştir.

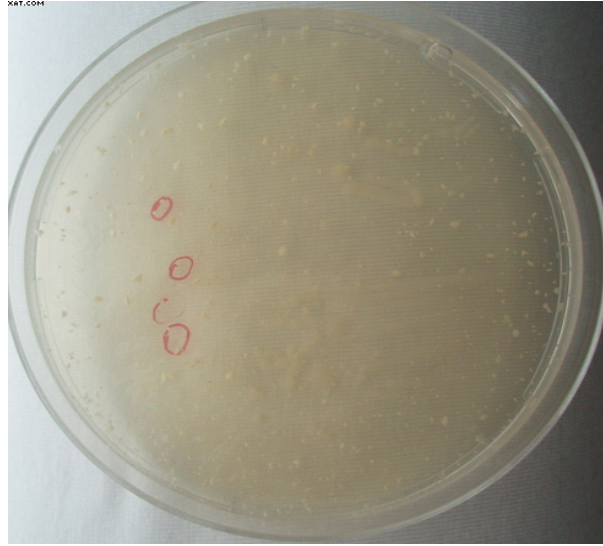


Şekil 4.25. Depolama Süresi Boyunca Kefirlerin Asetik Asit Bakterileri Sayısında Meydana Gelen Değişimler

Araştırma verilerine göre uygulanan varyans analizi ve Duncan testine göre yapılan istatistiksel değerlendirme; ürün çeşitleri arasındaki asetik asit bakterileri sayısı ile depolama süresi boyunca kefir içeceklerinde asetik asit bakterileri sayısı arasındaki farklılığın önemli olduğunu göstermiştir ($P < 0.01$).

Çizelge 4.10. incelendiğinde, depolamanın başından sonuna kadar asetik asit bakteri sayısının arttığı ve en yüksek seviyesine depolamanın 30. gününde geldiği görülmektedir. Ürünler açısından değerlendirildiğinde kültürle elde edilen ürünlerin kendi aralarında taneyle elde edilen ürünlerin de kendi aralarında benzer olduğu ancak

taneyle elde edilen kefir içeceklerindeki asetik asit bakteri sayılarının kültürle elde edilen kefir içeceklerinden daha yüksek olduğu görülmektedir. rn bazında ortalama asetik asit bakteri sayıları incelenecek olursa bu değerlerin K rneğinde $0,6 \times 10^8$ kob/ml, KF rneğinde $0,5 \times 10^8$ kob/ml, T rneğinde $2,2 \times 10^8$ kob/ml ve FT rneğinde $2,3 \times 10^8$ kob/ml olduğu görülmektedir.



Resim 4.10. Kefirde Bulunan Asetik Asit Bakterilerinin Petri Kutusundaki Görünümü

Çizelge 4.3. ve izelge 4.10. birlikte incelendiğinde başlangıçta süte inoküle edilen tanede $1,9 \times 10^9$ kob/g olan asetik asit bakterilerinin sayısı taneyle üretilen kefir içeceğinde depolamanın başlangıcında $1,7 \times 10^8$ kob/ml olmuştur. Kefir kültüründe $1,5 \times 10^7$ kob/ml olan asetik asit bakterileri sayısının kültürle üretilen kefir içeceğinde $0,4 \times 10^8$ kob/ml olduğu ise ilgili çizelgeden görülmektedir.

Taneden, taneden elde edilen süzüntüden ve kefir kültüründen kefir içeceği üretilmiş ve asetik asit bakteri sayıları sırasıyla $25 \times 10^1 - 1 \times 10^5$ adet/ml, $2,5 \times 10^4 - 6 \times 10^5$ adet/ml, $2 \times 10^5 - 6 \times 10^7$ adet/ml olarak bulunmuştur (Karagözlü, 1990).

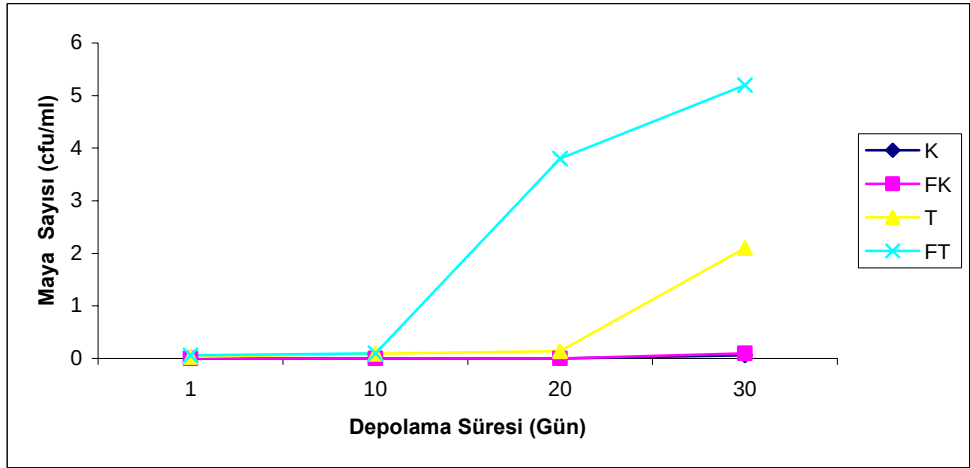
Irigoyen et al. (2005); kefir üretimi gerçekleştirmişler ve kefir içeceklerinde mikrobiyal yükün değişimini incelemişlerdir. Depolamanın 2. gününde asetik asit bakterileri 10^6 kob/ ml düzeyinde tespit edilmiş ve %5 tane ile aşılana kefir örneklerinde %1 aşılana göre daha yüksek asetik asit bakteri sayısı görülmüştür.

Marquina et al. (2002); fare bağırsaklarındaki mikrobiyal faaliyette diyetle alınan kefirin etkisinin incelendiği çalışmada kefir tanesindeki asetik asit bakteri sayısını $4,1 \log_{10}$ kob/ml olarak bildirmişlerdir.

16.02.2009 tarihli Resmi Gazetede yayınlanan Fermente Süt Ürünleri Tebliği(Tebliğ No:2009/25)'nde kefirdeki toplam spesifik mikroorganizma sayısının en az 10^7 kob/g olması, FAO/WHO'nun 2001'de yayınladığı Gıda Kodeksine göre toplam bakteri sayısının minimum 10^7 kob/g olması gerektiği bildirilmektedir (Farnworth, 2005; Sarkar, 2007). Çizelge 4.10. ve Şekil 4.21. incelendiğinde depolamanın 30. gününde tüm ürünlerde mikroorganizma sayılarının 10^7 kob/g olduğu ve örneklerimizin sonuçlarının belirtilen değerler içinde bulunduğu görülmektedir.

4.5.2.5. Maya Sayısı

Tane ve kültüre süt yada oligofruktozlu sütün katılmasıyla üretilen kefirlerde 30 günlük depolama süresince meydana gelen değişimler Çizelge 4.10. ve Şekil 4.26.'da gösterilmiştir. Besiyerlerinde herhangi bir küf gelişimine rastlanmazken maya kolonilerinin besiyerindeki gelişimi Resim 4.11.'de verilmiştir.



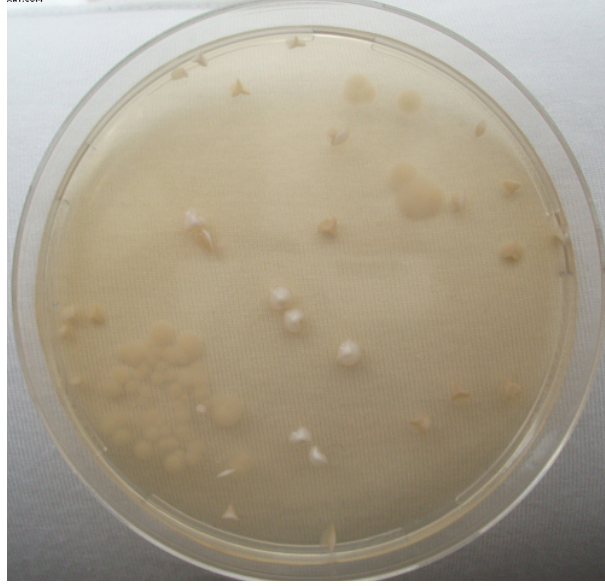
Şekil 4.26. Depolama Süresi Boyunca Kefirlerin Maya Sayılarında Meydana Gelen Değişimler

Uygulanan varyans analizi ve Duncan testine göre 30 günlük depolama süresinin maya sayım sonuçlarında değişime neden olduğu ve bu değişimin ($P < 0.05$) düzeyinde istatistiksel açıdan etkili olduğu belirlenmiştir. Aynı istatistiki çalışma, ürünler bazında incelendiğinde fruktooligosakkarit ilavesinin ve kefir tanesi yada kefir kültürü kullanımının ($P < 0.01$) düzeyinde önemli olduğunu göstermiştir. Çizelge

4.10. incelendiğinde depolama süresi arttıkça maya sayılarının da arttığı görülmektedir.

Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.10. birlikte incelendiğinde başlangıçta süte inoküle edilen tanede $9,3 \times 10^6$ kob/g olan maya sayısının taneyle elde edilen kefir içeceğinde ilk gün itibarıyla $3,0 \times 10^5$ kob/ml olduğu görülmektedir. Kefir kültüründe herhangi bir mayaya rastlanmazken kültürle elde edilen kefir içeceklerinde bu sayının depolama boyunca $3,33 \times 10^5$ kob/ml - $6,3 \times 10^5$ kob/ml arasında değiştiği görülmüştür (Çizelge 4.10.).

16.02.2009 tarihli Resmi Gazetede yayınlanan Fermente Süt Ürünleri Tebliği (Tebliğ No:2009/25)'nde ve FAO/WHO'nun 2001'de yayınladığı Gıda Kodeksine göre kefirdeki maya sayısının en az 10^4 kob/g olması gerektiği bildirilmektedir. Çizelge 4.10. ve Şekil 4.26. incelendiğinde depolamanın 30. gününde tüm ürünlerde maya sayılarının sırasıyla $6,3 \times 10^5$ kob/ml, $9,9 \times 10^5$ kob/ml, $2,1 \times 10^7$ kob/ml, $5,2 \times 10^7$ kob/ml olduğu ve örneklerimizin sonuçlarının belirtilen değerler içinde bulunduğu görülmektedir.



Resim 4.11. Kefirde Bulunan Mayaların Petri Kutusundaki Görünümü

Kılıç et. al (1999); kefir tanesi ve starter kültürle yaptıkları kefirlerde 5 günlük olgunlaşma süresince maya sayılarını tane ile ürettikleri kefir içeceğinde $2,36 \times 10^7$ kob/ml olarak belirlerken kültürden ürettikleri kefir içeceğinde ise $2,24 \times 10^7$ kob/ml olarak bulmuşlardır.

