



**T.C.
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

***Saccharomyces cerevisiae* spp. *boulardii* İLE ÜRETİLMİŞ OLAN
KEFİRİN KİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Büşra ÇİNAR

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Deniz KOÇAN

EŞ DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Fatma ŞAHMURAT

AKSARAY, 2023

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 202324014 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Büşra ÇINAR tarafından hazırlanan “*Saccharomyces cerevisiae* spp. *boulardii* İLE ÜRETİLMİŞ OLAN KEFİRİN KİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Deniz KOÇAN

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.....

Üye: Prof. Dr. Özen ÖZBOY ÖZBAŞ

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.....

Üye: Dr. Öğretim Üyesi Gökçe POLAT YEMİŞ

Sakarya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.....

Tez Savunma Tarihi: 19/01/2023

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Doç. Dr. Mehmet Ali HİNİS

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, akademik kurallara ve bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, çalışmamda kullandığım verilerin orijinallliğini ve her türlü intihalden uzak olduğunu beyan ederim.

Enstitü tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

İmza

Büşra ÇİNAR

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince bilgi ve deneyimiyle bana yol gösteren, tezimin hazırlanmasında yardımlarını ve yönlendirmelerini esirgemeyerek büyük katkı sağlayan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Deniz KOÇAN' a sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tez sürecim boyunca beni her zaman destekleyen ve yardımlarını esirgenemeyen kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Fatma ŞAHMURAT'a teşekkür ederim.

Yüksek Lisans eğitimime birlikte başladığım ve tez sürecim boyunca teknik yardımını ve desteğini esirgemeyen değerli arkadaşım Gıda Mühendisliği ABD. Tezli Yüksek Lisans öğrencisi Cennet ACAR'a teşekkür ederim.

Geleneksel Ankara Kefir starter kültürünü temin ettiğim, Ziraat Mühendisi Fatma Zehra MUTLU'ya teşekkür ederim. Duyusal analizler sırasında destek olan başta ASÜ Gıda Mühendisliği Bölümü akademik personeli olmak üzere Mühendislik Fakültesi ile Mimarlık ve Tasarım Fakültesi akademik personeline teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan ve bana her konuda destek olan annem Ayşe GÖKER'e, babam Abdulkadir GÖKER'e, ailemin diğer fertlerine ve eşim Onur ÇİNAR'a sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tezimin gerçekleşmesinde 2019/013 numaralı proje ile maddi destek sağlayan T.C. Aksaray Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Büşra ÇİNAR
AKSARAY, 2023

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1 Kefir	4
2.1.1 Kefirin genel özellikleri.....	4
2.1.2 Kefir danesi ve kefirin mikrobiyolojik özellikleri	5
2.1.3 Kefirin sağlık üzerine etkisi.....	6
2.2 <i>Saccharomyces boulardii</i>	9
2.2.1 <i>Saccharomyces boulardii</i> 'nin genel özellikleri	9
2.2.2 <i>Saccharomyces boulardii</i> 'nin sağlık üzerine etkisi	10
2.3 Kefirde Bakteri ve Maya Etkileşimi.....	10
2.4 Süt Ürünlerinde <i>Saccharomyces boulardii</i> Mayasının Kullanımı	11
3. MATERYAL VE METOT	14
3.1 Materyal	14
3.1.1 UHT inek sütü.....	14
3.1.2 Endüstriyel ve geleneksel kefir starter kültürü	14
3.1.3 <i>Saccharomyces boulardii</i> kültürü.....	14
3.2 Metot	14
3.2.1 Starter kültürlerin aktifleştirilmesi.....	14
3.2.1.1 Farklı kefir starter kültürünün aktifleştirilmesi.....	15
3.2.1.2 <i>S. boulardii</i> starter kültürünün aktifleştirilmesi	15
3.2.2 Kefir üretimi.....	16
3.2.2.1 Farklı starter kültürler ile kefir üretimi	16
3.2.2.2 <i>S. boulardii</i> probiyotik mayası ile kefir üretimi	16
3.3 UHT İnek Sütüne ve Kefire Uygulanan Analizler	18
3.3.1 UHT inek sütüne yapılan kimyasal analizler.....	18
3.3.1.1 Toplam kuru madde miktarı tayini	18
3.3.1.2 Yağ miktarı tayini	18
3.3.1.3 Titrasyon asitliği değeri tayini	19
3.3.1.4 pH değeri tayini	19
3.3.1.5 Kül miktarı tayini.....	19
3.3.2 Farklı kefir kültürleri ve <i>S.boulardii</i> ile üretilen kefire uygulanan kimyasal analizler.....	20
3.3.2.1 Toplam kuru madde miktarı tayini	20
3.3.2.2 Yağ miktarı tayini	20
3.3.2.3 Titrasyon asitliği değeri tayini	20
3.3.2.4 pH değeri tayini	21
3.3.2.5 Kül miktarı tayini.....	21
3.3.3 Farklı kefir kültürleri ve <i>S.boulardii</i> ile üretilen kefire uygulanan mikrobiyolojik analizler	22
3.3.3.1 Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı	22

3.3.3.2 <i>Lactobacillus</i> spp. sayımı.....	22
3.3.3.3 Mezofilik laktik kok sayımı.....	22
3.3.3.4 Maya sayımı.....	23
3.3.4 Farklı kefir kültürleri ve <i>S.boulardii</i> ile üretilen kefirlere uygulanan duyuşsal analizler.....	23
3.3.5 Farklı kefir kültürleri ve <i>S.boulardii</i> ile üretilen kefirlerin analiz sonuçlarına uygulanan istatistiksel analizler.....	23
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	24
4.1 Kefir Üretiminde Kullanılan UHT İnek Sütünün Kimyasal Analiz Sonuçları.....	24
4.2 Farklı Kefir Kültürleri ve <i>S.boulardii</i> ile Üretilen Kefirlerin Kimyasal Analiz Sonuçları.....	24
4.2.1 Toplam kuru madde miktarı	25
4.2.2 Titrasyon asitliği değeri	29
4.2.3 pH değeri	33
4.2.4 Yağ miktarı	38
4.2.5 Kül miktarı.....	39
4.3 Farklı Kefir Kültürleri ve <i>S. boulardii</i> ile Üretilen Kefirlerin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	40
4.3.1 Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı	41
4.3.2 <i>Lactobacillus</i> spp. sayısı.....	45
4.3.3 Mezofilik laktik kok sayısı	52
4.3.4 Maya sayısı	57
4.4 Farklı Kefir Kültürleri ve <i>S.boulardii</i> ile Üretilen Kefirlerin Duyusal Analiz Sonuçları.....	63
4.4.1 Kıvam puanı.....	64
4.4.2 Tat ve aroma puanı	68
4.4.3 Genel beğeni puanı	73
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	76
KAYNAKLAR	81
ÖZGEÇMİŞ.....	88

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Saccharomyces cerevisiae spp. *boulardii* İLE ÜRETİLMİŞ OLAN KEFİRİN KİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Büşra ÇİNAR

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Deniz KOÇAN

Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Fatma ŞAHMURAT

ÖZET

Saccharomyces boulardii probiyotik özelliği kanıtlanmış, bakteriyel, viral ve antibiyotiğe bağlı akut ve kronik diyare tedavisinde başarılı sonuçlar veren ve insan gastrointestinal sistemini düzenleyerek bağırsaklarda bulunan faydalı mikroorganizmaların tekrar kolonize olmasını sağlayan, gıda kökenli bir mayadır.

Bu çalışmada, UHT inek sütüne iki farklı geleneksel kefir danesi (Ankara-G1 ve İzmir-G2) ve iki farklı endüstriyel kefir starter kültürü (Büyüdanem-E1 ve Doğadan Bizim-E2) ve *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 (Reflor) probiyotik mayası (GSb1, GSb2, ESb1, ESb2) inoküle edilerek sekiz farklı kefir üretilmiştir. Üretilen kefirler 4 ± 1 °C’de 21 gün depolanmıştır. Depolamanın 1., 7., 14. ve 21. günlerinde kefir örneklerinin bazı kimyasal (toplam kuru madde, yağ ve kül içeriği, tirasyon asitliği ve pH değeri), mikrobiyolojik (TMAB, *Lactobacillus* spp., mezofilik laktik kok ve maya sayısı) ve duyusal özellikleri (kıvam, tat ve aroma, genel beğeni) incelenmiştir.

Depolama sonunda *Lactobacillus* spp. ile mezofilik laktik kok sayısının 8 log kob/g ve maya sayısının 6.4 log kob/g düzeyinde olması *S. boulardii* mayasının kefire iyi uyum sağladığını göstermiştir. Ayrıca kefir üretiminde *S. boulardii* kullanımının kefirin kimyasal özelliklerine olumsuz bir etkisi olmadığı belirlenmiştir. *S. boulardii* kullanımının maya içeren (G1, G2 ve E1) ve maya içermeyen (E2) kefirin kimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal özelliklerine olan etkisi ilk defa belirlenmiştir. Geleneksel kefir danesinde, *Lactobacillus* spp. ile *S. boulardii* etkileşimi daha başarılı olmuştur. Kefirler içinde en çok beğenilen *S. boulardii* içeren Ankara-GSb1 kefir olmuştur bunu Ankara-G1 ve İzmir-GSb2 kefir örnekleri takip etmiştir ($p<0.001$). *S. boulardii* içeren kefirlerin diğer kefiirlere göre tadının daha yumuşak ve lezzetli olduğu görülmüştür. Bu çalışmada geliştirilen probiyotik gıdanın klinik uygulamalarda da kullanılabilme potansiyeli vardır. Bunun için klinik araştırmalar yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *S. boulardii*, Kefir, Maya, Probiyotik, Fonksiyonel Gıda.

Ocak, 2023; 88 sayfa

M.Sc. THESIS

**DETERMINATION OF CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL
PROPERTIES OF KEFIR MADE WITH *Saccharomyces cerevisiae* spp.
*boulardii***

Büşra ÇİNAR

**Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering**

Supervisor: Dr. Öğr. Üyesi Deniz KOÇAN

Co- Supervisor: Dr. Öğr. Üyesi Fatma ŞAHMURAT

ABSTRACT

Saccharomyces boulardii is a food-borne yeast with proven probiotic properties that successfully treat bacterial, viral and antibiotic-associated acute and chronic diarrhea, and regulates the human gastrointestinal system and allows beneficial microorganisms in the intestines to colonize again.

In this study, eight different kefir samples were produced by inoculating two different traditional kefir grains (Ankara-G1 and İzmir-G2) and two different industrial kefir starter cultures (Büyüdanem-E1 and Doğadan Bizim-E2) and *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 (Reflor) probiotic yeast (GSb1, GSb2, ESb1, ESb2) into UHT cow milk. Produced kefir samples were stored at 4±1 °C for 21 days. Some chemical (total dry matter, fat and ash content, titratable acidity and pH value), microbiological (TMAB, *Lactobacillus* spp., mesophilic lactic cocci and yeast count) and sensory properties (consistency, taste and aroma, overall acceptability) of kefir samples were examined on the 1st, 7th, 14th and 21st days of storage.

After storage, *Lactobacillus* spp. (8.0 log cfu/g), the mesophilic lactic cocci (8.0 log cfu/g) and yeast count (6.4 log cfu/g) indicated that *S. boulardii* adapts well to kefir samples. In addition, it has been determined that the use of *S. boulardii* in kefir production has no negative effect on the chemical properties of kefir. The effect of the using of *S. boulardii* for kefir whether containing yeast (G1, G2 and E1) or not (E2) on their chemical, microbiological and sensory properties was determined for the first time. *Lactobacillus* spp. and *S. boulardii* interaction in the traditional kefir has been more successful. Ankara-GSb1 kefir containing *S. boulardii* was the most preferred among kefir samples, followed by Ankara-G1 and İzmir-GSb2 kefir samples (p<0.001). The taste of kefir containing *S. boulardii* has been observed to be softer and more delicious than other kefir samples. The probiotic food developed in this research has the potential to be used in clinical applications. Therefore, clinical studies are required.

Keywords: *S. boulardii*, Kefir, Yeast, Probiotic, Functional Food.