Taneden, taneden elde edilen süzüntüden ve kefir kültüründen üretilen kefir içeceğinde maya sayıları incelendiğinde tanedeki maya sayısının (10^6) kefir içeceğindeki maya sayısından (10^9) az olduğu görülmüştür (Karagözlü, 1990).

Güzel-Seydim et al. (2005); kefir taneleri ve içeceğindeki maya popülasyonunun soğuk depolamadaki artışlarının önemsiz olduğunu ortalama maya sayısının $6,55 \log_{10}$ kob/ml olduğunu ifade etmişlerdir.

Simova et al. (2002); kefir tanesinden ve süzöntüsünden elde ettiği kefir içeceğinde maya sayılarını sırasıyla 2×10^5 kob/ml ve 1×10^4 kob/ml olarak bulmuşlardır.

Irigoyen et al. (2005); %1 ve %5 oranında kefir tanesi inoküle ederek gerçekleştirdikleri üretimlerde depolama boyunca mikrobiyal özellikleri incelemişlerdir. Depolamanın 2. gününde maya sayısı 10^5 kob/ml olmuş ve %5 tane ile aşılana kefir örneklerinin %1 aşılana göre daha yüksek maya sayısı gösterdiği ifade edilmiştir.

Garrote et al. (1998); süte %1, %10, %20, %50, %100 oranında tane katarak gerçekleştirdikleri kefir üretiminde maya sayılarını tüm örneklerde $0,2.10^8$ kob/ml olarak bulmuşlardır.

Garrote et al. (1997); $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ gibi farklı koşullar altında 120 gün boyunca sakladığı kefir tanelerinde maya sayılarının değişimlerini incelemişler ve normalde kefir tanesinde bulunan maya sayısı $42,30 \times 10^7$ kob/g iken bu değer $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan tanede $1,0 \times 10^7$ kob/g, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan tanede $0,08 \times 10^7$ kob/g, $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan tanede $0,05 \times 10^7$ kob/g olmuştur. Bu tanelerden elde edilen kefir içeceğinde ise maya sayıları sırasıyla $0,0150 \times 10^9$ kob/g, $0,0020 \times 10^9$ kob/g, $0,0002 \times 10^9$ kob/g olarak bulunmuştur.

Liu and Lin (2000); glikoz, laktoz, sakkaroz ilaveli ve ilavesiz olarak soya sütünden kefir üretimini gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada soya sütüne taneler eklendikten hemen sonra maya sayıları taneye oranla daha düşük olarak saptanmıştır. Soya sütüne %1 glikoz ilavesinin maya gelişimini teşvik ettiği belirtilmiştir.

Bottazzi et al. (1994) ve Rea et al. (1996)'nın yaptıkları çalışmalarda kefir tanesindeki maya sayıları 10^6 - 10^8 kob/g, kefir kültüründeki maya sayıları 10^5 - 10^6 kob/ml olarak ifade edilmektedir.

Beshkova et al. (2002); yaptıkları çalışmada fermentasyon ve olgunlaşma süresince, saf kültürle üretilen kefirlerde maya sayılarını 10^6 kob/ml olarak bulmuşlardır.

Witthuhn et al. (2004); Güney Afrika'nın 8 farklı bölgesinden elde ettikleri kefir tanelerinde maya sayısının $1,5 \times 10^5$ ve $3,7 \times 10^8$ arasında dağılım gösterdiğini bildirmişlerdir.

Schoevers and Britz (2003); süte kefir taneleri katarak elde ettiği kefir içeceklerinde maya sayılarını $(9-260) \times 10^4$ kob/ml olarak ve litresine 20g triptoz ilave ederek zenginleştirdiği düşük yağlı süttten elde ettiği kefir içeceğinde maya sayılarını $(1,9-150) \times 10^2$ kob/ml olarak bulmuşlardır.

Abraham and Antoni (1999); inek ve soya sütünden taneyle elde ettikleri kefirlerde maya sayılarını inek sütünden elde edilen kefir içeceğinde $2,0 \times 10^7$ - $2,5 \times 10^8$ kob/g aralığında değişim gösterirken soya sütünden elde edilen kefir içeceğinde $3,0 \times 10^5$ - $3,3 \times 10^6$ kob/g arasında değiştiğini belirtmişlerdir.

Marquina et al. (2002); fare bağırsaklarındaki mikrobiyal faaliyette diyetle alınan kefirin etkisinin incelendiği çalışmada kefir tanesindeki maya sayısını $6,6 \log_{10}$ kob/ml olarak bildirilmiştir.

4.6.Kefirlerin Duyusal Özellikleri

Duyusal değerlendirme, gıdaların çeşitli karakteristiklerine görme, tatma, koklama, işitme veya dokunma duyularının tepkilerini oluşturan, bunları ölçen ve yorumlayan bir disiplin olarak tanımlanmaktadır. Duyusal değerlendirmenin ilkeleri ve uygulamaları söz konusu tepkilerin oluşturulması, ölçülmesi, analizi ve sonuçların yorumlanması aşamalarını içermektedir. Duyusal değerlendirmenin amacı ise tüketici istek ve beğenilerini belirleme, yeni ürün geliştirme, halihazırda mevcut olan ürünü iyileştirme yada günlük üretim kalitesini koruyarak satış potansiyelini arttırmaktır. Bu durum fonksiyonel ürünlerin tüketici tarafından kabul edilebilirliği açısından daha da önem kazanmaktadır (Altuğ ve Elmacı, 2005).

Oligofruktozlu ve oligofruktozsuz süte kefir kültürü ve kefir tanesinin eklenmesiyle elde edilen kefir içeceklerinin duyusal özellikleri ile olgunlaşma süresince meydana gelen değişimler Çizelge 4.11.'de toplu olarak verilmiştir.

Çizelge 4.11. Kefirlerin Duyusal Özellikleri

Duyusal Değerlendirme	Günler	K	FK	T	FT
Tat - Aroma	1	7.21±1.22 ^{Aa}	6.31±1.94 ^{Ab}	5.81±1.42 ^{Ac}	4.98±1.11 ^{Ad}
	10	6.65±1.08 ^{Ba}	5.94±1.48 ^{Bb}	5.15±0.93 ^{Bc}	4.56±1.38 ^{Bd}
	20	6.85±1.25 ^{Ba}	6.42±1.53 ^{Bb}	4.69±1.00 ^{Bc}	4.23±1.59 ^{Bd}
	30	6.67±1.17 ^{Ba}	7.04±0.61 ^{Bb}	4.46±1.12 ^{Bc}	3.98±1.21 ^{Bd}
	Ortalama	6.85	6.43	5.03	4.44

Çizelge 4.11. (devam). Kefirlerin Duyusal Özellikleri

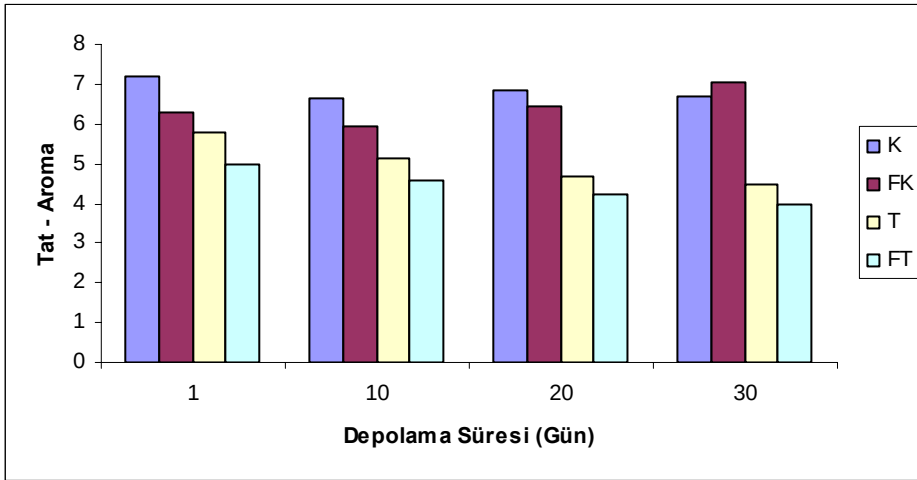
Duyusal Değerlendirme	Günler	K	FK	T	FT
Kıvam	1	7.94±0.65 ^{Aa}	7.17±1.27 ^{Ab}	6.54±1.56 ^{Ac}	6.50±1.53 ^{Ac}
	10	7.15±1.30 ^{Ba}	6.63±1.50 ^{Bb}	5.63±1.00 ^{Bc}	5.65±1.15 ^{Bc}
	20	7.15±1.30 ^{Ba}	6.94±1.13 ^{Bb}	5.42±1.28 ^{Bc}	5.44±1.51 ^{Bc}
	30	7.42±0.93 ^{Ba}	7.27±0.99 ^{Bb}	5.38±0.77 ^{Bc}	5.56±1.65 ^{Bc}
	Ortalama	7.42	7.00	5.74	5.79
Genel	1	7.52±1.16 ^{Aa}	6.50±1.79 ^{Ab}	6.00±1.56 ^{Ac}	5.08±1.21 ^{Ad}
	10	6.65±1.07 ^{Ba}	6.08±1.50 ^{Bb}	5.08±0.88 ^{Bc}	4.67±1.32 ^{Bd}
	20	7.04±1.07 ^{Ba}	6.81±1.53 ^{Bb}	4.75±1.11 ^{Bc}	4.48±1.57 ^{Bd}
	30	6.90±1.12 ^{Ba}	7.08±0.82 ^{Bb}	4.67±1.00 ^{Bc}	4.38±1.31 ^{Bd}
	Ortalama	7.03	6.62	5.13	4.65

(1) A,B,C,D: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler $P<0.01$ ve $P<0.05$ düzeyinde birbirinden farklıdır.

(2) a, b, c, d : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler $P<0.01$ ve $P<0.05$ düzeyinde birbirinden farklıdır.

Süte ve oligofruktozlu süte kefir tanesi ve kefir kültürünün aşılınmasıyla elde edilen kefir içeceklerindeki duyusal değerlendirmeler 10 panelist tarafından gerçekleştirilmiş olup kefir örnekleri tat-aroma, kıvam ve genel özellikler açısından değerlendirilmiştir. Değerlendirme 10 puan üzerinden yapılmıştır. Üretilen kefir içeceklerine ait duyusal değerlendirme sonucunda elde edilen sonuçlar Çizelge 4.11.'de, tat-aroma, kıvam ve genel olarak verilmiş olup duyusal değerlendirme parametrelerine ilişkin değişim grafikleri sırasıyla Şekil 4.27., Şekil 4.28. ve Şekil 4.29.'da verilmiştir.

Araştırma verilerine göre yapılan istatistiksel değerlendirme, ürün çeşitleri arasındaki tat-aroma değişimleri ile depolama süresi boyunca kefir içeceklerinde kaydedilen tat-aroma değişimlerinin ($P<0.01$) düzeyinde önemli olduğunu göstermiştir. İlgili çizelgeden de anlaşılabacağı gibi kültürle üretilen ürünler taneyle üretilen ürünlere göre en yüksek değeri alırken kendi aralarında değerlendirildiklerinde ise fruktooligosakkarit ilavesi ile üretilen kefirin tat-aroma açısından panelistler tarafından tercih edilmediği tespit edilmiştir.



Şekil 4.27. Depolama Süresi Boyunca Kefirlerin Tat-Aroma Puanlarında Görülen Değişimler

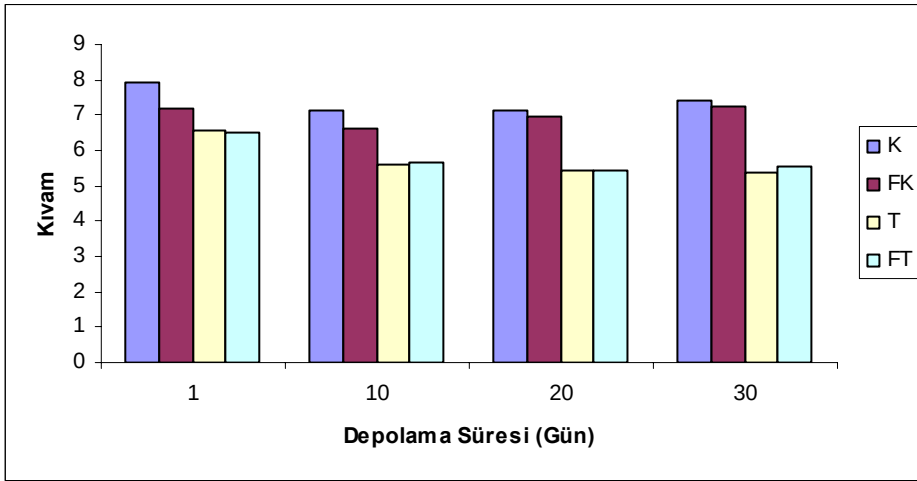
Panelistler sırasıyla K, FK, T ve FT örneklerini tercih etmişlerdir. 30 günlük depolama süresi istatistiki açıdan değerlendirildiğinde 10., 20. ve 30. depolama günlerinde saptanan duyuşal değerlendirme sonuçları birbiriyle benzer olup en yüksek değerini 1. gün örnekleri almıştır. Ancak çizelge 4.11.'deki veriler incelendiğinde panelistlerce verilen puanların

depolama süresince tüm örneklerde düştüğü gözlenirken sadece fruktooligosakkarit ilaveli süttten kültürle elde edilen kefir örneklerinde 10. günde azalma 20. ve 30. depolama günlerinde ise artma eğilimi gösterdiği ve tüm örnekler içinde en çok kabul gören ürün olarak ortaya çıktığı belirlenmiştir. Panelistlerin, kültürle elde edilen kefir içeceklerinde 30 günlük depolama süresi boyunca tüketimde zorlanmadıkları görülürken taneyle elde edilen kefir içeceklerinde ise duyuusal beğenin 10. günden sonra azaldığı gözlemlenmiştir.

Fermente süt ürünlerinin yapısal özelliklerini etkileyen işlem parametrelerinden bazılarını yağ oranı ve homojenizasyon şartları, starter kültür tipi ve starter kültürlerin asitlik oluşturma oranı, inkübasyon sıcaklığı, işlemin sonlandırıldığı pH seviyesi, soğutma şartları ve son ürüne uygulanan bu ve benzeri farklı işlemlerin oluşturduğu bilinen bir gerçektir (Lucey, 2004).

Tane ve kültürle elde edilen kefirlerin kıvam özelliklerine ilişkin yapılan duyuusal değerlendirmelerde panelistler, taneden elde edilen kefir içeceklerinde pütürcüklü yapının olduğunu ve bu durumun ürünün duyuusal özelliklerini olumsuz etkilediğini ifade etmişlerdir. Kültürle üretilen kefir içeceği örneklerinde ise bu yönde herhangi bir eleştiri yapılmamıştır. Bu açıdan incelendiğinde ürünlerde starter kültür kullanımının ürünlerin yapısal özellikleri üzerindeki pozitif etkilerinden bahsetmek mümkündür. Tane ve kültürle elde edilen ürünlerdeki bu farklılığın, ürünlerde kullanılan kültürlerin kendilerine özgü jel oluşturma yeteneklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Araştırma verilerine göre yapılan istatistiksel değerlendirme, ürün çeşitleri arasındaki kıvam değişimleri ile depolama süresi boyunca kefir içeceklerinde meydana gelen kıvam farklılıklarının ($P<0.01$) düzeyinde önemli olduğunu göstermiştir.

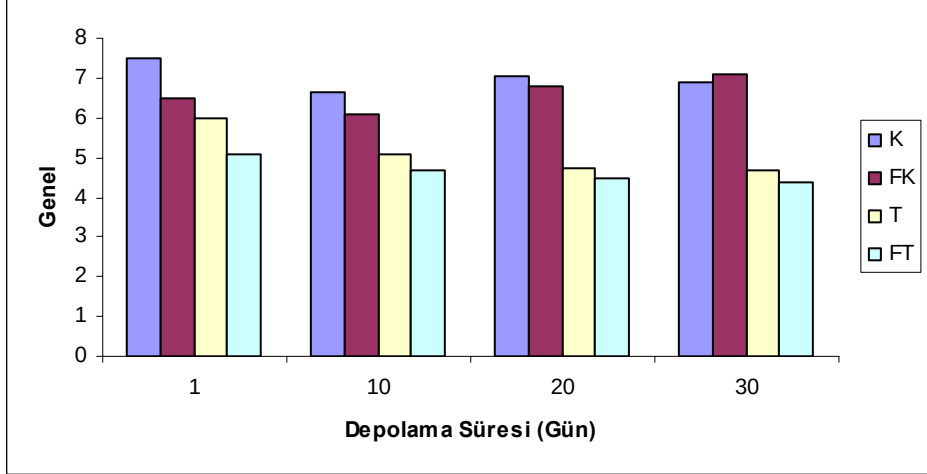


Şekil 4.28. Depolama Süresi Boyunca Kefirlerin Kıvam Puanlarında Görülen Değişimler

Çizelge 4.11. incelendiğinde K örneği kıvam açısından 7.94 ile en yüksek puanı almıştır. Bunu 7.17 ile FK örneği takip etmektedir. T ve FT örneklerinin ise 6.54-6.50 gibi benzer puanlar aldıkları görülmüştür. Veriler 1. ve 30. depolama günleri baz alınarak incelendiğinde panelistlerce verilen puanların tüm örneklerde düştüğü gözlenirken sadece fruktooligosakkarit ilaveli süttten kültürle elde edilen kefir örneklerinde arttığı görülmüştür.

Kefirlerin duysal özellikleri genel olarak değerlendirildiğinde panelistler, ürünlerin tat-aroma ve kıvam parametrelerini göz önünde

bulundurarak, kişisel tercihleri doğrultusunda hangi ürünü tüketmeyi tercih edeceklerine ilişkin puanlama yapmışlardır. Araştırma verilerine göre yapılan istatistiksel değerlendirme, ürün çeşitlerinin ve benzer şekilde 30 günlük depolama süresinin genel duyuşal değerlendirmeler açısından etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Genel değerlendirme kriterleri açısından K, FK, T ve FT örneklerinin sırasıyla 7.52, 7.08, 6.00 ve 5.08 ile en yüksek değerleri aldıkları görülmektedir. Ayrıca tüm örneklerde ilerleyen depolama süreçlerinde verilen puanlarda azalmalar olmuş sadece FK örneğinde depolama süresi boyunca artmalar gözlenmiştir (Çizelge 4.11.). Sonuç olarak tüketici tercihleri genel duyuşal değerlendirme açısından kültürle elde edilen kefir içecekleri olmaktadır.



Şekil 4.29. Kefirlerin Genel Olarak Duyuşal Değerlendirmesinde Depolama Süresi Boyunca Görülen Değişimler

Kefir ieeği keskin asit ve mayamsı tatta olup esas olarak asidik bir üründür. Ayrıca CO₂ içeriği nedeniyle köpüren bir özelliği vardır (Gilliland, 2001; Wszolek et al., 2006). Kefirlerde tat ve lezzet dengesinin kurulmasında mayaların fazla gelişimi mayamsı bozuk tada ve kokuya ayrıca yapıda bozukluğa sebep olabileceği için kefirde laktik asit bakteri : maya oranı büyük önem taşıtmaktadır. Süt asidi bakterilerinin daha fazla olması kefirin tat ve aromasında değişmelere ve kefirin daha ekşimsi olmasına buna karşın maya sayısının fazla olması ise kefirde gaz oluşumunun artmasına ve arzu edilmeyen yakıcı bir tadın ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Ergüllü, 1983).

Martin-Diana et al. (2003); keçi sütüne % 3-5 oranlarında peynir suyu protein konsantresi katarak ürettikleri fermente sütlerin duysal özelliklerini incelemişler ve süte peynir suyu protein konsantresi ilavesinin ürünün duysal puanlarını arttırdığını ve bu artışın istatistiki açıdan önemli olduğunu bildirmişlerdir.

Irigoyen et al. (2005)'in yaptığı çalışmada; kefir taneleri % 1 ve % 5 oranında süte aşılanarak üretim gerçekleştirilmiş olup, 24 saatlik inkübasyondan sonra 4 ⁰C'de depolanan kefirlerde 2., 7., 14., 21. ve 28. günlerde duysal özellikleri incelenmiştir. Kefir örneklerinde yapılan duysal analizlerde, tüketiciler tarafından maksimum kabul edilebilir düzeyin 2 günlük depolamada gerçekleştiği saptanmıştır.

Kılıç et al (1999); kefir tanesi ve starter kültürle yapılan kefirlerin olgunlaşması sırasında duysal özelliklerindeki değişimlerini 5 günlük depolama süresince incelemişler ve kefir ieeğinin mikroorganizma

konsantrasyonu ve duyuşal özellikler bakımından üretimden itibaren 3 gün içerisinde tüketilebileceği sonucuna varmışlardır.

Tavlaş (1986); kefir tanesi (% 5) ve kefir kültürü (taneyle elde edilen süzüntüden % 2-3 aşlamayla) kullanılarak üretilen kefirin kalitesi üzerine olgunlaşma koşullarının etkisini araştırmıştır. Tane ve kültür kullanımı ile olgunlaşma sıcaklık ve süresinin duyuşal nitelikleri önemli ölçüde etkilediği ifade edilmiştir. Kefir kültürü ile üretilen ve 10C'de olgunlaştırılan kefirlerin 7 gün boyunca kimyasal ve duyuşal nitelikler açısından en iyi sonucu verdiği tespit edilmiştir.