January, 2023; 88 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Kefir üretimine ait akış şeması.	17
Şekil 4.1. Kefir örneklerinin toplam kuru madde miktarının (%) depolama süresince değişimi.	28
Şekil 4.2. Kefir örneklerinin titrasyon asitliği değerinin (%laktik asit) depolama süresince değişimi.	32
Şekil 4.3. Kefir örneklerinin pH değerinin depolama süresince değişimi.	37
Şekil 4.4. Kefir örneklerinin TMAB sayısının (log kob/g) depolama süresince değişimi.	43
Şekil 4.5. Kefir örneklerinin <i>Lactobacillus</i> spp. sayısının (log kob/g) depolama süresince değişimi.	49
Şekil 4.6. Kefir örneklerinin mezofilik laktik kok sayısının (log kob/g) depolama süresince değişimi.	55
Şekil 4.7. Kefir örneklerinin maya sayısının (log kob/g) depolama süresince değişimi.	61
Şekil 4.8. Kefir örneklerinin kıvam puanının depolama süresince değişimi.	67
Şekil 4.9. Kefir örneklerinin tat ve aroma puanının depolama süresince değişimi. ..	71
Şekil 4.10. Kefir örneklerinin genel beğeni puanının depolama süresince değişimi.	75

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Kefir danesinde bulunan bakteri ve mayalar.	6
Çizelge 3.1. Kefir üretimine ilişkin deneme deseni.	16
Çizelge 4.1. Kefir üretiminde kullanılan UHT inek sütüne ait bazı kimyasal analiz sonuçları.	24
Çizelge 4.2. Kefir örneklerinin toplam kuru madde miktarları (%).	25
Çizelge 4.3. Kefir örneklerinin titrasyon asitliği değerleri (g/100g laktik asit).....	29
Çizelge 4.4. Kefir örneklerinin pH değerleri	34
Çizelge 4.5. Kefir örneklerinin kül miktarları (%).	40
Çizelge 4.6. Kefir örneklerinin TMAB sayıları (log kob/g)	41
Çizelge 4.7. Kefir örneklerinin <i>Lactobacillus</i> spp. sayıları (log kob/g).	45
Çizelge 4.8. Kefir örneklerinin mezofilik laktik kok sayıları (log kob/g)	52
Çizelge 4.9. Kefir örneklerinin maya sayıları (log kob/g).	57
Çizelge 4.10. Kefir örneklerinin kıvam puanları.	65
Çizelge 4.11. Kefir örneklerinin tat ve aroma puanları..	68
Çizelge 4.12. Kefir örneklerinin genel beğeni puanları.....	73

SİMGELER VE KISALTMALAR

ANOVA	Analysis of variance (varyans analizi)
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
CO₂	Karbondioksit
CN	Crohn hastalığı
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
FOSHU	Food for Specified Health Uses
IBS	İrritabl bağırsak sendromu
ICMSF	International Commission on Microbiological Specifications for Foods
kob	Koloni oluşturma birimi
LAB	Laktik asit bakterisi
LDL	Düşük yoğunluklu kolesterol
m/v	Hacimce oran
m/m	Ağırlıkca oran
MRD	Maksimum Recovery Diluent
MRS	De Man Rogosa ve Sharpe Agar
M17	Medium 17
NaOH	Sodyum hidroksit
PCA	Plate Count Agar
rpm	Dakikada dönüş hızı
<i>S. boulardii</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
SEM	Scanning Elektron Mikroskopu
spp.	Taksonomide türü ifade eden bir kısaltma
T.C.	Türkiye Cumhuriyeti
TGK	Türk Gıda Kodeksi
TMAB	Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri
UHT	Ultra High Temperature (Ultra Yüksek Sıcaklık)
USA	Amerika Birleşik Devletleri
ÜK	Ülseratif Kolit
YGC	Yeast Extract Glucose Chloramphenicol
YEPD	Yeast Extract Peptone Dextrose
°C	Santigrat derece
g	Gram
log	Logaritma
µL	Mikrolitre
mL	Mililitre
mm	Milimetre

1. GİRİŞ

Fonksiyonel gıdalar temel beslenmenin, sağlığa olan etkisinin ötesinde sağlık açısından ekstra faydalar sağlayan gıdalar olarak tanımlanmakta ve bazı hastalıkların önlenmesi, bazılarının tedavisi ve sağlık durumunun düzeltilmesi amacı ile kullanılmaktadır (Koçan, 2019). Probiyotik mikroorganizma içeren gıdalar fonksiyonel gıda grubunda incelenmekte ve bağırsaktan beyine kadar sağlık durumuna fayda sağlamaktadır (Perlmutter ve Loberg, 2018). Bir ürünün probiyotik sayılabilmesi için; raf ömrü boyunca probiyotik mikroorganizmanın canlılığını koruması gerekmektedir (Koçan, 2019). Probiyotik özellikler türler, suşlar hatta suş varyantları arasında büyük ölçüde farklılık gösterir. Bu özellik o mikroorganizma türünün suş ya da varyantına özgü olabilmektedir (Pais vd., 2020).

Kefirin gençlik iksiri olarak tanındığı ve çok fazla tüketildiği Kafkasya’da tüberküloz, kanser ve sindirim sistemi bozukluğu gibi hastalıklar nadir görülmekte ve insan ömrünün yaklaşık 110-130 yıl olduğu bilinmektedir. Yapılan araştırmalarla kefirin antikarsinojenik, bağışıklık sistemi düzenleyici, kolesterol seviyesi düzenleyici, antialerjik, kan şekeri düzenleyici, antimikrobiyel, laktoz intoleransı azaltıcı, tansiyon dengeleyici ve gastrointestinal sistem düzenleyici etkileri olduğu belirlenmiştir (Yüksekdağ ve Beyatlı, 2003).

Son otuz yıl içinde kefir, halk tarafından tanınarak düzenli olarak içilir duruma gelmiştir. Türkiye’de kefir üretimine dair net verilere rastlanılmamakla birlikte T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı’nın verilerine göre 2020 itibarıyla yoğurt, ayran ve kefir toplam üretim miktarı 1.7 milyon ton civarındadır (URL-1).

Probiyotik özellikte olan kefir, bakteri ve mayayı birlikte içeren kendine özgü bir floraya sahip fermente bir süt ürünüdür. Laktik asit bakterileri, asetik asit bakterileri, laktozu fermente eden mayalar ve laktozu fermente etmeyen mayalar, kefirin adı verilen bir polisakkarit matrisi içerisinde bulunmaktadır. Laktik asit bakterilerinin laktozu parçalaması sonucunda oluşan glukoz ve galaktoz gibi monosakkaritler mayalar tarafından kullanılarak bakteri ve maya birlikte gelişebilmektedir. Bakteri ve mayaların metabolik aktivitesi sonucunda oluşan karbondioksit, asetaldehit, asetoin, laktik asit ve etanol, kefire ferah ve ekşimsi bir tat vermektedir (Davras, 2018; Karagözlü vd., 2006).

Depolama süresi boyunca probiyotik ürünlerdeki laktik asit bakterilerinin canlılığında azalma meydana gelmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarla probiyotik mikroorganizmanın canlılığını uzun süre koruyabilmek için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden biri çilek, frambuaz, şeftali sosları (Ak, 2018) veya çilek, karadut, nar ve siyah havuç suyu (Alagöz-Kabakcı, 2019) gibi prebiyotiklerin eklenmesiyle probiyotik mikrobiyal canlılık süresinde artış sağlanmasıdır. Bir diğer yöntem ise, bakterilerden daha uzun süre canlılığını koruyabilen probiyotik mayaların ürüne ilave edilmesidir. Bu şekilde ürünün probiyotik özelliğinde artış sağlanmaktadır (Ivanova vd., 2012; Karaolis vd., 2013; Lourens-Hattingh ve Viljoen (2001); Ünver 2014).

Saccharomyces cerevisiae spp. *boulardii* bağırsak mikroflorasına ait olmamakla birlikte, mide asidine, safra tuzlarına, pankreatik sıvılara ve antibiyotik uygulamasına karşı dayanıklıdır (Karaolis vd., 2013). Sağlık üzerine yararlı etkileri ispatlanmış, EFSA (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi) tarafından güvenilir kabul edilmiş ve insanlarda kullanımına izin verilmiş tek probiyotik maya *Saccharomyces boulardii*'dir (EFSA, 2010). *S. boulardii* 1950'lerden beri probiyotik olarak Avrupa'da kullanılmakta ve dünya çapında klinik uygulamalarda araştırılmaktadır. Günümüzde bu maya birçok ülkede pediatrik ve antibiyotik kaynaklı diyare, *Helicobacter pylori* ve *Clostridium difficile* enfeksiyonları, Crohn hastalığı, *Entamoeba histolytica* ilişkili amipli dizanteri gibi gastrointestinal rahatsızlıkların tedavisinde koruyucu ve tedavi edici olarak kullanılmaktadır (McFarland, 2010). Liçi meyvesinden izole edilen bu maya probiyotik özelliklere sahip olduğu için biyoterapötik ajan olarak değerlendirilmiştir (Lourens-Hatting ve Viljoen, 2001). Ayrıca diyare tedavisinde ticari olarak liyofilize edilmiş formları da klinik uygulamalarda kullanılmaktadır.

S. boulardii üzerine yapılan çalışmalar daha çok hastalıkları tedavi edici klinik uygulamalar ile hayvan beslenmesinde verim ve ürün kalitesini arttırmak üzerinedir (Akdeniz vd., 2018; Ansari vd., 2023; Coqueiro vd., 2019; Curro vd., 2017; Lazo-Velez vd., 2018). Probiyotiklerin vücuda alınmasında fermente süt ürünleri çok etkili gıdalardır ancak fermente süt ürünlerinde probiyotik mikroorganizma kullanımı ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. Bu nedenle fermente ürünlerde *S. boulardii* kullanımına dair yapılacak araştırmalara büyük ihtiyaç duyulmaktadır.

Kefir içerisinde laktik asit ve asetik asit bakterileri yanında *Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Kazachstania*, *Torulospira* ve *Pichia* cinsi mayalar da bulunmaktadır. Bu nedenle kefirin mikrobiyal florasına *S. boulardii* mayasının uyum sağlama potansiyeli olduğu bilinmektedir. Ancak probiyotikler, karışık flora olarak kullanıldığı takdirde her zaman kararlı olmayıp farklı yeteneklere veya enzimatik aktivitelere sahip olabilmektedir (Marsh vd., 2013; Pais vd., 2020). *S. boulardii* mayasının eklendiği kefirde lezzet ve aromatik özelliklerin geliştiği, daha lezzetli bir kefir elde edildiği ve maya sayısında da artış olduğu bildirilmiştir (Ivanova vd., 2012).

Kefirde *Saccharomyces boulardii* probiyotik mayasının kullanımı, probiyotik ürün çeşitliliğinin artırılmasının yanında antibiyotik kullanımına bağlı diyare şikâyetlerinin tedavisinde de alternatif bir uygulama olma potansiyeli taşımaktadır. Bu çalışmada *S. boulardii* mayası ile kefir starter kültürleri (geleneksel ve endüstriyel) birlikte kullanılarak üretilen kefirin 4 ± 1 °C’de 21 gün depolama süresi boyunca mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşal özellikleri araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Kefir

2.1.1 Kefirin genel özellikleri

Fermente bir sütü ürünü olan kefirin başlangıç noktası Kafkas dağlarıdır. Ayrıca Doğu Avrupa, Rusya ve Güneybatı Asya’da da geleneksel olarak kefir üretilmektedir. Kefir danesinin veya kefirin ilk ne zaman ortaya çıktığı tam olarak bilinmemektedir. Ancak kefir danelerinin ilk olarak, keçi tulumunda inek sütünün şirden ile pıhtılaştırılması sonrası birkaç hafta içinde tulumun iç yüzeyinde süngerimsi bir yapının oluşması şeklinde ortaya çıktığı sanılmaktadır. Daha sonra bu yapının inokülasyon için kullanılarak kefir üretildiği bildirilmiştir (Koyu, 2018; Tunay, 2018).

Kefir isminin Kafkaslarda “en iyi yapılan”, Orta Asya ve Araplarda ise “keyif veren, coşturan” anlamında keyf veya köpük anlamında kef sözcüklerinden türediği bilinmektedir. Kuzey Kafkasyalı Müslümanlar sağlıklı ve uzun yaşam için kefir danelerinin kendilerine bir hediye olduğuna inanırlardı. Tibet’te bulunan rahiplerin, tapınaklara gelen ziyaretçilerin hastalıklarına şifa olarak kefir dağıttığı bilinmektedir. Kafkaslarda yaşayan halkın, protein, mineral ve vitamin oranı yüksek olan kefir yaygın olarak beslenmelerine katmaları nedeniyle ömürlerinin uzun olduğu bilinmektedir (Atılğan, 2018; Davras, 2018; Güzel-Seydim ve Kök-Taş, 2019).

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği (Tebliğ No: 2022/44)’ne göre kefir; fermantasyonda spesifik olarak *Lactobacillus kefir*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* ve *Acetobacter* cinslerinin değişik suşları ile laktozu fermente eden (*Kluyveromyces marxianus*) ve laktozu fermente etmeyen (*Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces exiguus*) mayaları içeren starter kültürler ya da kefir danelerinin kullanıldığı fermente süt ürünü olarak tanımlanmaktadır.

Kefirde bulunan laktik asit bakterileri ve mayaların sütü fermente etmeleri sonucunda laktik asit, CO₂, az miktarda alkol ve aromatik maddeler (asetaldehit, aseton, diasetil) oluşmakta ve oluşan bu metabolitler kefire taze, ferah ve ekşimsi bir tat vermektedir (Ak, 2018). Kefirin keskin asit tadı ve köpüklü yapısı mayaların ürettiği CO₂’den kaynaklanmaktadır (Karatepe vd., 2012).