Karagözlü (1990); kaynatılmış, pastörize ve sterilize olmak üzere üç farklı ısıl işlem uygulanmış inek sütlerinde kefir yapmıştır. Tüm kefir örneklerinin 9 günlük depolama süresince duyuşal değerlendirmede beğeni kazandığı ifade edilmiş olup kaynatılmış ve pastörize sütlerle üretilen kefirlerin 10 °C'de 1 haftada, sterilize sütlerle üretilen kefirlerin 10 günde tüketilmesi tavsiye edilmiştir.

Wszolek et al. (2001); İskoçya ve Polonya'da inek, koyun, keçi sütüne farklı starter kültürlerin katılarak yapıldığı kefir içeceklerinin özelliklerini incelemişlerdir. Ürünün dayanımı ve tüm duyuşal özelliklerin süt tipinden etkilendiği görülmüştür. Depolamanın; ağız hissi karakteristiklerinde (serum ayrılması, kirecimsi tat, dil yüzeyinde oluşturduğu tabaka) önemli derecede etkili olduğu görülmüştür.

5. SONUÇ

Çalışmamızda prebiyotik ilavesi olarak fruktooligosakkaritin kullanıldığı kefir örneklerinin fiziksel özelliklerinde FOS kullanımının serum ayrılması ve viskoziteyi arttırdığı tespit edilmiştir. Taneyle üretilen kefirlerde kültürle üretilenlere nazaran serum ayrılması daha fazla iken viskozite daha düşük olmuştur. Örnekler arasında pH, proteolitik aktivite ve laktoz değeri hariç diğer kimyasal özellikler (kurumadde, yağ, asitlik gibi) arasındaki farklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur.

Fermente süt ürünlerinin üretimi sırasında sayısız bakteri ve mayanın metabolik aktivitesi sonucu meydana gelen ve bu ürünlerin karakteristik aromasının oluşumunda rol oynayan en önemli karbonil bileşiği olan asetaldehit, kültürle üretilen kefirlerde taneyle üretilen kefirlerle nazaran daha yüksek konsantrasyonda tespit edilmiştir. FOS ilavesinin asetaldehit miktarını kültürle elde edilen kefirlerde arttırdığı görülmüştür. İstatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamasına karşın diasetil konsantrasyonu kültürle üretilen kefirlerde daha yüksek saptanmış ancak FOS ilavesinin bu değeri düşürdüğü görülmüştür. Kültürle elde edilen kefirlerde hiç alkole rastlanmazken taneyle elde edilen kefirlerde alkol miktarı ortalama % 0.25 ile % 0.48 arasında belirlenmiş ve FOS ilavesinin alkol miktarını arttırdığı tespit edilmiştir.

Kefir üretimi sırasında fermentasyon sonucu açığa çıkan ve kefirin beslenme değeri ve sağlık üzerine etkilerine ilişkin özelliklerini etkileyen maddelerden oksalik, laktik, pürivik, fumarik ve sitrik asit tespit edilmiştir. 30 günlük depolama süresince laktik asit miktarı artarken

diğerlerinin azaldığı ve FOS ilavesinin organik asit değerlerini arttırdığı belirlenmiştir.

İstatistiki açıdan önemli olmamakla birlikte kefir örneklerinin *Salmonella typhimurium* ve *Pseudomonas aeruginosa*'a karşı antibakteriyel etkileri olduğu ve FOS ilavesinin bu etkiyi arttırdığı belirlenmiştir. *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* için antimikrobiyal etki ise istatistiki olarak önemli bulunmuştur.

Laktokok sayıları kültürle üretilen kefirlerde artarken taneyle üretilen kefirlerde azalmış, asetik asit bakterileri sayıları ise taneyle üretilen kefirlerde daha yüksek bulunmuştur. Kültürlü üretimlerde $1,6 \times 10^5 - 2,5 \times 10^5$ kob/ml olan maya sayısı taneli üretimlerde $5,9 \times 10^6 - 2,3 \times 10^7$ kob/ml aralığında olmuştur.

16.02.2009 tarihli Resmi Gazetede yayınlanan Fermente Süt Ürünleri Tebliği(Tebliğ No:2009/25)'nde ve FAO/WHO'nun 2001'de yayınladığı Gıda Kodeksine göre kefirdeki toplam spesifik mikroorganizma sayısının en az 10^7 kob/g ve maya sayısının en az 10^4 kob/g olması gerektiği bildirilmektedir. Bizim tüm örneklerimizde de maya ve bakteri sayıları depolamanın 30. gününe kadar belirtilen değerler içinde tespit edilmiştir. Ayrıca bilindiği gibi probiyotik ürünler içerdikleri canlı bakteri sayısı baz alınarak sınıflandırılmışlardır. Genel olarak gıda endüstrisinde ürünlerin tüketim anında 10^6 kob/g probiyotik mikroorganizma içermesi ve probiyotik etkilerin gözlenmesi için de söz konusu üründen günde en az 100 g tüketilmesi önerilmektedir (Gürsoy, 2005). Mevcut veriler ışığında görülmektedir ki çalışmamızda üretilen kefirler bahsedilen koşulları sağlamaktadır. Dolayısıyla kefirlerimizin

gramında $>10^6$ kob seviyelerinde probiyotik bakteri olduğu göz önüne alınırsa uluslararası standartlara göre söz konusu kefirler “Probiyotik” yada “Fonksiyonel Gıda” olarak değerlendirmemiz mümkün olacaktır.

Sonuç olarak gerçekleştirdiğimiz bu çalışma, ülkemizde yeni yeni raflarda yerini almaya başlayan kefirin üretiminde kullanılan yöntemlere yeni bir yaklaşım getirmiştir.

Bu amaçla yapılacak bundan sonraki çalışmalarda;

- Koyun, keçi, manda, soya sütü gibi farklı sütlerle ve farklı prebiyotik yada şekerler ile
- Yağsız süte yağ ikame maddesi olarak prebiyotik ilavesi ile
- Farklı tane-kültür katım oranları yada inkübasyon sıcaklık seçimleri ile ve ayrıca
- Kefirde bulunan mikroorganizmaların izolasyonu ve izole edilen bakteri suşlarının probiyotik özellikleri ve sindirim sistemi koşullarına dayanımları ile
- İnsan bağırsak sistemini simüle eden (SHIME) bir reaktörde kefirdeki bakterilerin canlılığının belirlenmesi

konu ile ilgili daha geniş bilgilerin elde edilmesine ve üretim yöntemi ve ürüne ilişkin soru işaretlerrinin ortadan kaldırılmasına katkıda bulunacaktır.

KAYNAKLAR

- Abraham, A.G. and Antoni, G.L.,** 1999. Characterization of kefir grains grown in cows' milk and in soya milk. Journal of Dairy Research., 66, 327-333.
- Agerbaek, M., Gerdes, L.U., Richelsen, B.,** 1995. Hypocholesterolaemic effect of a new fermented milk product in healthy middle-aged men. Eur J Clin Nutr. 1995;49:346-52.
- Akalın, A. S., Gönc, S., Fenderya, S.,** 2000. Probiyotik süt ürünleri ve prebiyotikler, Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, Tekirdağ,sy:29.
- Akalın, A. S., Kınık, Ö., Gönc, S.,** 1998. Yoğurt üretimi ve depolama sırasında organik asitlerin belirlenmesi. Gıda 23(1) : 59-65.
- Akalın, A. S., Gönc, S., Düzel, S.,** 1997. Influence of yogurt and acidophilus yogurt on serum chlorestrol levels in mice. J. Dairy Science. 80:2721-2725.
- Alm, L.,** 1982. Effect of fermentation on milk fat of Swedish fermented milk products. Journal of Dairy Science, 65, 521-532.
- Altuğ, T. ve Elmacı, Y.,** 2005. Gıdalarda Duyusal Değerlendirme. Meta Basım, Bornova, İzmir, 130 s.

KAYNAKLAR (devam)

- Alzamora, S. M., Salvatori, D., Tapia, S. M., Lo´pez-Malo, A., Welti-Chanes, J. and Fito, P., 2005.** Novel functional foods from vegetable matrices impregnated with biologically active compounds. *Journal of Food Engineering*, 67, 205–214.
- Angulo, L., Lopez, E., Lema, C., 1993.** Microflora present in kefir grains of the Galician region (North -West of Spain) . *J Dairy Res* 1993;60:263– 267.
- Anonymous, 2007.** Consumption of milk drinks and fermented products including yoğurt. *Bulletin of the International Dairy Federation* 423/2007. page. 85.
- Anonymous, 2006.** Structure and competitiveness of the milk and dairy supply chain in Turkey. www.agripolicy.net
- Anonymous, 2002.** Sütte Azot içeriği tayini, Kjeldahl Yöntemi, TS EN ISO 8968-1.
- Anonymous, 2001.** Uzun ömürlü süt standardı, TS-1192.
- Anonymous, 2000a.** 14.02.2000 Tarih ve 23964 nolu Türk Gıda Kodeksi –Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği

KAYNAKLAR (devam)

Anonymous, 2000b. 06.02.2009 Tarih ve 27133 nolu Türk Gıda Kodeksi –Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği'nde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ

Anonymous, 1995. UV method for the determination of ethanol in foodstuffs and other materials. In: Methods of Enzymatic BioAnalysis and Food Analysis. Mannheim: Boehringer (Biochemica) Mannheim, pp 32-35.

Anonymous, 1981. TS 1018 çiğ süt standardı

Anselmo, R. J. ,2001. Effect of kefir bactericide on *Salmonella* spp. Informacion Technologica 2001;12:91-95.

AOAC, 1998. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC.

Assadi, M. M., Pourahmad, R., Moazami, N., 2000. Use of isolated kefir starter cultures in kefir production. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 16, 541-543.

Benkouider, C., 2005. The world's emerging markets. Functional Foods and Nutraceuticals. <http://www.ffnmag.com/NH/ASP/strArticleID/770/strSite/FFNSite/articleDisplay.asp>.

KAYNAKLAR (devam)

- Benkouider, C.**, 2004. Functional foods: A global overview. International Food Ingredients, 5, 66–68
- Bertolami, M. C., Faludi, A.A., Batlouni, M.**, 1999 Evaluation of the effects of a new fermented milk product (Gaio) on primary hypercholesterolemia. Eur J Clin Nutr. 1999;53:97-101.
- 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., Ferngova, G.I., Spasov, Z.N.**, 2002. Pure cultures for making kefir. Food Microbiology, 19, 537-544.
- Bodyleft, F. V., Tobias, J., Trout, G. M.**, 1988. The sensory evaluation of dairy products. An. AVI Book. New York, USA.
- Bosscher, D.**, 2007. Slimming foods: Latest evidence in the field of non-digestible carbohydrates. Focus on oligosaccharides. In Proceedings of the fourth international FFNet meeting on functional foods.

KAYNAKLAR (devam)

- Bosscher, D., Van Loo, J. and Franck, A., 2006.** Inulin and oligofructose as functional ingredients to improve bone mineralization. *International Dairy Journal*, 16, 1092–1097.
- Bottazzi, V., Zacconi, C., Sara, P.G., Parisi, M.G., 1994.** Kefir microbiology, chemistry and technology. *Industria del Latte*, vol.30, page41-62.
- Cani, P. D., Neyrinck, A. M., Maton, N. and Delzenne, N. M., 2005.** Oligofructose promotes satiety in rats fed a high-fat diet: Involvement of glucagon-like peptide-1. *Obesity Research*, 13, 1000–1007.
- Cebeci, A. and Gürakan, C., 2003.** Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Microbiology* 20(2003): 511-518.
- Cerna, J., and Hrabova, H., 1977.** Biologic enrichment of fermented milk beverages with vitamin B₁₂ and folic acid. *Milchwissenschaft* 32(5)274-277.
- Cogan, T. M., 1972.** Modification of the prill hamme method for determining diacetyl. *J. Dairy Sci.* 55:3, 382-384 page.

KAYNAKLAR (devam)

- Çevikbaş, A., Yemni, E., Ezzedenn, F.W., Yardımcı, T., 1994.** Antitumoral, antibacterial and antifungal activities of kefir and kefir grain. *Phytotherapy Research* 1994; 8, 78–82.
- De Vrese, M., Keller, B. and Barth, C .A., 1992,** Enhancement of intestinal hydrolysis of lactose by microbial β -galactosidase(EC 3.2.1.23) of Kefir, *British Journal of Nutrition*, Vol.67, pp:67-75.
- Djouzi, Z. and Andrieux, C.,1997.** Compared effects of three oligosaccharides on metabolism of intestinal microflora in rats inoculated with human fecal flora. *British Journal of Nutrition*.78:313-324.
- Douglas, L.C and Sanders M. E., 2008.** Probiotics and Prebiotics in Dietetics Practice, *J. Am. Diet Assoc.* 2008;108:510-521.
- Duboc, P. and Mollet, B., 2001.** Application of exopolisaccharides in the dairy industry, *International Dairy Journal*. 11(2001) 759-768.
- Ergüllü, E. 1983.** Sağlık ve mutluluk içkisi kefir. *E.Ü. Ziraat Fakültesi Derg.* 20(2) 159-164.

KAYNAKLAR (devam)

- Ergüllü, E., Üçüncü, M., 1983.** Kefir mikroflorası üzerine araştırma. Gıda Tekn. Derneği Dergisi(1)3-10.
- Ersoy, M., 2001.** Süttozu, peynir suyu tozu ve yayıkaltı karışımları ile üretilen kefirlerin özellikleri üzerine bir araştırma. E.Ü. Fen Bilimleri Yüksek Lisans Tezi.
- Ersoy, M. ve Uysal, H., 2003.** Süttozu, peynir altı suyu tozu ve yayıkaltı karışımları ile üretilen kefirlerin özellikleri üzerine bir araştırma. II. Bazı Fiziksel ve Duyusal Özellikler. E.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 2003, 40(1).
- Ersoy, M. ve Uysal, H., 2002.** Süttozu, peynir altı suyu tozu ve yayıkaltı karışımları ile üretilen kefirlerin özellikleri üzerine bir araştırma. I. Bazı Kimyasal Özellikler. E.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 2002, 39(3).
- Etöz, D., 2006.** Kefirden izole edilen maya ve bakterilerin bazı patojen mikroorganizmalar üzerine inhibitör etkisi., Gazi Üniv., Fen Bi. Ens. Yüksek Lisans Tezi.
- Farnworth, E.R., 2005.** Kefir- a complex probiotic. Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods 2(1) 1-17.

KAYNAKLAR (devam)

- Fernandez-Garcia, E. and McGregor, J. U.,** 1994. Determination of organic acids during the fermentation and cold storage of yogurt. *Journal of Dairy Science*, 77, 2934-2939.
- Figler, M., Mozsik, G., Schaffer, B.,** 2006. Effect of special Hungarian probiotic kefir on faecal microflora. *World J Gastroenterol.* 2006;12:1129-32.
- Fooks, L. J., Fuller, R., Gibson, G. R.,** 1999. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. *International Dairy Journal* 9(1999)53-61.
- Frukawa, N., Matsuoka, A., Takahashi, T. And Yamanaka, Y.,** 2000, Anti-metastatic effect of Kefir grain components on Lewis lung carcinoma and highly metastatic B16 melanoma in mice., *Journal of Agricultural Sciences*, Vol.45, pp.62-70.
- Frukowa, N., Iiyama, R., Takahashi, T. and Yamanaka, Y.** 1992. Effect of oral administration water soluble fraction from kefir grains on antibody production in mice. *Animal Science Technology (Japan)* 63: 428-436.

KAYNAKLAR (devam)

- Garrote, G. L., Delfederico, L., Bibiloni, R., Abraham, A. G., Perez, P. F., Semorile, L. and Antoni, G. L., 2004.,** De Lactobacilli isolated from kefir grains: evidence of the presence of S-layer proteins., *Journal of Dairy Research*, Vol.71, pp.222-230.
- Garrote, G. L., Abraham, A. G., De Antoni, G. L., 2001 :** Chemical and microbiological characterisation of kefir grains. *J. of Dairy Research*, 68(639-652)
- Garrote, G.L., Abraham, A.G., and De-Antoni, G.L., 2000.,** Inhibitory power of kefir: the role of organic acids., *Journal of Food Protection.*, Vol.63, pp.364-9.
- Garrote, G. L., Abraham, A. G., De Antoni, G. L., 1998 :** Characteristics of kefir prepared with different grain:milk ratios. *J. of Dairy Research*, 149-154.
- Garrote, G. L., Abraham, A. G., De Antoni, G. L., 1997 :** Preservation of Kefir Grains, a Comparative Study. *Lebensm.-Wiss. U-Technol.*, 30,(77-84).
- Gibson, G. R., 2004.** From probiotics to prebiotics and a healthy digestive system. *Journal of Food Science*, 69, M141–M143.

KAYNAKLAR (devam)

- Gibson, G. R. and Roberfroid, M. B.,** 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125, 1401–1412
- Gilliland, S. E.,** 2001. Probiotics and prebiotics., (Applied dairy microbiology edited by Elmer H. Marth and James L. Steele) page: 327-343.
- Grajek, W., Olejnik, A and Sip, A.,** 2005. Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. *Acta Biochimica Polonica*, vol.52, no.3,665-671.
- Guggisberg, D., Eberdard, P. and Albrecht, B.,** 2007. Rheological characterization of set yoghurt produced with additives of native whey proteins, *International Dairy Journal*,17:1353-1359.
- Gürsoy, O.,** 2005. Bazı probiyotik bakterilerin destek kültür olarak beyaz peynir üretiminde kullanımı. E.Ü.Fen Bil. Enst. Doktora Tezi

KAYNAKLAR (devam)

- Güven A, and Gülmez M.,** 2003. The effect of kefir on the activities of GSH-Px, GST, CAT, GSH and LPO levels in carbon tetrachloride-induced mice tissues. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. 2003;50:412-6.
- Güzel-Seydim, Z., Seydim, A. C., Grene, T. T.,** 2006. Determination of antimutagenic peoperties of some fermented milks including changes in the total fatty acid profiles including CLA., Journal od Dairy Technology, 59(3): 209-215.
- Güzel-Seydim, Z., Twyffels, J., Seydim, A. C., Greene, A.K.,** 2005 : Turkish kefir and kefir grains: microbial enumeration and electron microscobic observation. Intern. J. of Dairy Tech., Vol.58, No.1.
- Güzel-Seydim, Z.B., Seydim, A. C. and Greene, A. K.,** 2003, Comparison of amino acid profiles of milk, yoghurt and Turkish kefir, Milchwiss., Vol. 58, pp. 158-60.
- Güzel-Seydim, Z.B., Seydim, A.C., Greene, A.K., Bodine, A.B.,** 2000a: Determination of Organic Acids and Volatile Flavor Substances in Kefir during Fermantation. J. of Food Composition and Analysis 13, 35-43

KAYNAKLAR (devam)

- Güzel-Seydim, Z., Seydim, A.C. and Greene, A.K.,** 2000b. Organic acids and volatile flavor components evolved during refrigerated storage of kefir. *Journal of Dairy Science*.vol:83,no.2.
- Hardy, G.,** 2000. Nutraceuticals and functional foods: Introduction and meaning. *Nutrition*, 16, 688–697.
- Hertzler, S. R. and Clancy, S. M.,** 2003. Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. *J Am Diet Assoc* 2003;103:582-7.
- Hiastan-Ribic, C., Cerar, A., Pokorn, D. ,** 2005. Effects of kefir containing various levels of fat on chemically induced colorectal epithelial tumors in Wistar rats. *Nutr Res* 2005;25:55-63.
- Hilliam, M.,** 2000. Functional food—How big is the market? *The World of Food Ingredients*, 12, 50–52.
- Imhof, R., Glattli, H., Bosset, J. O.,** 1995. Volatile organic compounds produced by thermophilic and mesophilic single strain dairy starter cultures. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technology*,28, 78-86.

KAYNAKLAR (devam)

- Imhof, R., Glattli, H., Bosset, J. O.,** 1994. Volatile organic compounds produced by thermophilic and mesophilic mixed dtrain dairy starter cultures. Lebensmittel-Wissenschaft und Technology,27, 442-449.
- Imhof, R., Bosset, J. O.,** 1994. Relationships between microorganisms and formation of aroma compounds in fermented dairy products. Zeitschrift Lebensmittel Unters Forschung, 198, 267-276.
- 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).
- Jankowska, A., Reps, A., Proszek, A., Krasowska, M., Porowski, S., Szczepek, J.,** 2003. High Pressure Research., vol.23, No.1-2, 87-92.
- Jones, P. J. and Jew, S.,** 2007. Functional food development: Concept to reality. Trends in Food Science and Technology, 18, 387–390.