2.1.2 Kefir danesi ve kefirin mikrobiyolojik özellikleri

Kefir daneleri, kefir üretiminde starter kültür olarak görev almakta ve fermantasyon sonunda üründen süzülmesiyle geri kazanılmaktadır. Kefir daneleri beyaz, bej ya da krem rengi olmak üzere değişen renkte, yumuşak ve elastik tekstürde, çapı 1-2 mm'den 3-6 mm'ye kadar değişen, karnabahara veya patlamış mısıra benzeyen polisakkarit bir yapıdadır. Kefiran da denilen kefir danesi %14 kuru madde içermekte olup kuru madde %58 polisakkarit, %30 protein, %4 yağ ve %3 kül bileşenlerinden oluşmuştur. Şekilleri düzgün olmayan kefir daneleri, suda erimez, süte ilave edildiğinde ise şişer ve çoğalır. Kefir daneleri, taze süte eklenerek yaklaşık 20 saat oda sıcaklığında inkübe edilmektedir. İnkübasyon boyunca dane mikrobiyotasının aktivitesi sonucunda danelerin kütlesi yaklaşık %3-3.5 oranında artmaktadır. Ayrıca danelerin canlılıklarını korumaları için ardışık pasaj işleminin sürekli yapılması gerekmektedir (Aşcı-Arslan, 2015; Güzel-Seydim ve Kök-Taş, 2019; Koyu, 2018).

Kefir danesi, laktik asit bakterileri, asetik asit bakterileri ve mayalardan oluşan simbiyotik bir mikrobiyotaya sahiptir. Kefir mikrobiyotasında pek çok homofermentatif ve heterofermentatif laktik asit bakterisi ile laktozu fermente eden ve laktozu fermente etmeyen mayalar tespit edilmiştir (Güzel-Seydim ve Kök-Taş, 2019; Tunay, 2018). Kefir dane mikrobiyotasının elektron mikroskobu (SEM) ile incelendiği bir çalışmada, kefir danesinin dış kısmında *Lactobacillus* türleri ile laktozu fermente edebilen mayalar ve fibrillar bir madde olan kefiran gözlenmiştir (Güzel-Seydim vd., 2005). Kefir danesinin iç kısımlarında ise *Lactobacillus* türleri ile laktozu fermente edemeyen mayalar bulunmaktadır. Kefirde baskın maya grubunu laktozu fermente edemeyen mayalar oluşturmaktadır. Kefirde etanol ve CO₂ üretiminden mayalar sorumlu olmakla birlikte, *Lactobacillus kefir* gibi heterofermantatif laktobasiller de alkol ve CO₂ üretebilme yeteneğine sahiptir. *L. mesenteroides* laktozu laktik asit, asetik asit, etanol ve karbondioksit indirgeyebilir ve sitrik asidi diasetile indirgeyerek iyi bir tat verir. Çizelge 2.1'de kefir danesinde belirlenmiş olan bakteri ve mayalar verilmiştir (Rattray ve O'Connel, 2011).

Kefirin mikrobiyal florasında; danenin orijini, içerdiği mikroorganizmaların düzeyi, mikroorganizma türlerinin birbirine oranı, üretimde uygulanan inkübasyon sıcaklığı, süresi ve kefir danelerinin muhafaza şartları ve süresi gibi birçok faktör etkilidir (Dinç, 2008). Kefir danesi genel olarak, 10⁹ kob/g *Lactococcus* spp., 10⁷-10⁸ kob/g

Leuconostoc spp., 10^7 - 10^8 kob/g *Lactobacillus* spp., 10^4 - 10^5 kob/g *Acetobacter* spp. ve 10^4 - 10^5 kob/g maya içerir (Atılğan, 2018; Davras, 2018). Kefirde tespit edilen maya cinsleri içinde *Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Kazachstania*, *Torulospira* ve *Pichia* yer almaktadır (Güzel-Seydim ve Kök-Taş, 2019; Tunay, 2018).

Kefirin bu zengin mikrobiyotası içinde yer alan *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus kefirgranum*, *Lactobacillus parakefiri* doğada başka bir kaynaktan bulunmayan, kefir danesine özgü olan ve probiyotik özellikleri tespit edilmiş bakterilerdir (Güzel-Seydim ve Kök-Taş, 2019).

Çizelge 2.1. Kefir danesinde bulunan bakteri ve mayalar.

<i>Lactobacillus</i> spp. Homofermantatif <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> <i>Lactobacillus kefirgranum</i> Heterofermantatif <i>Lactobacillus kefir</i> <i>Lactobacillus parakefir</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>casei</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus fructivorans</i> <i>Lactobacillus hilgardii</i>	<i>Lactococcus</i> spp. ve <i>Leuconostoc</i> spp. Homofermantatif <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> Heterofermantatif <i>Lactococcus lactis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i> <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Bifidobacterium breve</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Acetobacter</i> spp. <i>Acetobacter aceti</i> <i>Acetobacter rasens</i> Diğerleri <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Enterococcus durans</i>	Mayalar Laktozu fermente edebilen <i>Kluyveromyces marxianus</i> <i>Candida kefir</i> <i>Kluyveromyces lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Debaryomyces hansenii</i> <i>Candida famata</i> Laktozu fermente edemeyen <i>Saccharomyces turicensis</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Saccharomyces exiguus</i> <i>Saccharomyces pastorianus</i> <i>Pichia fermentans</i> <i>Torulaspira delbrueckii</i> <i>Candida friedricchi</i> <i>Kazachstania exigua</i> <i>Kazachstania unispora</i> <i>Kluyveromyces fragilis</i> <i>Candida firmetaria</i> <i>Candida humilis</i> <i>Candida krusei</i> <i>Candida maris</i> <i>Candida lipolytica</i>
--	--	---

2.1.3 Kefirin sağlık üzerine etkisi

Kefir, süt içindeki tüm besin maddelerini içerdiği için besin değeri yüksek bir üründür. Kefir danesinin içerdiği mikroorganizmalar, sütteki laktozu ve proteinlerin bir kısmını parçaladığı için kefirin vücut tarafından sindirimi kolaylaşmaktadır. Kefir fermantasyonu sırasında yüksek oranda piridoksin (B6), biyotin (B7), folik asit (B9) ve siyanokobalamin (B12) vitaminleri ile mineral madde ve esansiyel amino asitler

oluşmaktadır (Aşcı-Arslan, 2015). Kefirin bileşimi üretildiği süte göre değişmekle beraber ortalama %86.3-90 su, %3-4.5 protein, %6.0 karbonhidrat, %0.7-1.2 kül, %3.0 yağ, %1.0 laktik asit ve %0.48- 1.0 etil alkol şeklindedir (Yıldırım, 2016).

Kefir antioksidant, antihipertansif, antiinflamatuvar, antitümoral, antidiyabetik, antialerjik, antiobezite etkili olan, bağışıklık sistemini güçlendiren, sindirim sistemini düzenleyen, serum kolesterol seviyesinin, laktoz intolerans semptomlarının ve diyarenin azalmasına yardımcı olan fonksiyonel bir gıdadır. Kefir, sinirsel rahatsızlıklara, iştahsızlığa ve uykusuzluğa karşı da iyi gelmektedir. Ayrıca kefirin karaciğer, safra, böbrek fonksiyonları ve kan dolaşımı üzerine olumlu etki gösterdiğine dair çeşitli araştırma sonuçları bulunmaktadır (Güzel-Seydim ve Kök-Taş, 2019).

Kefir bileşiminde bulunan fermantasyon metabolitlerinden olan süt proteinleri, biyoaktif peptitler, bütirik, palmitik asit gibi kısa zincirli yağ asitleri, laktik asit, sitrik asit, asetik asit gibi organik asitler, bakteriyosinler ve prebiyotik nitelikteki galaktooligosakkaritlerin de sağlık üzerinde olumlu etkileri bulunmaktadır (Güzel-Seydim ve Kök-Taş, 2019). Bu metabolitler prokarsinojeni kanserojene dönüştüren enzimlerin aktivitesini baskılayarak tümör oluşumunu engellemekte ve bağışıklık sistemini aktif hale getirerek antikanserojenik etki göstermektedir (Güzel-Seydim vd., 2011; Yıldırım, 2016).

Baran (2008) tarafından yapılan çalışmada, kefir tüketiminin irritabl bağırsak sendromu (IBS) hastalarının semptomlarını ve hayat kalitesi üzerindeki etkilerini ortaya koymayı ve IBS gibi soyut özellikleri olan bir hastalığın değerlendirilmesi için global semptom skoru, hayat kalitesi anketi ve semptom günlüğünü içeren, farklı ve objektif ölçüm yöntemleri kullanarak kıyaslanabilir somut veriler elde edilmesi amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre kefir, IBS hastalarının semptomlarında ve hayat kalitesinde kefir yerine ayran tüketen kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha fazla düzelme sağlamıştır. IBS hastaları için çok çeşitli tedavi seçenekleri mevcuttur ancak bunların etkinliği yeterli düzeyde değildir. Probiyotiklerin ise risksiz ve kolay ulaşılabilir olmaları nedeniyle önemli bir tedavi seçeneği olduğu düşünülmektedir.

Bekar (2007), kefirin *Helicobacter pylori* eradikasyonuna ve tedavi kaynaklı oluşan yan etkiler üzerine etkisini incelenmiştir. Hastalar iki gruba ayrılarak bir gruba tedaviye ek olarak kefir verilmiştir diğer gruba ise kefir yerine plasebo olarak süt

verilmiştir. *H. pylori*'nin standart tedavisine kefir eklenmesiyle plaseboya göre daha iyi eradikasyon oranları ve tedaviye bağlı yan etki sıklığı ve şiddetinde azalma olduğu tespit edilmiştir.

Adiloğlu vd. (2013) tarafından kefir tüketiminin insan bağışıklık sistemi üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, sağlıklı gönüllülerde kefir tüketimi sonrası serum sitokin profillerinin araştırılarak kefirin doğal bağışıklığa ve alerjik yanıtı olan etkilerinin saptanması amaçlanmıştır. Kefirde bulunan probiyotik bakteriler, bağırsaktaki reseptörlere bağlanarak patojen bakterilerin hücreye tutunmasını zorlaştırmakta ve hücre içine girmesine engel olmaktadır. Böylece doğal bağışıklık yanıtının da aşırı tepki vermesi önlenerek antialerjik etki gösterdiği bildirilmektedir.

Koyu (2018), metabolik sendromlu hastalarda düzenli kefir tüketiminin metabolik sendrom parametreleri ve inflamatuvar yanıtı etkisini incelemiştir. Çalışma metabolik sendrom tanısı almış, 62 yetişkin birey (erkek: 17, kadın: 45) ile yürütülmüştür. Çalışmaya dahil edilen bireylere, 12 hafta süre ile kefir (180 mL/gün) ya da süt (180 mL/gün) verilerek, fiziksel ve biyokimyasal bulguları ile antropometrik ölçümlerindeki değişimler değerlendirilmiştir. Çalışmada kefir alan bireyler müdahale grubunu, süt alan bireyler ise kontrol grubunu oluşturmuştur. Bu çalışmadaki bulgularda, kefir tüketiminin inflamatuvar parametreler, kan basıncı ve homosistein gibi kardiyovasküler risk etmenleri üzerine olumlu etkileri olabileceğini göstermektedir. Ayrıca, LDL kolesterolü yüksek olan bireylerde düzenli kefir tüketimi ile LDL kolesterolün %7.6 oranında azaltılabileceği saptanmıştır. Bu çalışma sonucunda elde edilen bulgular düzenli kefir tüketiminin riskli bireylerde kardiyovasküler riskin azaltılmasına yardımcı olabileceğini ortaya koymaktadır.

Yılmaz (2018) tarafından yapılan bir çalışmada ise, kefirin bazı probiyotik özellikleri belirlenmiş ve inflamatuvar bağırsak hastalarının semptomlarına, dışkılarındaki *Lactobacillus* florasına etkileri incelenmiştir. Çalışmaya 18-68 yaş aralığındaki Crohn (CN) tanısı alan 23 hasta ve Ülseratif Kolit (ÜK) tanısı alan 25 hasta alınmıştır. Tedavi grubundaki hastalar, 4 hafta boyunca, sabah akşam, 200mL kefir tüketmiş, kontrol grubu hastaları kefir tüketmemişlerdir. Çalışmada, kefir kullanmaya başlayan ÜK ve CN hastalarında ilk haftalarda kefir probiyotiklerinin kolonize olduğu ve bağırsaktaki pozitif dengenin sağlanmaya başlandığı son iki haftada ise hastalık belirtileri ve hayat kalitesinde önemli ölçüde düzeltilmelerin görüldüğü belirtilmiştir. Elde edilen verilere

göre, kefir kullanan hastalarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında karın ağrısı, şişkinlik ve hayat kalitesi gibi bazı kriterlerde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düzelme olduğu saptanmıştır. CN hastalarında son iki haftada karın ağrısı skoru ÜK hastalarına göre daha fazla düşme eğilimi gösterirken kendini iyi hissetme skoru CN hastalarında daha fazla artış göstermiştir. CN hastalarının ilk 2 hafta ile son iki hafta semptom günlüğü verileri incelendiğinde şişkinlik ve kendini iyi hissetme açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. Kefir kullanımı, defekasyon sayısını anlamlı şekilde etkilememiştir fakat hastalarda gaita kıvamında iyileşme sağlamıştır.

2.2 *Saccharomyces boulardii*

2.2.1 *Saccharomyces boulardii*'nin genel özellikleri

S. boulardii *Saccharomycetaceae* familyasına ait, Gram pozitif, yaklaşık 4-5 mm çapında, oval, sferik görünümde, askospor oluşturan, optimum 37 °C'de gelişen glukoz, galaktoz, fruktoz, sakaroz gibi karbonhidratları parçalama ve fermente etme yeteneğine sahip bir mayadır. *Saccharomyces boulardii*, dünyada ilk olarak 1923 yılında Fransız bir bilim adamı olan Henry Boulard tarafından liçi ve mangostan meyvelerinden izole edilmiştir (McFarland, 2017). *S. boulardii* süt, yoğurt, krema, dahi, peynir ve kefir gibi çeşitli süt ürünlerinden de doğal olarak izole edilmiştir (Lazo-Velez vd. 2018). Probiyotik özellikte olup, patojen mikroorganizmaları inhibe edebilmektedir (Ürkek vd., 2014).

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından güvenilirliği onaylanmış, diyare tedavisinde etkinliği klinik olarak ispatlanmış ve insanlarda kullanımına izin verilmiş tek probiyotik mayadır (EFSA, 2010). *S. boulardii*, insan sindirim sistemini düzenlemek ve bağırsaklarda bulunan faydalı mikroorganizmaların tekrar kolonize olmasını sağlamak amacıyla, probiyotik olarak kullanılmaktadır. İnsan kaynaklı bir probiyotik olmamasına rağmen insan vücut sıcaklığında çok rahat gelişerek, mide asitliğini ve bazı antibiyotiklerin mevcudiyetinden inhibe olmamakta ve insan mikrobiyotasını olumsuz yönde etkilememektedir. Sindirim sistemine ulaştıktan 2 gün sonra en yüksek düzeye ulaşır ve 5 gün içinde dışkı ile vücuttan atılır (Ansari vd., 2023). Bağırsaklarda canlı kalabilmesi ve antibiyotik uygulamalarına karşı dirençli olması nedeniyle yeni fonksiyonel ürünlerin üretiminde iyi bir seçenek olabileceği düşünülmektedir (Ünver, 2014).

2.2.2 *Saccharomyces boulardii*'nin sağlık üzerine etkisi

S. boulardii 1950'den beri dünyanın birçok ülkesinde diyare tedavisinde kullanılmakta olup çocuklarda ve yetişkinlerde *Clostridium difficile*, rota virüs ya da antibiyotiğe bağlı akut ve kronik diyare tedavisinde başarılı sonuçlar vermiştir (McFarland, 2017).

S. boulardii mayasının ürettiği enzimler ve kısa zincirli yağ asitleri gibi bileşikler sayesinde faydalı bağırsak florasının ve bağırsak epitel hücrelerinin güçlenmesini sağlar. Ayrıca proteaz enzimi ve protein yapısında maddeler sentezleyerek patojen ve toksinlerin inhibisyonunu sağlamakta ve inflamasyona sebep olan bağışıklık proteinlerini de düzenleyerek anti-toksin ve anti-mikrobiyal etki göstermektedir (Yıldıran vd., 2017).

Helicobacter pylori ile enfekte olmuş hastalarla yapılan bir çalışmada, *S. boulardii* takviyesinin tedavinin yan etkilerinden olan kusma ve diyareyi azalttığı ve *H. pylori* bakteri inhibisyonunu ise hızlandırdığı görülmüştür (McFarland, 2017).

Çocuklarda görülen kronik diyare üzerine yapılan bir çalışmada, *S. boulardii* takviyesinin, diyareyi 4.7-5.5 günde önemli ölçüde azalttığı ve hastane koşullarında bu sürenin 2.9-3.9 güne düştüğü açıklanmıştır (Alkan, 2012).

C. difficile hastalığının tedavisinde hastalara 10 gün boyunca antibiyotik ve 28 gün boyunca da *S. boulardii* ya da plasebo verilmiştir. Sonuçlara göre *S. boulardii*'nin diyareyi azalttığı ve bu hastalığı önleyebileceği tespit edilmiştir. Bir diğer çalışmada ise farelerde, *C. difficile*'nin bağırsaklarda meydana getirdiği zararlara karşı *S. boulardii*'nin etkisi incelenmiştir. Araştırma sonunda *C. difficile*'nin ürettiği toksin A ve B miktarının azaldığı tespit edilmiştir (Ürkek vd., 2014).

2.3 Kefirde Bakteri ve Maya Etkileşimi

Kefirde bulunan bakteri ve mayalar simbiyotik bir ilişki göstermektedir. Yapılan çalışmalar ile probiyotik bakteri ve mayaların birbirleri üzerine canlılıklarını sürdürme ve geliştirme gibi olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Bu olumlu etkilerinin peptitler, aminoasitler ile vitaminler gibi besin elementlerinin üretimi ile ilgili olduğu bildirilmiştir (Yıldıran, 2017). Fermantasyon aşamasında laktik asit bakterileri, mayalar tarafından üretilen vitamin ve aminoasitleri, mayalar ise laktik asit bakterileri

tarafından üretilen laktik asiti enerji kaynağı olarak kullanmaktadır. Böylece ortamdaki laktik asit azalarak pH yükselmekte ve laktik asit bakterilerinin gelişimi teşvik edilmektedir. Ayrıca kefirde bulunan mayalar ve *Acetobacter* spp. tarafından üretilen vitaminlerin de laktik asit bakterilerinin gelişimini hızlandırdığı bildirilmiştir. Bakteriler için gerekli ortamı hazırlayan mayalar tarafından üretilen metabolitler kefirin lezzetine de katkıda bulunmaktadır (Karaolis vd., 2013).

S. boulardii mayası glukoz, galaktoz, fruktoz ve sakarozu fermente ederken laktozu fermente edip parçalayamadığı bilinmektedir. Ayrıca maya, laktik asidi metabolize edebilirken sitrik asit ve süksinik asidi gelişim faktörü olarak kullanamamaktadır. Yapılan çalışmalarda *S. boulardii* mayasının proteolitik ve lipolitik aktivitesi olmadığı belirlenmiştir (Karaolis vd., 2013; Lourens-Hattingh ve Viljoen, 2001).

2.4 Süt Ürünlerinde *Saccharomyces boulardii* Mayasının Kullanımı

Lourens-Hattingh ve Viljoen (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, yoğurtlara ilave edilen *S. boulardii* mayasının, 4 hafta raf ömrü boyunca *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium lactis* (AB) bakterilerinin canlılıkları üzerine etkisi belirlenmiştir. Saf *S. boulardii* kültürü sade AB-yoğurt, meyve aromalı AB-yoğurt ile UHT süt ve tatlandırılmış UHT yoğurda eklenmiş ve ürünler 4°C’de 4 hafta boyunca depolanmıştır. Her ürünün inokülasyon düzeyini belirlemek için inokülasyondan hemen sonra (1.gün) ile ilk beş gün boyunca 2 saatte bir ve 29 gün boyunca da üç günlük aralıklarla ardışık olarak mikrobiyal analizler yapılmıştır. Sade AB yoğurt ile UHT yoğurtta *S. boulardii*’nin genel hücre popülasyonu, depolama süresi boyunca birkaç dalgalanma ile hemen hemen aynı kaldığı, meyveli AB yoğurtta ise *S. boulardii* sayısının, 7.7 log kob/mL’den 8.1 log kob/mL’ye arttığı belirlenmiştir. Bu artışın meyveden gelen sakaroz ve fruktoz gibi kolay fermente edilebilir şekerlerden kaynaklanmış olabileceği belirtilmiştir. *S. boulardii*’nin ilave edildiği yoğurtlarda raf ömrü boyunca maya sayısında artış gözlenmiştir. Meyveli AB yoğurt ve tatlandırılmış UHT yoğurtta yüksek oranda bulunan mayalar aşırı gaz üretimine neden olmuştur. Üretimin 5. ve 11. günlerinde mevcut fermente şekerlerin tükenmesiyle maya gelişimleri durmuştur. *S. boulardii*, UHT süt içerisinde de canlılığını sürdürmüş ve sayısını 8.15 log kob/mL’den 8.5 log kob/mL düzeyine çıkarmıştır. Literatüre göre, *S. boulardii* mayası laktozu fermente etme yeteneğinde olmadığı için UHT sütteki maya sayısındaki artıştan serbest aminoasitler, yağ asitleri veya sütte bulunan eser miktarda

galaktoz ve glukoz gibi diğ er süt bile senlerinin sorumlu olabileceği ileri s r lm   t r. Sonuçlara göre probiyotik maya türlerinin a ırrı gaz veya alkol oluşturmaması nedeniyle özellikle süt ve sade yoğurtlarda kullanılabileceği anlaşılmıştır.

Karaolis vd. (2013) tarafından, probiyotik keçi yoğurdu üretiminde laktik asit bakterisi (LAB)  zerine *S. boulardii* mayasının etkisi araştırılmıştır. Çalışmada keçi sütünün kullanıldığı üç ayrı yoğurt  retilimi yapılmıştır. İlk yoğurt üretiminde sadece starter kültür kullanılırken ikinci yoğurtta starter kültürle beraber aynı anda probiyotik maya ilave edilmiştir.    nc  yoğurt üretiminde ise starter kültür ilave edilmiş, pıhtılaşma gerçekleşmiş ve ardından probiyotik maya ilave edilmiştir.  retilimi takiben 28 gün boyunca ürünün tadında önemli bir değişiklik gözlenmediği, probiyotik maya sayısında ciddi bir azalma olmadığı ve probiyotik maya ilaveli yoğurtta LAB sayısının kontrol örneğine göre daha yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir. *S. boulardii*, fermentasyon yan ürünlerinden laktik asit ve galaktozu gelişim faktörü olarak kullanmış ve sayısını saklama süresi boyunca yaklaşık 5 log kob/g olarak sabit tutmuştur. LAB düşük pH derecelerine duyarlı olduğu için asitliğin artmasıyla birlikte sayıları da azalmaktadır. *S. boulardii*, organik asitleri metabolize etme yeteneğine sahip olduğu için bu durumu tersine çevirebilmektedir. Yoğurt 2  rneğinde starter ile maya aynı anda süte inoküle edildiği için, maya için hayati bir karbon kaynağı olan starter fermentasyon yan ürünlerinden galaktoz ve laktik asit ortamda bulunmadığından ilk aşamalarda *S. boulardii*’nin gelişimi engellenmiştir. Yoğurt 3  rneğinde ise yoğurt pıhtısının oluşmasından sonra maya süspansiyonu eklendiği için *S. boulardii*, laktik asit ve galaktozu hemen fermente edebilmiştir. Depolamanın 13. gününden sonra, toplam LAB sayısı Yoğurt 1  rneğinde d   erken, Yoğurt 2 ve 3  rne lerinde önemli ölçüde daha yüksek ve nispeten sabit kalmıştır. Sonuç olarak maya varlığının LAB sayısında artı a sebep olduğu ve *S. boulardii* mayasının yoğurtta kullanılabileceği belirlenmiştir.

 nver (2014), tarafından yapılan çalışmada ise *S. boulardii* mayası ve üç farklı prebiyotik bileşen (dire n li nişasta, inülin, oligofruktoz) ilavesi ile üretilen yoğurtların 21 günlük depolama süresi boyunca fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik, duysal özellikleri kar ıla tırılmı  ve *S. boulardii* mayası ile üretilen yoğurtların probiyotik  zellikliini koruyabilme durumu incelenmiştir. Yoğurt  rne lerinde depolamanın ilk 14 gününde *S. boulardii* maya sayısı azalmamı  ve maya canlılığını korumuştur.

Depolamanın 21. gününde ise oligofruktoz ilaveli yoğurtlar hariç diğer yoğurtlarda maya sayısında istatistiksel olarak anlamlı azalmalar görülmüştür. Azalma değerleri kontrol örneklerine benzer olması nedeni ile prebiyotik bileşenlerden olan dirençli nişasta ilavesinin probiyotik maya gelişimini çok fazla etkilemediği belirtilmiştir. Ayrıca çalışmada, oligofruktoz ilavesinin maya sayısında artışa neden olduğu, inülin ilavesinin ise probiyotik olma özelliğini korumada yardımcı olduğu bulunmuştur. Bunun yanında örneklerin fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal özellikleri üzerinde ise prebiyotiklerin ve probiyotik mayanın anlamlı bir etki oluşturmadığı saptanmıştır. *S. boulardii*'nin antibiyotik kullanımı sonucunda oluşan diyareyi önleyici etkilerinin olması ve üretilen yoğurtta 21 gün raf ömrü boyunca maya sayılarının anlamlı bir düşüş göstermemesi bu yoğurtların gıda sektöründe fonksiyonel gıda olma potansiyelini göstermiştir.