KAYNAKLAR (devam)

- Kabayama, S., Osada, K., Tachibana, H.,** 1997 Enhancing effects of food components on the production of interferon β from animal cells suppressed by stress hormones. Cytotechnology 1997;3:119-125.
- Karagözlü, C.,** 1990. Farklı Isıl İşlem Uygulanmış İnek Sütlerinden Kefir Kültürü ve Tanesi ile Üretilen Kefirlerin Dayanıklılığı ve Nitelikleri Üzerine Araştırmalar. E.Ü. Fen Bil. Ens. Tarım Ür. Tek. A.B.D. Yüksek Lisans Tezi.
- Karagözlü, C. ve Kavas, G.,** 2000. Alkollü fermente süt içecekleri: Kefir ve kımız'ın insan beslenmesindeki önemi. Dünya Gıda Dergisi, sayı.7, 86-93.
- Kavas, G., Kavas, N., Kımık, Ö.,** 2007. Prebiyotik ve Sinbiyotiklerin Kan Lipidleri ile Kardiyovasküler Hastalıklar Üzerin Etkileri. Dünya Gıda Dergisi, Sayı:2007-08, Yıl:12.
- Kılıç, S., Uysal, H., Akbulut, N., Kavas, G., Kesenkaş, H.,** 1999. Chemical, microbiological and sensory changes in ripening kefir produced from starters and grains. E.Ü. Ziraat Fakültesi Derg. Vol.36,111-118.

KAYNAKLAR (devam)

- Kınık, Ö., Kavas, G., Uysal, H.,** 2001. Fruktooligosakkaritler. Dünya Gıda Dergisi, Sayı:2001-3,Yıl:6.
- Kınık, Ö., Akalın, A. S., Gönç, S.,** 1998. Kefir üretimi ve depolama sırasında organik asitlerin değişimi üzerine bir araştırma. Geleneksel Süt Ürünleri, V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, 21-22 Mayıs 1998, Tekirdağ. S:361-368.
- Klaenhammer, T. R. and Kullen, M. J.,** 1999. Selection and design of probiotics. Inter. J. Food Microbiol., 50:45-47.
- Kneifel, W., Ulberth, F., Erhard, F., Jaros, D.,** 1992. Aroma profiles and sensory properties of yogurt and yogurt-related products. I. Screening of commercially available starter cultures. Milchwissenschaft, 47, 362-365.
- Kocabaş, Z., Odabaşı, S., Atamer, M.,** 1998. Mikrobiyolojik verilerin istatistiksel analizinde uygun transformasyon yönteminin seçimi, Gıda, 23(1):19-23.
- Konar, A. ve Şahan, N.,** 1989. İnek, koyun ve keçi sütlerinden üretilen kefirlerin özellikleri ve bu özelliklere olgunlaşma süresinin etkisi üzerine bir araştırma. Bursa 1. Uluslar arası Gıda Sempozyumu, 184-197

KAYNAKLAR (devam)

- Koop-Hoolihan, L.,** 2001. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: A review. J.Am. Dietetic Association 101(2):229-241.
- Koroleva, N. S.,** 1991. Products prepared with lactic acid bacteria and yeasts. In: Robinson, R.K., editor. Therapeutic properties of fermented milks.159-179. Elsevier Applied Sciences Publishers, London, UK.
- Kotilainen, L., Rajalahti, R., Ragasa, C. and Pehu, E.,** 2006. Health enhancing foods: Opportunities for strengthening the sector in developing countries. Agriculture and Rural Development Discussion Paper 30
- Kurman, J. A., Rasic, J. L., Kroger, M.,** 1992. Encyclopedia of Fermented Fresh Milk Products, An International Inventory of Fermented Milk, Cream, Buttermilk, Whey and Related Products. An Avi Book Published by Van Nostrand Reinhold New York. Page. 9
- LeBlanc, A., Matar, C., Farnworth, E., Perdigon, G.,** 2007. Study of immune cells involved in the antitumor effect of kefir in a murine breast cancer model. J Dairy Sci. 2007;90:1920-8.

KAYNAKLAR (devam)

- LeBlanc, A. and Matar, C.,** 2006. Study of cytokines involved in the prevention of a murine experimental breast cancer by kefir. Cytokine. 2006;34:1-8.
- Lili, J. A. P. and Moon, N. J.,** 1983. Kefir: a new fermented milk product. Cultured Dairy Products Journal(August)11-12
- Lin, C. W., Chen, C. L., Liu, J. R.,** 1999. Identification and characterization of lactic acid bacteria and yeasts isolated from kefir grains in Taiwan. Aust J Dairy Technol 1999;54:14-18.
- Linossier, J. P. and Dousset, X.,** 1994. Stimulation de la croissance et du metabolisme de Lactobacillus kefir par Candida kefir. Microbiologie Aliments Nutrition 12:341-351.
- Liu, J. R., Wang, S.Y., Chen, M.J.,** 2006. Hypocholesterolaemic effects of milk-kefir and soymilk-kefir in cholesterol-fed hamsters. Br J Nutr. 2006;95:939-46.
- Liu, J. R., Chen, M. J., Lin, C. W.,** 2005. Antimutagenic and Antioxidant Properties of Milk-Kefir and Soymilk-Kefir. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 2467-2474.

KAYNAKLAR (devam)

- Liu, J. R., Chen, M. J., Lin, C. W.,** 2002a. Characterisation of Polysaccharide and Volatile Compounds Produced by Kefir Grains Grown in Soymilk. *Journal of Food Science*, vol.67, no.1, 104-108.
- Liu, J. R. and Lin, C. W.,** 2000. Production of Kefir from Soymilk With or Without Added Glucose, Lactose or Sucrose. *Journal of Food Science*. vol.65, No.4, 716-719
- Liut Kevicius, A and Sarkinas, A.,** 2004, studies on the growth conditions and composition of Kefir-grains-as a food and forage biomass. *Dairy Science Abstract*, vol.66, p. 903.
- Lopez-Molina, D., Navarro-Martinez, M. D., Melgarejo, F. R., Hiner, A. N. P., Chazarra, S. and Rodriguez-Lopez, J. N.,** 2005. Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Phytochemistry*, 66, 1476–1484.
- Lopitz-Otsoa, F., Rementeria, A., Elguezabal, N.,** 2006. Kefir: a symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. *Rev Iberoam Micol.* 2006;23:67-74.

KAYNAKLAR (devam)

- Losada, M. A. and Olleros, T.,** 2002. Towards a healthier diet fort he colon: the influence of fructooligosaccharides and lactobacilli on intestinal health. *Nutrition Research* 22:71-84.
- Lucey, J. A.,** 2004. Cultures Dairy Products: an overview of their gelation and texture properties, *International Journal of Dairy Technology*, 57, No.2/3:77-84.
- Macfarlane, G. T. and Cummings, H.,** 1999. Probiotics and prebiotics: Can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health? *British Medical J.*,318:999-1003.
- Maeda, H., Zhu, X., Suzukii S.,** 2004a. Structural characterization and biological activities of an exopolysaccharide kefiran produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* WT-2B(T). *J Agric Food Chem.* 2004;52:5533-8.
- Maeda, H., Zhu, X., Omura, K.,** 2004b. Effects of an exopolysaccharide (kefiran) on lipids, blood pressure, blood glucose, and constipation. *Biofactors.* 2004;22:197-200.
- Makinen-Aakula, M.,** 2006. Trends in functional foods dairy market. In *Proceedings of the third functional food net meeting.*

KAYNAKLAR (devam)

- Manning, T. S., Rastall, R. and Gibson, G.,** 2004. Prebiotics and lactic acid bacteria.(Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects edited by Seppo Salminen, Atte von Wright and Arthur Ouwehand) page: 407-418.
- Marquiana, D., Santos, A., Corpas, I., Muroz, J., Zazo, J. and Peinado, J. M.,** 2002, Dietary influence of kefir on microbial activities in the Mouse bowel, Letters of Applied Microbiology ,Vol.35,pp.136-140.
- Marshall, V. M. E., and Cole, W. M.,** 1983. Threonine aldolase and alcohol dehydrogenase activities in *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* and their contribution to flavours production in fermented milk. Journal of Dairy Research , 50, 375-379.
- Marshall, V. M. E., and Cole, W. M.,** 1985. Methods for making kefir and fermented milks based on kefir. J. Dairy Res. 52, 451-456.
- Martin-Diana, A. B., Janer, C., Pelaez, T., Requena, T.,** 2004. Effect of milk fat replacement by polyunsaturated fatty acids on the microbiological, rheological and sensorial properties of fermented milks. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84:1599-1605.

KAYNAKLAR (devam)

- Martin-Diana, A. B., Janer, C., Pelaez, T., Requena, T., 2003.**
Development of a fermented goat's milk containing probiotic bacteria. International Dairy Journal 13(2003) 827-833.
- Matar, C., Nadathur, S. S., Bakalinsky, A. T., 1997.** Antimutagenic effects of milk fermented by *Lactobacillus helveticus* L89 and a protease-deficient derivative. J Dairy Sci 1997;80:1965-1970.
- Matsuzaki, T., 1998.** Immunomodulation by treatment with *Lactobacillus casei* strain Shirota, Int.J. Food Microbiol. 41(2):133-140.
- Mediada, P., Hugenholtz, J. and Zoon, P., 2001.** An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. International Dairy Journal 12: 163-171.
- Menrad, K., 2003.** Market and marketing of functional food in Europe. Journal of Food Engineering, 56, 181–188.
- Merin, U., and Rosenthal, I., 1986.** Production of kefir from UHT milk. Milchwissenschaft, 41(7) 395-396.

KAYNAKLAR (devam)

- Monar, J.**, 2007. The Spanish functional food market: Present and future perspectives. Functional FoodNet (FFNet) network meeting, IATA-CSIC.
- Osada K, Nagira K, Teruya K.**,1993. Enhancement of interferonbeta production with sphingomyelin from fermented milk. Biotherapy. 1993-1994;7:115-23.
- Ott, A., Germond, J. E., Baumgartner, M., Chaintreau, A.**, 1999. Aroma comparisons of traditional and mild yogurts: Headspace gas chromatography quantification of volatiles and origin of α -diketons. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 47, 2379-2385.
- Ott, A., Fay, L. B., Chaintreau, A.**, 1997. Determination and origin of the aroma impact compounds of yogurt flavor. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 45, 850-858.
- Ouwehand, A. C.**, 2007. Success in applying pro- and prebiotics in dairy products. In Proceedings of the fourth international FFNet meeting on functional foods.