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada 4 adet farklı kefir starter kültürüne *S. boulardii* mayası ilave edilerek sekiz farklı kefir üretilmiştir. Kefir starter kültürleri UHT inek sütüne ilave edilerek 25 °C’de 20-24 saat pH 4.6’ya kadar fermente edilmiştir. Daha sonra 4±1 °C’de 24 saat bekletilerek olgunlaştırılan kefire, depolamanın 1., 7., 14. ve 21. günlerinde kimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal analizler yapılmıştır.

3.1 Materyal

3.1.1 UHT inek sütü

Çalışmada kullanılan %3 yağlı UHT inek sütü, SEK marka olup yerel marketten temin edilmiştir.

3.1.2 Endüstriyel ve geleneksel kefir starter kültürü

Çalışmada kullanılan endüstriyel kefir starter kültürleri olarak; Danem Süt ve Süt Ürünleri Ltd. Şti. (Isparta) tarafından üretilmiş Büyüdanem markalı kefir danesi ve Doğadan Bizim Gıda ve Süt Ürünleri Sanayi ve Tic. Ltd. Şirketi (İstanbul) tarafından üretilmiş Doğadan Bizim markalı liyofilize kefir kültürü kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan geleneksel kefir starter kültürü olarak; Ankara’dan temin edilen kefir danesi ve İzmir’den temin edilen kefir danesi kullanılmıştır.

3.1.3 *Saccharomyces boulardii* kültürü

Probiyotik maya olarak kullanılan Biocodeks (Fransa) firması tarafından üretilen Reflor markalı *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 probiyotik mayası eczaneden temin edilmiştir.

3.2 Metot

3.2.1 Starter kültürlerin aktifleştirilmesi

Bu çalışmada üretilen kefirlerin kimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal analizlerinin 21 gün boyunca yapılabilmesi için yeterli miktarda kefir üretimi gerçekleştirilmiştir. Bunun için kefir starteri ardışık pasajlar ile aktif olması sağlanmıştır.

3.2.1.1 Farklı kefir starter kültürünün aktifleştirilmesi

Kefir üretiminde kullanılan geleneksel kefir kültürünü (Ankara ve İzmir) aktifleştirmek için UHT inek sütüne kefir daneleri inoküle edilmiş ve 25 °C’de 20 saat inkübe edilmiştir. Bu işlem 2 pasaj şeklinde tekrarlanmıştır. İnkübasyon sonunda kefir daneleri steril bir süzgeç yardımıyla kefirde ayrılmıştır. Kefir daneleri aşılama olmadığında 1:1 oranında steril süt ve kefir karışımı içerisinde 4±1 °C’de 10 gün muhafaza edilmiştir. Endüstriyel kefir kültürü Büyüdanem kefir danesini aktifleştirmek için UHT inek sütüne kültür inoküle edilmiş ve 25 °C’de 7 saat inkübe edilmiştir. Doğadan bizim liyofilize kefir starter kültürünü aktifleştirmek için de 25 °C’de UHT inek sütüne kültür inoküle edilmiş ve 60 dakika inkübe edilmiştir.

3.2.1.2 *S. boulardii* starter kültürünün aktifleştirilmesi

S. boulardii mayasının aktivasyonu amacıyla 5 mL sterilize distile suya, 2 g liyofilize probiyotik maya aseptik koşullarda eklenerek karıştırılmış ve oluşturulan süspansiyondan Yeast Extract Peptone Dextrose Agar (YEPD Agar) (maya ekstraktı 5 g/L, et peptonu 10 g/L, glukoz 20 g/L, agar 15 g/L) besiyerine sürme yapılarak 25 °C de 2 gün inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonunda elde edilen tek kolonilerden alınarak, Yeast Ekstrakt Peptone Broth (YEPD Broth) (maya ekstraktı 5 g/L, et peptonu 10 g/L, glukoz 20 g/L) besiyerine aktarılmış ve 25 °C’de 2 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda kültür 50 mL steril santrifüj tüplerine aktarılmış ve 4 °C’de 4100 rpm döndürme hızında 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra tamponlanmış peptonlu su ile örnekler yıkanarak aynı koşullarda santrifüj işlemi uygulanmış ve diluent uzaklaştırılmıştır. Bu işlem 2 kez tamponlanmış peptonlu su ile 2 kez de steril saf su ile olmak üzere dört kez tekrarlanmıştır (Karaolis vd., 2013).

Elde edilen bu maya süspansiyonundan Maximum Recovery Diluent (MRD) (Merck-Almanya) seyreltme sıvısı kullanılarak seyreltme işlemi yapılmış ve yayma kültürel ekim yöntemiyle Yeast Extract Glucose Chloramphenical Agar (YGC Agar) (Merck-Almanya) besiyerine ekim yapılarak 25 °C de 3 gün inkübe edilmiş ve *S. boulardii* maya sayısı belirlenmiştir. *S. boulardii* içeren kefirlerin üretimi için daha önce ön deneme ile sayısı belirlenen bu hücrelerden 10⁵ kob/mL olacak şekilde UHT süte aktarılmıştır.

3.2.2 Kefir üretimi

3.2.2.1 Farklı starter kültürler ile kefir üretimi

UHT inek sütüne %3 (m/v) oranında kefir danesi ilave edilerek 25 °C sıcaklıkta pH 4.5-4.6 oluncaya kadar fermentasyona bırakılmıştır. Yaklaşık 20-24 saat sonra pH 4.5-4.6 olduğunda fermentasyona son verilerek kefir daneleri steril bir süzgeç yardımı ile süttten ayrılması sağlanmıştır. Süzülen kefir 4±1 °C’de soğutularak 12 saat olgunlaştırılmıştır. Çalışmada kefir üretimi cam kavanozlar içinde yapılmıştır.

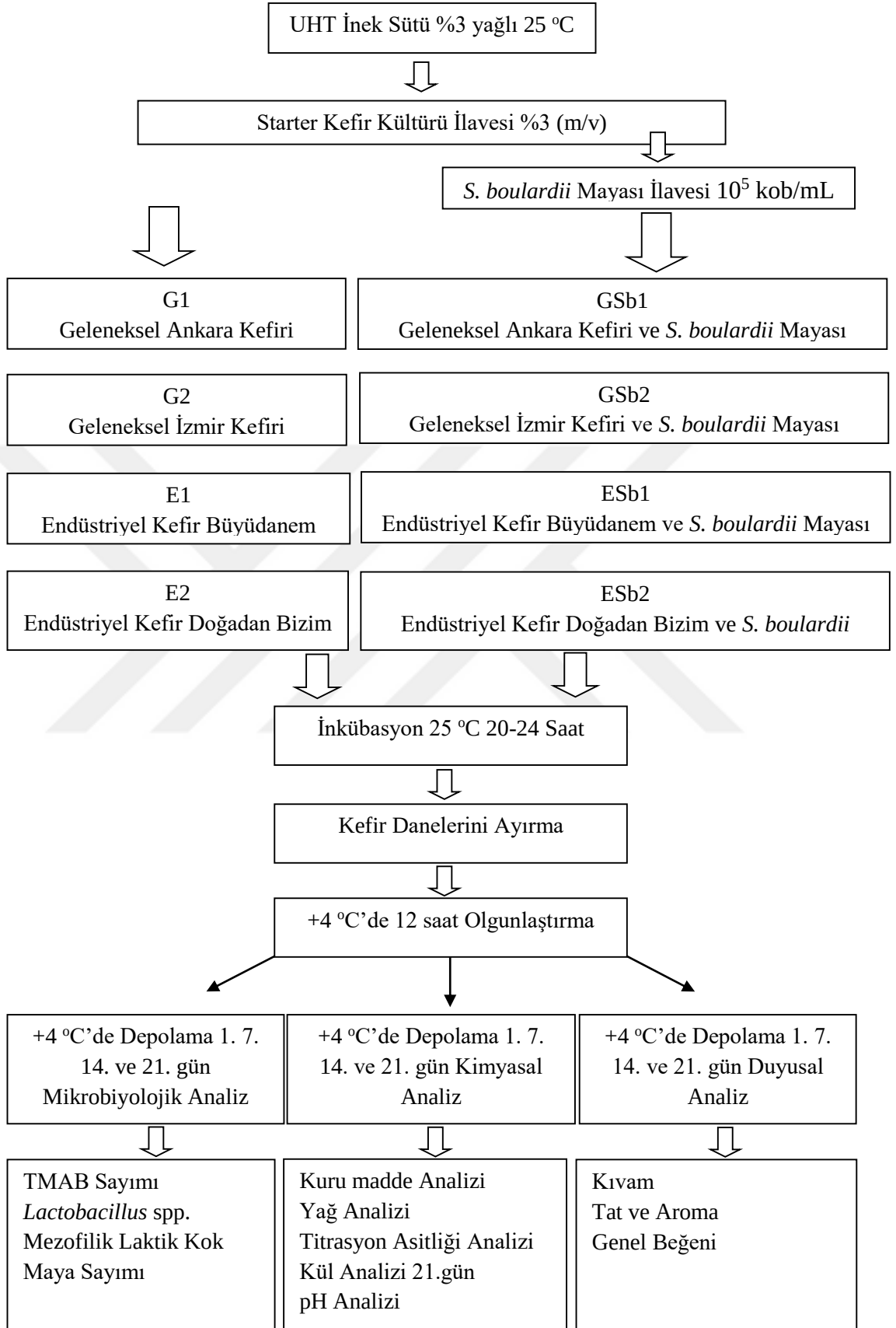
3.2.2.2 *S. boulardii* probiyotik mayası ile kefir üretimi

Daha önce 3.2.1.2’de anlatılan yöntemle elde edilen maya süspansiyonundan MRD (Merck) seyreltme sıvısı kullanılarak seyreltme işlemi yapılmış ve yayma kültürel ekim yöntemiyle YGC Agar (Merck) besiyerine ekim yapılarak *S. boulardii* maya sayısı belirlenmiştir.

25 °C’de %3 yağlı UHT inek sütüne %5 (m/v) kefir danesi ile 10⁵ kob/mL düzeyinde *S. boulardii* maya hücresi ilave edilmiş ve üretim normal kefir üretimi şeklinde tamamlanmıştır. Çalışma Çizelge 3.1’de belirtilen deneme desenine göre iki tekerrürlü olacak şekilde yürütülmüştür. Kefir üretim akış şeması Şekil 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kefir üretimine ilişkin deneme deseni.

Geleneksel Kefir Starter 1-Ankara	G1
Geleneksel Kefir Starter 1-Ankara ile <i>S. boulardii</i> Mayası	GSb1
Geleneksek Kefir Starter 2-İzmir	G2
Geleneksel Kefir Starter 2-İzmir ile <i>S. boulardii</i> Mayası	GSb2
Endüstriyel Kefir Starter 1- Büyüdanem	E1
Endüstriyel Kefir Starter 1-Büyüdanem ile <i>S. boulardii</i> Mayası	ESb1
Endüstriyel Kefir Starter 2-Doğadan Bizim	E2
Endüstriyel Kefir Starter 2-Doğadan Bizim ile <i>S. boulardii</i> Mayası	ESb2



Şekil 3.1. Kefir üretimine ait akış şeması.

3.3 UHT İnek Sütüne ve Kefire Uygulanan Analizler

3.3.1 UHT inek sütüne yapılan kimyasal analizler

3.3.1.1 Toplam kuru madde miktarı tayini

Sabit ağırlığa kadar etüvde (Biolab, Türkiye) kurutulmuş kurutma kaplarına 5 g süt örneği analitik terazide (RADWAG marka AS220.R2 Polonya) tartılarak 105 °C’de 3 saat kurutma işlemi yapılmıştır. Desikatörde soğutulan kurutma kapları tartıldıktan sonra 105 °C’ de kurutma işlemine devam edilmiştir. İki tartım arasındaki fark 0.0005g’den az olunca tartıma son verilerek % kuru madde miktarı Gravimetrik yöntemle tespit edilmiştir (AOAC, 1990a). Daha sonra % toplam kuru madde miktarı aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (Denklem 3.1). Toplam kuru madde miktarı (%) belirlendikten sonra süt yağsız kuru madde miktarını (%) hesaplamak için sütün toplam kuru madde miktarından (%) yağ miktarı (%) çıkarılmıştır.

$$\text{Kuru madde (\% (m/m))} = [M_1/M_2] \times 100 \quad (3.1)$$

M₁: Süt kuru maddesinin ağırlığı (g)

M₂: Süt numunesinin ağırlığı (g)

3.3.1.2 Yağ miktarı tayini

Yağ miktarı, Gerber yöntemi ile süt bütirometresi kullanılarak belirlenmiştir. Bütirometreye sırasıyla özgül ağırlığı 1.820-1.825 olan 10 mL sülfürik asit, homojenize edilmiş 11 mL süt ve özgül ağırlığı 0.812-0.818 olan 1 mL amil alkol eklenmiştir. Bütirometrenin tıkaçı sıkıca kapatılıp karıştırılarak Gerber santrifüjüne karşılıklı olarak yerleştirilmiştir. Santrifüj işlemi 1000-1200 devir/dakika hız ve 5 dakika süre şeklinde uygulandıktan sonra bütirometre üzerindeki değer okunmuştur. Okunan değer 100 mL sütteki yağın (g) olarak miktarını vermektedir (AOAC, 2004).

3.3.1.3 Titrasyon asitliği değeri tayini

Homojen duruma getirilen sütün 25 mL alınmış ve üzerine %1'lik fenolftalein indikatöründen 0.5 mL ilave edilerek 0.1 N NaOH ile 30 saniye kalıcı açık pembe renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir (AOAC, 1990b). Titrasyon asitliği aşağıdaki formül ile laktik asit cinsinden g/100mL olarak hesaplanmıştır (Denklem 3.2).

$$\text{Titrasyon asitliği \%} = [V \times F \times E \times 100] / M \quad (3.2)$$

V: Harcanan 0.1 N NaOH miktarı (mL)

F: NaOH Faktörü (Kesin Normalite 0.1 N ise bu değer 1 olarak alınır)

E: 1 mL 0.1 N NaOH'e eşdeğer asit miktarı (g) (0.009008 laktik asit cinsinden)

M: Titre edilen örneğin gerçek miktarı (mL)

3.3.1.4 pH değeri tayini

pH değerleri sıcaklık probu olan birleşik elektrotlu Inolab pH metre (WTW, Almanya) kullanılarak belirlenmiştir.

3.3.1.5 Kül miktarı tayini

Krozeler etüvde (Biolab, Türkiye) 105 °C'de sabit ağırlığa kadar kurutulmuş ve desikatörde soğutulularak analitik terazide tartılmıştır. Daraları belirlenen krozelere 5 g örnek tartımı yapılmıştır. Örnek süt olduğu için kurutma öncesi su banyosunda (JSR-JS4B-22T Kore) suyu tamamen buharlaştırılmıştır. Daha sonra sıcaklığı 550 °C'de olan kül fırınına (Nüve Furnace MF106, Türkiye) yerleştirilen krozedeki örnek beyaz renk küle dönünceye kadar yakılmıştır. Desikatöre alınıp soğutulduktan sonra tartım yapılmıştır. Paraleller arasındaki farkın %0.02'den fazla olmamasına dikkat edilmiştir (AOAC, 1990c). Gravimetrik yöntemle belirlenen %kül miktarı aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (Denklem 3.3). Kuru maddede %kül miktarı ise, belirlenen %kül miktarının % toplam kuru maddeye bölünmesi ve yüz ile çarpılmasıyla hesaplanmıştır.

$$\text{Kül miktarı (\%)} = [M_1/M_2] \times 100 \quad (3.3)$$

M₁: Yanma sonucu kalan kül miktarı (g)

M₂: Örnek miktarı (g)

3.3.2 Farklı kefir kültürleri ve *S.boulardii* ile üretilen kefire uygulanan kimyasal analizler

3.3.2.1 Toplam kuru madde miktarı tayini

Sabit ağırlığa kadar etüvde (Biolab, Türkiye) kurutulmuş kurutma kaplarına 5 g kefir örneği analitik terazide (RADWAG marka AS220.R2 Polonya) tartılarak 105 °C’de 3 saat kurutma işlemi yapılmıştır. Desikatörde soğutulan kurutma kapları tartıldıktan sonra 105 °C’ de kurutma işlemine devam edilmiştir. İki tartım arasındaki fark 0.0005g’dan az olunca tartıma son verilerek % kuru madde miktarı Gravimetrik yöntemle tespit edilmiştir (AOAC, 2005). Daha sonra % toplam kuru madde miktarı aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (Denklem 3.4).

$$\text{Kuru madde (\%)} = [M_1/M_2] \times 100 \quad (3.4)$$

M₁: Kefir kuru maddesinin ağırlığı (g)

M₂: Kefir örnek miktarı (g)

3.3.2.2 Yağ miktarı tayini

Yağ miktarı, Gerber yöntemi ile süt bütirometresi kullanılarak belirlenmiştir. Bütirometreye sırasıyla özgül ağırlığı 1.820-1.825 olan 10 mL sülfürik asit, homojenize edilmiş 11 mL kefir ve özgül ağırlığı 0.812-0.818 olan 1 mL amil alkol eklenmiştir. Bütirometrenin tıkaçı sıkıca kapatılarak karıştırılmış ve Gerber santrifüjüne karşılıklı olarak yerleştirilmiştir. Santrifüj işlemi 1000-1200 devir/dakika hız ve 5 dakika süre şeklinde uygulandıktan sonra bütirometre üzerindeki değer okunmuştur. Okunan değer 100 mL kefirdeki (g) olarak miktarını vermektedir (AOAC, 2004).

3.3.2.3 Titrasyon asitliği değeri tayini

Homojen duruma getirilen kefirden 10 g alınmış ve üzerine 10 mL damıtık su eklenerek 0.5 mL %1’lik fenolftalein indikatörü eşliğinde 0.1 N NaOH ile 30 saniye kalıcı açık pembe renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir (AOAC, 1990b). Titrasyon asitliği aşağıdaki formül ile laktik asit cinsinden g/100g olarak hesaplanmıştır (Denklem 3.5).

$$\text{Titrasyon asitliği \%} = [V \times F \times E \times 100] / M \quad (3.5)$$

V: Harcanan 0.1 N NaOH miktarı (mL)

F: NaOH Faktörü (Kesin Normalite 0.1 N ise bu değeri 1 olarak alınır)

E: 1 mL 0.1 N NaOH'in eşdeğeri asit miktarı (g) (0.009008 laktik asit cinsinden)

M: Titre edilen örneğın gerçek miktarı (g)

3.3.2.4 pH değeri tayini

pH değeri sıcaklık probu olan birleşik elektrotlu Inolab pH metre (WTW, Almanya) kullanılarak belirlenmiştir.

3.3.2.5 Kül miktarı tayini

Krozeler etüvde (Biolab, Türkiye) 105 °C'de sabit ağırlığa kadar kurutulmuş ve desikatörde soğutularak analitik terazide tartılmıştır. Daraları belirlenen krozelere homojen duruma getirilmiş kefirde 5 g örnek tartımı yapılmıştır. Örnek kefir olduğu için kurutma öncesi su banyosunda (JSR- JSWB-22T Kore) suyu tamamen buharlaştırılmıştır. Daha sonra sıcaklığı 550 °C'de olan kül fırınına (Nüve Furnace MF106, Türkiye) yerleştirilen krozedeki örnek beyaz renk küle dönünceye kadar yakılmıştır. Desikatöre alınıp soğutulduktan sonra tartım yapılmıştır. Paraleller arasındaki farkın %0.02'den fazla olmamasına dikkat edilmiştir (AOAC, 1990c). Gravimetrik yöntemle belirlenen %kül miktarı aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (Denklem 3.6). Kuru maddede kül miktarı ise, belirlenen %kül miktarının % toplam kuru maddeye bölünmesi ve yüz ile çarpılmasıyla hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Kül miktarı} = [M_1/M_2] \times 100 \quad (3.6)$$

M₁: Yanma sonucu kalan kül miktarı (g)

M₂: Örnek Miktarı (g)

3.3.3 Farklı kefir kültürleri ve *S.boulardii* ile üretilen kefire uygulanan mikrobiyolojik analizler

Homojen duruma getirilen kefir örneklerinden 10g alınarak 90mL steril Maksimum Recovery Diluent (MRD) (Merck Almanya) içinde homojenize edilmiştir. Ardışık seri dilüsyonlar MRD içinde (1:9) hazırlanarak 10^{-8} düzeyinde dilüsyonlar yapılmıştır.

3.3.3.1 Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı

Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri sayımı için; Plate Count Agar (PCA) (Merck Almanya) besiyerine yayma kültürel ekim yöntemiyle ekim yapılmış ve Petriler 30 °C’de 48 saat inkübe edilmiştir (ICMSF, 1978). İnkübasyon sonrası koloniler sayılmış ve Denklem 3.7 ile bakteri sayısı hesaplanmıştır (Halkman, 2019).

$$N= c/ [Vx(n_1+0.1xn_2)]xd \quad (3.7)$$

N: Örneğin 1 g ya da 1 mL’inde mikroorganizma sayısı

V: Sayımı yapılan Petri kutularına aktarılan hacim (mL)

c: Sayımı yapılan tüm Petri kutularındaki koloni sayısı toplamı

n₁: İlk seyreltide yapılan sayımlarda sayım yapılan Petri kutusu adedi

n₂: İkinci seyreltide yapılan sayımlarda sayım yapılan Petri kutusu adedi

d: Sayım yapılan ardışık 2 seyreltiden en konsantre olanın seyreltme oranı

3.3.3.2 *Lactobacillus* spp. sayımı

Laktik asit bakterilerinden mezofil nitelikte olan *Lactobacillus* spp. sayımı için De Man Rogosa Sharp Agar (MRS) (Merck Almanya) besiyerine dökme kültürel ekim yöntemiyle ekim yapılmış ve Petriler 30 °C’de 48-72 saat anaerobik ortamda inkübe edilmiştir (De Man vd., 1960). İnkübasyon sonrası koloniler sayılmış ve Denklem 3.7 ile *Lactobacillus* spp. sayısı hesaplanmıştır (Halkman, 2019).

3.3.3.3 Mezofilik laktik kok sayımı

Laktik asit bakterilerinden mezofilik nitelikte ve kok formunda olan bakterilerin sayımı için M17 Agar (Merck Almanya) besiyerine dökme kültürel ekim yöntemiyle ekim yapılmış ve Petriler 30 °C’de 48-72 saat anaerobik ortamda inkübe edilmiştir (Terzaghi ve Sandine, 1975). İnkübasyon sonrası koloniler sayılmış ve Denklem 3.7 ile mezofilik laktik kok sayısı hesaplanmıştır (Halkman, 2019).

3.3.3.4 Maya sayımı

Maya sayımı için Yeast Extract Glucose Chloramphenical Agar (YGC) (Merck Almanya) besiyerine yayma kültürel ekim yöntemiyle ekim yapılmış ve Petriler 25 °C’de 3 gün inkübe edilmiştir (Harrigan, 1998). İnkübasyon sonrası koloniler sayılmış ve Denklem 3.7 ile maya sayısı hesaplanmıştır (Halkman, 2019).

3.3.4 Farklı kefir kültürleri ve *S.boulardii* ile üretilen kefirlerle uygulanan duyuşal analizler

Farklı kefir kültürleri ve *S. boulardii* mayası ile üretilen kefirlerin 4±1 °C’de 21 gün depolama süresinin 1., 7., 14. ve 21. günlerinde duyuşal değerlendirmesinde 5 puan üzerinden hazırlanan duyuşal değerlendirme tablosu kullanılmıştır (Karagözlü, 1990; Tavlaş, 1986). Kefir örneklerinin duyuşal değerlendirmesi, kıvam, tat ve aroma ile genel beğeni özellikleri dikkate alınarak 10 panelist ile yapılmıştır. Kefirlerin panelistte bıraktığı etkiyi belirlemek için; 5 puan-çok iyi; 4 puan-iyi; 3 puan-ne iyi ne kötü; 2 puan- kötü, 1 puan-çok kötü değerlendirme skalası kullanılmıştır.

Duyuşal analizi gerçekleştiren panelistler Aksaray Üniversitesi Mühendislik Fakültesi ile Mimarlık ve Tasarım Fakültesi akademik personeli ve öğrencilerinden oluşmuştur. Duyuşal analize katılan panelistlerin kefir içen ve kefiri tanıyan bireylerden olması sağlanmıştır. Duyuşal analiz öncesi panelistlere kefirin duyuşal özellikleri ve değerlendirme esasları konusunda eğitim verilmiştir.

3.3.5 Farklı kefir kültürleri ve *S.boulardii* ile üretilen kefirlerin analiz sonuçlarına uygulanan istatistiksel analizler

Araştırma iki tekerrürlü yapılmış olup tüm analizler her tekerrür için iki paralel olarak gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel analizler SPSS 26 (IBM SPSS, IBM Corporation, USA) paket programı ile yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar arasındaki farkların karşılaştırmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır. Ana varyasyon kaynakları ortalamaları arasında $p<0.05$ düzeyinde farklılık önemli çıkan gruplar arasındaki farkları karşılaştırmak için Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır (Düzgüneş vd., 1987).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Kefir Üretiminde Kullanılan UHT İnek Sütünün Kimyasal Analiz Sonuçları

Farklı kefir kültürleri ve *S. boulardii* mayası ile hazırlanan kefirlerin üretiminde kullanılan UHT inek sütünün bazı kimyasal özelliklerine dair sonuçlar Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Kefir üretiminde kullanılan UHT inek sütüne ait bazı kimyasal analiz sonuçları.