KAYNAKLAR (devam)

- Ouwehand, A. C., Salminen, S., Isolauri, E.,** 2002. Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie van Leeuwenhoek* 82: 279-289.
- Oysun, G.,** 1996 : Süt ve Ürünlerinde Analiz Yöntemleri. E.Ü.Z.F. Yayınları. No : 504, İzmir
- Ötleş, S. and Çağındı, Ö.,** 2003. Kefir: A Probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects, *Pakistan Journal of Nutrition* 2 (2): 54-59, 2003
- Öztekin, L.,** 1985. Organik asitlerin önemi ve peynirin kalitesi üzerine etkileri. *Gıda* 10(4) 247-254.
- Özünlü, B.,** 2004. Ayran Kalitesindeki Etkili Bazı Parametreler Üzerine Araştırmalar, Doktora Tezi, A.Ü. Fen Bilimleri Ens, Ankara.
- Pereira, D. I. A. and Gibson, G. R.,** 2002. Effects of consumption of probiotics and prebiotics on serum lipid levels in humans. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 37(4):259-281.
- Pintado, M. E., Lopes Da Silva, J. A., Fernandes, P. B., Xavier, M. F., Hogg, T. A.,** 1996 : Microbiological and rheological studies on Portuguese kefir grains. *Intern. J. of Food Sci. and Tech.*,31, 15-26.

KAYNAKLAR (devam)

- Quiros, A., Hernandez-Ledesma, B., Ramos, M., 2005.** Angiotensin converting enzyme inhibitory activity of peptides derived from caprine kefir. J Dairy Sci. 2005;88:3480-7.
- Raus-Madiedo, P., Hugenholtz, J., Zoon, P., 2002,** An Overview of the functionality of Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria. International Dairy Journal 12: 163-171.
- Rea, M. C., Lennartsson, T., Dillon, P., Drinan, F. D., Reville, W. J., Heapes, M. and Cogan, M., 1996,** Irish Kefir-like grains: their structure, microbial composition and fermentation kinetics, Journal of Applied Bacteriology, vol.81, pp.83-94
- Roberfroid, M. B., 2000.** Prebiotics and probiotics: Are they functional foods? Am. J. Clin. Nutr. 71:16828-78.
- Robinson, R. K., Tamime, A. Y., Chubb, L. W., 1977.** Acetaldehyde as an indicator of flavour intensity in yoghurt. The Milk Industry, 1977, 7944-7946.
- Rodrigues, K.L., Caputo, L.R., Carvalho, J.C., 2005.** Antimicrobial and healing activity of kefir and kefiran extract. Int J Antimicrob Agents. 2005;25:404-8.

KAYNAKLAR (devam)

- Saarela, M., Lahteenmaki, L., Crittenden, R., Salminen, S., Mattila-Sanholm, T.,** 2002. Gut Bacteri and Health Foods-The European perspective. *Int. Food. Micr.* 78:99-117.
- Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Mattö, J., Mattila-Sanholm, T.,** 2000. Probiotic Bacteria: safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol.*84: 197-215.
- 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. *System. Appl. Microbiol.*, 26, 434-437.
- Sarkar, S.,** 2008. Biotechnological innovations in kefir production: a review., *British Food Journal*, Vol.110, No.3, pp.283-295.
- Sarkar, S.,** 2007, Potential of kefir as a dietetic beverage. *British Food Journal*, Vol.109, No.4, pp.280-290.
- SAS,** 1989. SAS user's guide.: Statistics (Version 6). Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Scheinbach, S.,**1998. Probiotics: functionality and commercial status. *Biotech. Adv.*, 16:581-608.

KAYNAKLAR (devam)

- Schoevers, A. and Britz, T. J.,** 2003. Influence of different culturing conditions on kefir grain increase. International Journal of Dairy Technology, vol,56, no.3, 183-187.
- Seydim, Z. B.,** 2001 : Studies on fermentative, microbiological and biochemical properties of kefir and kefir grains. A dissertation presented to the graduate school of Clemson University, Food Tech.
- Shah, N. P.,** 2001. Functional foods from probiotics and prebiotics. Food Tech.,55:46-53.
- Shiomi, M., Sasaki, K., Murofushi, M. and Aibara, K.,**1982. Antitumor activity in mice of orally administered polysaccharide from Kefir grain. Jpn J Med Sci Biol. 1982;35:75-80.
- Side, C.,** 2006. Overview on marketing functional foods in Europe. Functional food network general meeting
- Simova, E. Beshkova, D., Angelov, A., Hristozova, T., Frengova, G., Spasov, Z.,** 2002. Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology., 28, 1-6.

KAYNAKLAR (devam)

- Sindhu, S. C., Khetarpaul, N.,** 2003. Effect of feeding probiotic fermented indigenous food mixture on serum cholesterol levels in mice. *Nutr. Res.* 23:1071-1080.
- Siro, I., Kapolna, E., Kapolna, E., Kapolna, B., Lugasi, A.,** 2008. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. *Appetite* 51(2008):456-467.
- Stam, H., Hoogland, M., Laane, C.,** 1998. Food flavours from yeast. *Microbiology of Fermented Foods*(ed. B.J.B. Wood), vol.2, 2nd edn, pp.505-543. Blackie Academic and Professional, London.
- Stanton, C., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F. and Van Sinderen, D.,** 2005. Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. *Current Opinion in Biotechnology*, 16, 198–203.
- Szakaly, Z., Szigeti, O., Mathe , A. and Szente, V.,** 2007. Nutrmarketing in the service of functional foods. International developments in science and health claims, ILSI international symposium on functional foods in Europe.

KAYNAKLAR (devam)

- Takahashi, F. and Kawakami, H.,** 1999. Antibacterial action of kefir against E.coli O157:H7. Jpn J Food Microbiol 1999;16:245-247.
- Tamime, A. Y.,** 2006. Fermented Milks. Dairy Science and Technology, Ayr,UK. Page174-198.
- Tamime, A. Y. and Robinson, R. K.,** 1999. Biochemistry of fermentation. In A.Y., Tamime and R.K. Robinson(Eds.), Yoghurt Science and Technology (2nd edition)(pp.432-475). Cambridge, UK:CRC Pres.
- Tavlaş, B.,** 1986 : Kefir tanesi ve kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin kalitesi üzerine olgunlaşma koşullarının etkisi. E.. Müh. Fak. Gıda Müh. Böl. Yüksek Lisans Tezi.
- Tonguç, İ. E.,** 2006. Probiyotik ayran üretimi üzerine bir araştırma. E.. Fen Bilimleri Ens. Yüksek Lisans Tezi.
- Tratnik, L. J., Bozanic, R., Herceg, Z., Drgalic, I.,** 2006. The quality of plain and supplemented kefir from goat's and cow's milk. International Journal of Dairy Technology, vol59, No.1, 40-46.

- Ulusoy, B. H., Çolak, H., Hampikyan, H., Erkan, M. E.,** 2007, An in vitro study on the antibacterial effect of kefir against some food-borne pathogens. Turkish Microbiological Society 37 (2) : 103-107
- Us, M.,** 2006. Sütte çözüm bekleyen sorunlar var. Standart dergisi, Ekim(2006)-22-26
- Üstün, Ö. and Gökçe, R.,** 2001. Yurtdışında Üretilen Fermente Süt İçecekleri. Gıda Mühendisliği Dergisi. sayı.10, 24-29.
- Viljoen, B. C.,** 2001. The interaction between yeasts and bacteria in dairy environments. International Journal of Food Microbiology69(2001)37-44.
- Vinderola, C. G., Duarte, J., Thangavel, D.,** 2005. Immunomodulating capacity of kefir. J Dairy Res. 2005;72:195-202
- Vujcic, L. F., Vulic, M. and Komyves, T.,** 1992, Assimilation of cholesterol in milk by kefir cultures, Biotechnology Letters, Vol.32, pp.17-19
- Witthuhn, R. C., Schoeman, T., Britz, T. J.,** 2004. Isolation and characterisation of the microbial population of different South African kefir grains. International Journal of Dairy Technology, vol.57, no.1, 33-37.

- Witthuhn, R. C., Schoeman, T., Britz, T. J., 2005a.** Characterisation of the microbial population at different stages of Kefir production and Kefir grain mass cultivation. *International Dairy Journal* 15, 383-389.
- Witthuhn, R. C., Schoeman, T., Cilliers, A., Britz, T. J., 2005b.** Impact of preservation and different packaging conditions on the microbial community and activity of Kefir grains. *Food Microbiology*, 22, 337-344.
- Wszolek, M., Kupiec-Teahan, B., Guldager, H. S. and Tamime, A. Y., 2006.** Production of kefir, koumiss and other related products. (Fermented milks edited by A.Y. Tamime) page:174-198.
- Wszolek, M., Tamime, A. Y., Muir, D. D., Barclay, M. N. I., 2001.** Properties of Kefir made in Scotland and Poland using Bovine, Caprine and Ovine Milk with Different Starter Cultures. *Lebensm.-Wiss.u-Technol.*, 34, 251-261.
- Yaygın, H., 1999.** Yoğurt Teknolojisi Ders Kitabı. Akdeniz Üniv. Ziraat Fak. Gıda Müh. Böl., Akdeniz Üniversitesi Basımevi, 1999.

KAYNAKLAR (devam)

- Yemni, E.,** 1987. Kefirin antikanserojen etkisi. Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Yüksek Lisans Tezi.
- Yetişmeyen, A.,** 1997. Süt Teknolojisi. A.Ü. Ziraat Fakültesi Ders Kitabı, Yayın no:1482.
- Yöney, Z.,** 1973. Süt ve Mamulleri Muayene ve Analiz Metodları. A.Ü.Z.F. Yayınları. No : 451, Ankara
- Yüksekdağ, Z.N., Beyatlı, Y., Aslım, B.,** 2004a. Determination of some characteristics coccoids forms of lactic acid bacteria isolated from Turkish kefir with natural probiotic. Lebensm.-Wiss.u.-Technol.,37, 663-667.
- Yüksekdağ, Z.N., Beyatlı, Y., Aslım, B.,** 2004b. Metabolic activities of *Lactobacillus* spp. strains isolated from kefir. Nahrung/Food 48:218-220.
- Zubillaga, M., Weill, R., Postaire, E., Goldman, C., Caro, R., Boccio, J.,** 2001. Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases. Nutrition Research 21, 569-579.

EKLER

Ek 1: Leukonostok Savımı İçin Besiyeri

Kazein pepton	10 g	Sodyum asetat	15 g
Maya ekstraktı	5 g	Magnezyum sülfat	0,575 g
D(+) glikoz	20 g	Demir-2- sülfat	0,034 g
Potasyumdihidrojen fosfat	6 g	Mangan sülfat	0,12 g
Amonyum sitrat	2 g	Agar	15 g
Tween 80	1 g	Su	1000 ml

% 6,5 tuz ilave edilen bu besiyerinin pH'sı $5,5 \pm 0,2$ 'e ayarlanmış ve otoklavda sterilize edilmeden kullanılmıştır. Örnekler çift ekim yapılarak 35°C 'de 3 gün (yada 30°C 'de 5 gün de olabilir) inkübasyona bırakılmıştır. Burada gelişen şüpheli koloniler % 0,0016 bromkrezol moru içeren Arginin Broth besiyerine aşılınıp 37°C 'de inkübe edilmiş ve besiyerinin rengindeki değişmeler 5 gün süreyle izlenmiştir. Sonuçta mor rengin gelişimi pozitif (argininin degradasyonu ve amonyak oluşumundan kaynaklanmaktadır), sarı rengin oluşumu ise negatif (bu durum sadece glikozun metabolize olduğunu göstermektedir) olarak değerlendirilmiştir (Gürsoy, 2005).

Ek 2: Arginin Broth Besiyeri

Kazein peptonu	17 g
Soya peptonu	3 g
L-arginin monohidroklorid	10 g
Bromtymol mavisi	0,015 g
Krezol kırmızısı	0,02 g
Brilliant green	0,00038
D (+) glikoz	0, 5 g
Sodyum klorür	5 g
Su	1000 ml

pH' sı $7,0 \pm 0,2$ 'e ayarlanmış besiyeri 121°C 'de 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra kullanılmıştır (Gürsoy, 2005).

Ek 3: Asetik Asit Bakterileri Sayımı İçin Besiyeri

Glikoz 20 g

Etanol 5 ml

Maya ekstraktı 8 g

Kalsiyum karbonat 7 g

Agar 15 g

Su 1000 ml

pH' sı $3,5 \pm 0,2$ 'e ayarlanmış besiyeri 121°C 'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir. Ortama maya gelişimini inhibe etmek için pimarisin (100 mg/L) antibiyotiği katılmıştır. Örnekler 32°C 'de 3 gün aerob olarak inkübasyona bırakılmıştır (Irigoyen et. al., 2005).

Ek 4: Varyans Analiz Tablosu

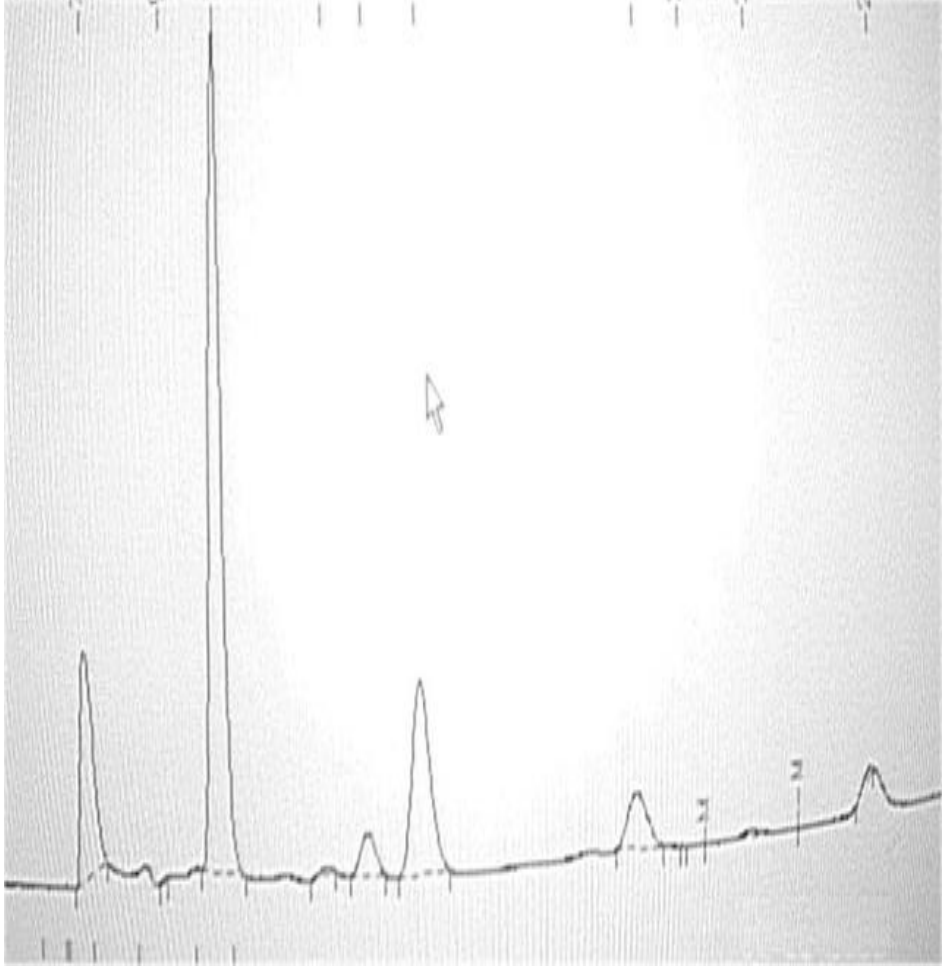
Varyans Kaynağı (Fiziksel ve Kimyasal)	Kurumadde	Yağ	Asitlik	pH	Protein	Laktoz	Tirozin	Serum Ayrılması	Viskozite
Gün	0.0017	0.1016	<.0001	0.4796	0.8092	<.0001	<.0001	0.0179	<.0001
Örnek	<.0001	<.0001	<.0001	0.0772	<.0001	0.0796	0.1694	<.0001	<.0001
Gün * Örnek	0.0112	0.3358	0.0018	0.9447	0.3969	0.3395	0.0148	0.8601	0.0047

Varyans Kaynağı (Antimikr. Aktivite)	<i>Salmonella</i> <i>typhimurium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>
Gün	0.1351	0.9166	0.0338	0.0047
Örnek	0.2717	0.0003	0.0868	0.0061
Gün * Örnek	0.0849	0.8780	0.3036	0.1301

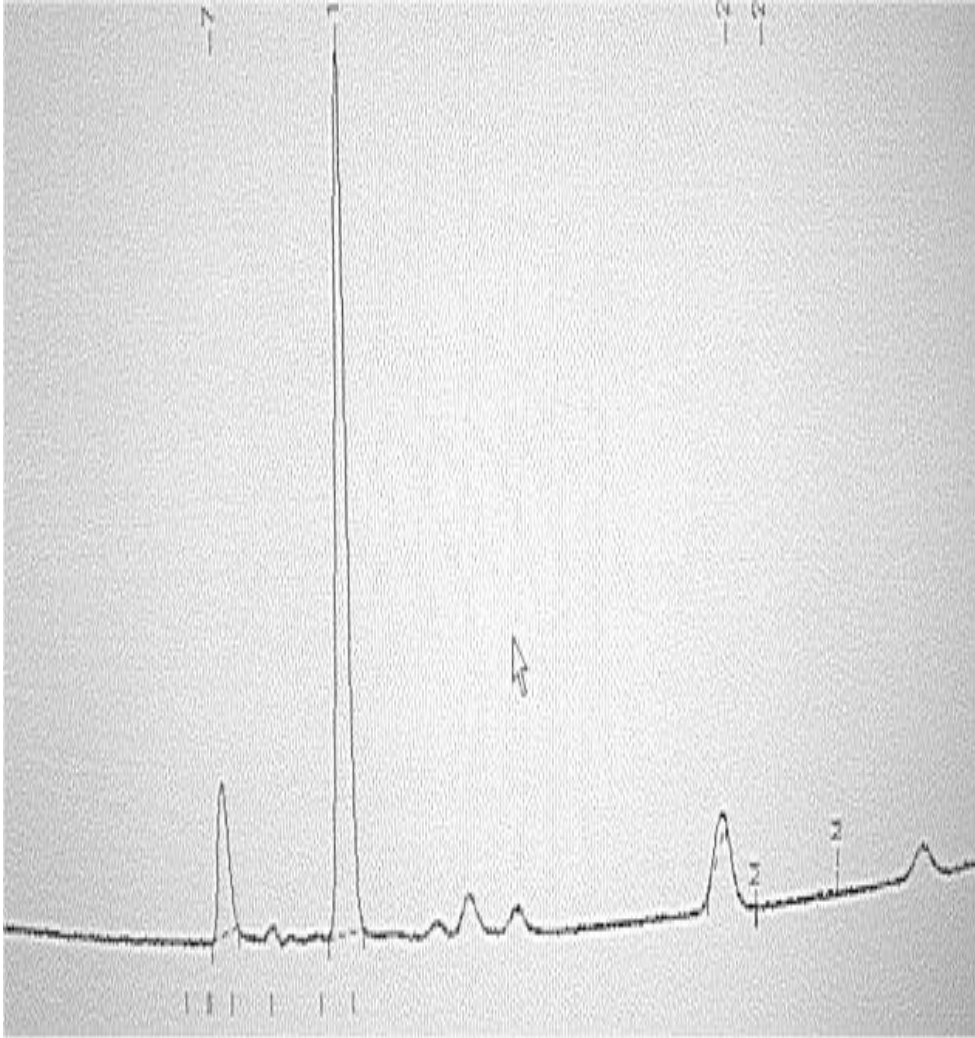
Varyans Kaynağı (Mikrobiyoloji)	Laktobasil	Laktokok	Leukonostok	Asetik Asit Bakterisi	Maya
Gün	0.0003	0.0005	0.0002	<.0001	0.0297
Örnek	0.2922	0.0365	0.2841	<.0001	0.0111
Gün * Örnek	0.3599	0.9517	0.2067	<.0001	0.1632

Varyans Kaynağı (Aroma Maddeleri)	Asetaldehit	Diasetil	Alkol
Gün	<.0001	0.0006	0.2026
Örnek	<.0001	0.0905	<.0001
Gün*Örnek	0.0010	0.2245	0.7617

Varyans Kaynağı (Duyusal Değerlendirme)	Tat	Kıvam	Genel
Gün	0.0073	<.0001	0.0024
Örnek	<.0001	<.0001	<.0001
Gün * Örnek	0.0052	0.4734	0.0192

Ek 5: Organik Asit Standartları Kromatogramı

(pikler sırasıyla oksalik asit, sitrik asit, pirüvik asit, laktik asit ve fumarik asiti göstermektedir)

Ek 6: Kefirdeki Organik Asitlerin Kromatogramı

ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında İzmir’de doğan Gülşah ENDER, ilk, orta ve lise öğrenimini İzmir’de tamamlamıştır. 1993 yılında girdiği Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümünden 1997 yılında bölüm birincisi olarak mezun olmuştur. Aynı yıl Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı’nda başladığı Yüksek Lisans eğitimini 14 Ocak 2002 tarihinde “Kaşar Peynirinin Olgunlaştırılması Aşamasında Aflatoksin M₁ Düzeyinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma” konulu tez çalışmasıyla tamamlamış ve 03.10. 2002 tarihinde aynı anabilim dalında doktora eğitimine başlamıştır.

2000 yılı Ocak ayında Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümündeki görevine tahsisli araştırma görevlisi olarak başlayan ENDER, 2001 yılı Nisan ayında ise uzman kadrosuna atanmıştır ve halen aynı görevde çalışmaktadır.