Analizler	Sonuçlar
Kuru madde miktarı (%)	11.14±0.23
Süt yağsız kuru madde (%) (m/m)	8.14±0.23
Yağ miktarı (%)	3.00±0.00
Kül miktarı (%)	0.63±0.01
Kuru maddede kül (%) (m/m)	5.61±0.18
pH değeri	6.6±0.00
Titrasyon asitliği (% laktik asit) (m/v)	0.17±0.04

Türk Gıda Kodeksi İçme Sütleri Tebliği (2019/12) UHT inek sütünde asitliğin % laktik asit cinsinden en az 0.135-0.2 (m/v) ve süt yağsız kuru maddenin en az %8 (m/m) olması gerektiğini belirtmiştir. Ayrıca tebliğe göre içme sütünün içerdiği yağ miktarı, 100 mL sütte (g) olarak belirtilmesi gerekmektedir. Buna göre kefirlerin üretiminde kullanılan UHT inek sütünün Türk Gıda Kodeksi İçme Sütleri Tebliği (2019/12) ile uyumlu olduğu görülmektedir.

4.2 Farklı Kefir Kültürleri ve *S.boulardii* ile Üretilen Kefirlerin Kimyasal Analiz Sonuçları

Farklı dört kefir kültürlerine (G1, G2, E1 ve E2) *S. boulardii* mayası ilave edilerek üretilen (GSb1, GSb2, ESb1, ESb2) 8 farklı kefirin 4±1 °C’de 1., 7. 14. ve 21. gün depolama günlerindeki bazı kimyasal özelliklerinde meydana gelen değişimler ile bu değişimlerin istatistiksel analiz sonuçları bu bölümde incelenmiş ve değerlendirilmiştir. Yapılan kimyasal analizler ile kefire *S. boulardii* mayasının ilave edilmesinin, farklı starter kültür kullanımının ve depolama süresinin kefirin kimyasal özelliklerine olan etkisi belirlenmeye çalışılmıştır.

4.2.1 Toplam kuru madde miktarı

Toplam kuru madde miktarı kefirin besin değeri, kimyasal, mikrobiyolojik, duyuşal özellikleri ile raf ömrünü yakından etkilemektedir. Farklı kefir kültürleri (geleneksel veya endüstriyel) ile *S. boulardii* mayasının birlikte kullanılmasıyla üretilen 8 farklı kefirin 4±1 °C’de depolanmasının 1., 7., 14. ve 21. günlerindeki % toplam kuru madde miktarı ortalamaları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Kefir örneklerinin toplam kuru madde miktarları (%) ($\bar{x} \pm SD$), (n=2).

	Gün				
Örnekler ¹	1	7	14	21	Ortalama
G1	10.35±0.05	10.56±0.32	10.29±0.17	10.44±0.25	10.41±0.26 ^{ab}
GSb1	10.60±0.10	10.58±0.07	10.71±0.12	10.66±0.13	10.64±0.12 ^b
G2	10.43±0.05	9.80±0.45	10.16±0.01	10.02±0.15	10.10±0.35 ^a
GSb2	10.53±0.19	10.25±0.10	10.57±0.19	10.54±0.01	10.47±0.21 ^{ab}
E1	10.35±0.12	10.40±0.08	10.70±0.05	10.42±0.54	10.47±0.33 ^{ab}
ESb1	10.67±0.18	10.85±0.47	10.27±0.07	10.60±0.06	10.60±0.35 ^{ab}
E2	10.88±0.10	10.57±0.30	11.05±0.95	10.88±0.47	10.84±0.62 ^b
ESb2	10.77±0.24	10.88±0.09	10.77±0.15	10.78±0.12	10.80±0.18 ^b
Genel Ort.	10.57±0,24 ^A	10.48±0,45 ^A	10.56±0,47 ^A	10.54±0.38 ^A	

1: Örnekler

G1: Geleneksel Ankara kefir kültürü

GSb1: *S. boulardii* + Geleneksel Ankara kefir kültürü

G2: Geleneksel İzmir kefir kültürü

GSb2: *S. boulardii* + Geleneksel İzmir kefir kültürü

E1: Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

ESb1: *S. boulardii* + Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

E2: Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

ESb2: *S. boulardii* + Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

$\bar{x}$: İki tekerrür ortalaması, SD: Standart sapma, n: Tekerrür sayısı

Aynı sütundaki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (p<0.05).

Aynı satırdaki farklı büyük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (p<0.05).

S. boulardii mayasının ilave edildiği kefir örneklerinin (GSb1, GSb2, ESb1 ve ESb2) genel ortalama toplam kuru madde miktarının %10.25-10.88 arasında değiştiği belirlenmiş olup geleneksel veya endüstriyel kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin (G1, G2, E1 ve E2) genel ortalama toplam kuru madde miktarının ise %9.80-11.05 arasında değiştiği tespit edilmiştir. *S. boulardii* mayası içeren kefir örneklerinin (GSb1, GSb2, ESb1 ve ESb2) genel ortalama toplam kuru madde içeriği (%10.62), bu mayayı içermeyen kefir örneklerinin (G1, G2, E1 ve E2) genel ortalama toplam kuru madde içeriğinden (%10.54) daha yüksek çıkmıştır. Bu sonuçlara göre, E2 örneği hariç kefir üretiminde *S. boulardii* mayası kullanımının genel ortalama

toplam kuru madde miktarını artırdığı ancak bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p>0.05$) bulunmuştur. Maya eklenmeyen kefirler içinde en yüksek kuru madde miktarı E2 (%11.05) örneğinde, en düşük toplam kuru madde miktarı ise G2 örneğinde (%9.80) bulunmuştur. *S. boulardii* mayası eklenen kefir örnekleri içinde en yüksek kuru madde miktarı ESb2 örneğinde (%10.88) ve en düşük toplam kuru madde miktarı ise GSb2 örneğinde (%10.25) tespit edilmiştir.

Yapılan kefir araştırmalarında saptanan toplam kuru madde içeriği, kullanılan sütün türüne, yağ içeriğine ve eklenen kuru madde artırıcı bileşenlere göre değişmektedir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara benzer olarak daneden ve yağlı inek sütü kullanılarak üretilen kefirlerin toplam kuru madde miktarı Ertekin (2008) %10.91; Ender (2009) %10.4; Öner vd. (2010) %10.85-11.15, Şen (2015) %10.54-10.93 ve Duran (2020) % 10.02±0.04 olarak belirtmiştir.

Yıldız (2009), çalışmasında %3 yağ ve %11.81 toplam kuru madde içeren inek sütüne %5 kefir danesi ile %0.5 oranında *S. cerevisiae* mayası inoküle ederek ürettiği kefirin 23 gün depolama süresi boyunca toplam kuru madde miktarının % 11.30-11.41 arasında değiştiğini ve depolamanın ilk günü ile son günü arasında kefirin toplam kuru madde miktarında önemli ($p>0.05$) bir değişim olmadığını belirlemiştir.

Buran (2020) farklı probiyotik kültürler ile prebiyotiklerin ilave edildiği inek ve keçi sütünden üretilen kefirlerin kalite özelliklerini incelediği çalışmasında, farklı kültür kullanımının kefirlerin toplam kuru madde miktarına önemli ($p>0.05$) bir etkisinin olmadığını tespit etmiştir.

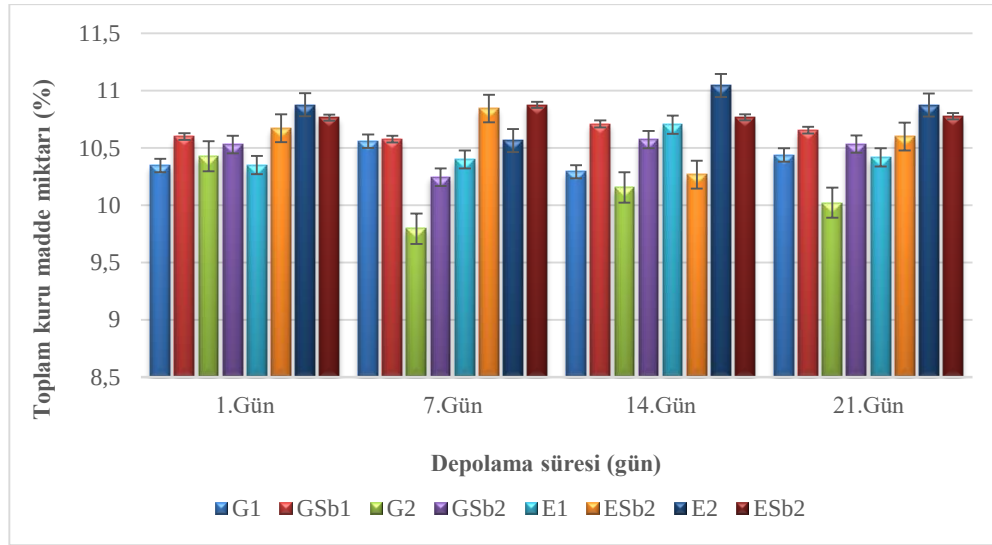
Benzer şekilde Ünver (2014), *S. boulardii* mayası ve üç farklı prebiyotik bileşen (direncili nişasta, inülin, oligofruktoz) ilavesi ile üretilen beş farklı yoğurdun 21 gün depolama süresi boyunca çeşitli özelliklerini incelemiş ve yoğurdun toplam kuru madde miktarının kullanılan kültüre göre değişiklik gösterdiğini ama bu değişikliğin istatistiksel olarak önemli olmadığını bildirmiştir ($p>0.05$).

Geleneksel kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin (G1, GSb1 ve G2, GSb2) genel ortalama kuru madde miktarı (%10.40), endüstriyel kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin (E1, ESb1 ve E2, ESb2) genel ortalama kuru madde miktarından (%10.68) daha düşük çıkmıştır. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda, farklı starter

kültür kullanımı ile üretilen sekiz farklı kefir örneğinin genel ortalama toplam kuru madde miktarları arasındaki farkın önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre, toplam kuru madde miktarı bakımından G1, GSb2, E1 ve ESb1 kefir örnekleri arasındaki farkın önemli ($p>0.05$) olmadığı gibi GSb1, E2, ESb2 kefir örnekleri arasındaki farkın da önemli ($p>0.05$) olmadığı ancak bu iki grup arasındaki farkın önemli ($p<0.05$) olduğu bulunmuştur. Ayrıca G2 kefir örneğinin ortalama toplam kuru madde miktarı ile diğer kefir örnekleri arasındaki farkın önemli ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar kefir örneklerinin ortalama kuru madde miktarı arasındaki farkın geleneksel ya da endüstriyel kültür farkından bağımsız olarak kefir mikrobiyota farklılığıyla açıklanabileceğini göstermektedir.

Farklı kefir kültürü ile üretilen kefirlerin genel ortalama toplam kuru madde miktarı Ankara (%10.52), İzmir (%10.28), Büyüdanem (%10.42) ve Doğadan (%10.82), olarak belirlenmiştir. Çalışmada Doğadan kefir kültürünün geç aktivite gösterdiği ve depolama süresi boyunca diğer kefir örneklerine göre daha yoğun kıvamda kefir oluşumuna neden olduğu görülmüştür. Kefir örneklerinin toplam kuru madde miktarındaki değişim içerdiği mikroorganizmaların fermentasyon aktivitesindeki farklılıktan kaynaklanmaktadır. Fermentasyon sırasında starter kültürdeki mikroorganizmalar şekeri parçalamakta ve laktik asit, su, etil alkol, karbondioksit gibi metabolitler oluşturarak ürünün kuru madde miktarının değişimine neden olmaktadır (Ching-Yun ve Ching-Wen, 1999).

Farklı kefir kültürleri ve *S. boulardii* mayası ile üretilen kefirlerin toplam kuru madde miktarının 4 ± 1 °C’de 21 gün depolama süresince değişimi Şekil 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1. Kefir örneklerinin toplam kuru madde miktarının (%) depolama süresince değişimi.

Grafikten izlenebileceği üzere, çalışmada elde edilen toplam kuru madde miktarının depolama süresince kendi içinde artma ve azalma eğilimi gösterdiği görülmektedir. Farklı kefir kültürleri ve *S. boulardii* mayasının ilave edilmesiyle üretilen sekiz farklı kefir örneğinin 21 gün depolama süresi boyunca kuru madde miktarındaki değişimin istatistiksel olarak önemsiz ($p>0.05$) olduğu bulunmuştur. Farklı kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin genel ortalama toplam kuru madde miktarında depolamanın 7. gün ve 21. gününde azalma olduğu belirlenmiştir. En yüksek toplam kuru madde miktarının depolamanın 14. gününde E2 örneğinde, en düşük toplam kuru madde miktarının ise depolamanın 7. gününde G2 örneğinde olduğu tespit edilmiştir.

Yıldız (2009), kefir danesi (%5) ve *S. cerevisiae* (%0.5) mayasının %3 yağlı inek sütüne inoküle edilmesiyle üretilen kefir örneklerinin toplam kuru madde miktarının depolamanın 5. günü azalma eğilimi gösterdikten sonra 23 gün depolama süresi boyunca artış gösterdiğini belirtmiştir. Çalışmada kefir danesi ile farklı starter kültürlerin birlikte kullanılmasıyla üretilen kefir örneklerinin toplam kuru madde miktarının depolamanın 10. gününde artış gösterdikten sonra azaldığını tespit etmiştir.

Irigoyen vd. (2005), Ender (2009), Ertekin ve Güzel-Seydim (2010), Kök-Taş vd. (2013) Tomar (2015), Sarıca (2019), Akbulut-Ataman (2020) ve İnce-Coşkun ve Özdestan-Ocak (2022) çalışmalarında depolama süresinin kefir örneklerinin toplam kuru madde miktarı üzerine etkisinin önemli olmadığını belirtmişlerdir.

4.2.2 Titrasyon asitliği değeri

Kefirde titrasyon asitliği değeri mikrobiyal gelişim sonucu oluşan metabolitlerden biri olan organik asitlerin ve özellikle de laktik asidin bir göstergesidir. Titre edilebilir asitlik gıdadaki asitliğin toplam miktarıdır. Lezzet oluşumunda asitliğin düzeyinden çok asit çeşidi etkilidir (Cemeroğlu, 2013).

Farklı kefir kültürleri (geleneksel veya endüstriyel) ile *S. boulardii* mayasının birlikte kullanılmasıyla üretilen 8 farklı kefirin 4 ± 1 °C’de depolanmasının 1., 7., 14. ve 21. günlerindeki titrasyon asitliği ortalamaları g/100g laktik asit olarak Çizelge 4.3’te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Kefir örneklerinin titrasyon asitliği değerleri (g/100g laktik asit), ($\bar{x} \pm SD$), (n=2).

	Gün				
Örnekler ¹	1	7	14	21	Ortalama
G1	0.77±0.11	0.84±0.07	0.94±0.03	0.94±0.04	0.87±0.11 ^b
GSb1	0.75±0.11	0.91±0.07	0.95±0.04	0.94±0.01	0.88±0.11 ^b
G2	0.56±0.04	0.79±0.07	0.82±0.01	0.82±0.02	0.75±0.13 ^a
GSb2	0.68±0.15	0.82±0.04	0.80±0.01	0.85±0.02	0.79±0.11 ^{ab}
E1	0.67±0.08	0.83±0.01	0.86±0.02	0.84±0.02	0.80±0.09 ^{ab}
ESb1	0.68±0.07	0.82±0.01	0.87±0.04	0.89±0.03	0.82±0.10 ^{ab}
E2	0.77±0.11	0.88±0.07	0.94±0.01	0.94±0.02	0.88±0.10 ^b
ESb2	0.79±0.11	0.90±0.02	0.91±0.02	0.94±0.00	0.88±0.09 ^b
Genel Ort.	0.71±0.13 ^A	0.85±0.07 ^B	0.89±0.06 ^B	0.89±0.06 ^B	

1: Örnekler

G1: Geleneksel Ankara kefir kültürü

GSb1: *S. boulardii* + Geleneksel Ankara kefir kültürü

G2: Geleneksel İzmir kefir kültürü

GSb2: *S. boulardii* + Geleneksel İzmir kefir kültürü

E1: Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

ESb1: *S. boulardii* + Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

E2: Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

ESb2: *S. boulardii* + Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

$\bar{x}$: İki tekerrür ortalaması, SD: Standart sapma, n: Tekerrür sayısı

Aynı sütundaki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (p<0.01).

Aynı satırdaki farklı büyük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (p<0.001).

Çalışmada *S. boulardii* mayasının ilave edildiği kefir örneklerinin (GSb1, GSb2, ESb1 ve ESb2) titrasyon asitliği 0.68-0.95 g/100 g laktik asit arasında değişmiş olup genel ortalama titrasyon asitliği 0.84g/100g laktik asit olarak bulunmuştur. Farklı kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin (G1, G2, E1 ve E2) titrasyon asitliği 0.56-0.94

g/100g arasında değişmiş ve genel ortalama titrasyon asitliği 0.83g/100g laktik asit olarak tespit edilmiştir.

Bu alışmada *S. boulardii* içeren kefir örnekleri ile bu mayayı içermeyen kefir örneklerinin genel ortalama titrasyon asitliği değerleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p>0.05$) belirlenmiştir. Genel olarak çalışmalarda *S. boulardii* mayası, şeker ve meyve içermeyen süt ürünlerinde kullanıldığı zaman asitliğin daha kontrollü bir şekilde arttığı görülmektedir (Ivanova, 2012; Lourens-Hattingh ve Viljoen, 2001; nver, 2014).

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt rnleri Tebliği (Tebliğ No: 2022/44), kefirdeki titrasyon asitliği değerinin ağırlıkça en az %0.6 laktik asit olması gerektiğini belirtmiştir. Üretilen kefir örneklerinin genel ortalama titrasyon asitliği değerleri TGK Fermente Süt rnleri Tebliği'ne uygunluk göstermektedir.

S. boulardii mayasının UHT süt ve UHT yoğurt içinde gelişiminin incelendiği bir çalışmada mayanın en çok sitrik asit oluşturduğu (%0.55), bunu daha az miktarda laktik asit (%0.07) ve süksinik asit (%0.026) takip ettiği belirtilmiştir. *S. boulardii* mayasının laktik asidi metabolize ettiği bilinmekle birlikte UHT yoğurt ortamında laktik asidi metabolize edemediği için UHT süt ve UHT yoğurt içinde laktik asit miktarı sabit kalmıştır (Lourens-Hattingh ve Viljoen, 2001).

Yıldız (2009), çalışmasında %3 yağ içeren inek sütüne %5 kefir danesi ile %0.5 oranında *S. cerevisiae* mayası inoküle ederek ürettiği kefirin 23 gün depolama süresi boyunca titrasyon asitliğinin arttığını ve ilk gün %0,76 laktik asit olan asitliğin depolamanın son gününde %0.92 laktik asit olduğunu belirlemiştir.

Yapılan araştırmalarda kefirde saptanan titrasyon asitliği değerleri farklılık göstermektedir. Kefirde titrasyon asitliği değeri süt türüne, kefir starter kültürün içerdiği laktik asit bakterisi ile maya suş çeşitliliğine ve sayısına, mikroorganizma aktivitesine, inokülasyon oranına, fermentasyon sıcaklığına, eklenen meyve gibi prebiyotik katkılara ve depolama süresine göre değişmektedir. Çalışmada elde edilen %titrasyon asitliği sonuçlarının, inek sütünden üretilen diğer kefir çalışmalarıyla uyumlu olduğu görülmekte olup bu çalışmalarda %titrasyon asitliği değeri laktik asit cinsinden; Ender (2009) %0.72-0.69; Kök-Taş vd. (2013) %0.81-0.92; Aşcı-Arslan

(2015) %0.79-0.90; Sarıca (2019) %0.87-0.94 ve Buran (2020) %0.81-0.83 olarak belirlenmiştir.

Geleneksel kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin (G1, GSb1 ve G2, GSb2) ortalama titrasyon asitliği değeri 0.75-0.88 arasında değişmiş ve genel ortalama titrasyon asitliği değerinin %0.82 laktik asit olduğu belirlenmiştir. Endüstriyel kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin (E1, ESb1 ve E2, ESb2) genel ortalama titrasyon asitliği değeri 0.67-0.94 arasında değişmiş ve genel ortalama titrasyon asitliği değerinin %0.85 laktik asit olduğu belirlenmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda, farklı kefir kültürüyle üretilen kefirlerin genel ortalama titrasyon asitliği değerleri arasındaki farkın önemli ($p<0.01$) olduğu bulunmuştur. Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre, titrasyon asitliği değeri bakımından G1, GSb1, E2 ve ESb2 kefir örnekleri arasındaki farkın önemli olmadığı gibi E1, ESb1 ve GSb1 kefir örneklerinin de titrasyon asitliği değeri arasındaki farkın önemli olmadığı ancak bu iki grup arasındaki farkın önemli ($p<0.01$) olduğu bulunmuştur. Ayrıca G2 kefir örneğinin titrasyon asitliği değeri diğer bütün kefir örneklerinin altında olduğu ve aralarındaki farkın önemli ($p<0.01$) olduğu tespit edilmiştir. Farklı kültürlerinden üretilen kefirlerin titrasyon asitliği değeri incelendiğinde G1, GSb1, E2 ve ESb2 kefir örneklerinin titrasyon asitliği değeri ile *Lactobacillus* spp., mezofilik laktik kok sayıları diğer kefirlerle göre daha yüksek bulunmuş ve aynı örneklerin maya sayılarının da daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre titrasyon asitliği değerleri arasındaki farkın kültürün geleneksel ya da endüstriyel olmasından çok kültürün içerdiği bakteri ve maya türlerine bağlı olduğu düşünülmektedir.

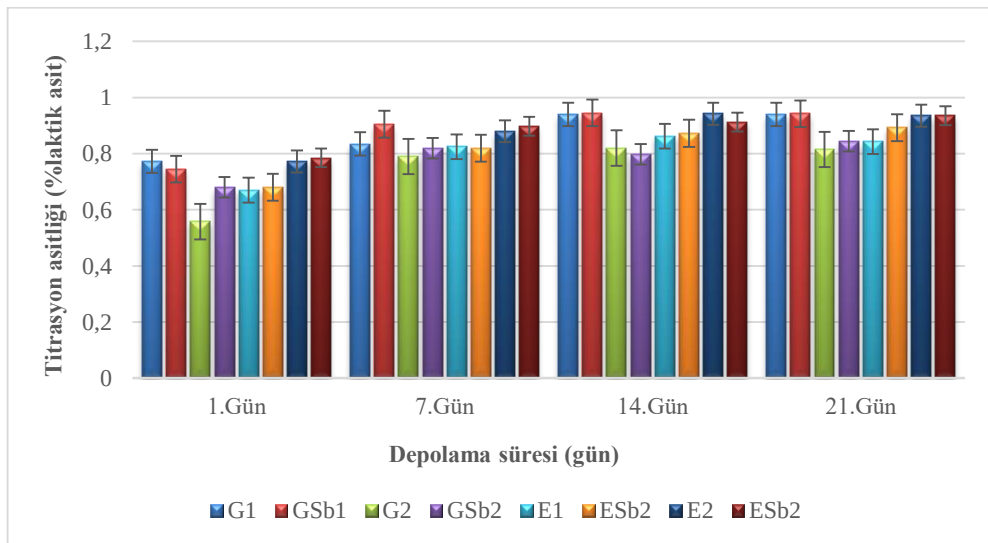
Geleneksel kefir kültürü olan Ankara kültürü ve endüstriyel kefir kültürü olan Doğadan kültürü ile üretilen kefirlerin genel ortalama titrasyon asitliği değeri (0.88 g/100 g laktik asit), endüstriyel kültür Büyüdanem (0.81 g/100 g laktik asit) ve geleneksel kültür İzmir kültürü (0.77 g/100 g laktik asit) ile üretilen kefirlerden daha yüksek çıkmıştır.

Kefir mikrobiyotasında bulunan bakteri ve mayalar farklı çeşit ve düzeyde organik asitler üretmektedir. Laktik asit bakterileri başta laktik asit olmak üzere daha az miktarda asetik asit, sitrik asit ve süksinik asit de oluştururken mayalar daha düşük düzeyde sitrik asit, asetik asit, formik asit ve süksinik asit oluşturmaktadır (Lourens-Hattingh ve Viljoen, 2001).

Kefir kültüründe bulunan laktik asit bakterileri laktik asit fermantasyonu ile laktozdan önce glukoz daha sonra laktik asit, asetaldehit, diasetil ve karbondioksit gibi metabolitler oluştururken mayalar da etil alkol fermantasyonu sonucu glukoz, galaktoz, fruktozu kullanarak etil alkol ve karbondioksit gibi metabolitlerin üretimini gerçekleştirmektedir. Mayaların anaerobik ortamda laktik asidi metabolize etmesi sonucunda ürünün toplam asitlik değerleri de düşebilmektedir. Özellikle kefirin depolanması aşamasında asitlik nedeniyle laktik asit bakteri sayısı azalmaktadır. Mayaların laktik asidi metabolize etmesiyle asitlik düşmekte ve laktik asit bakterileri canlılıklarını daha uzun süre koruyabilmektedir (Irigoyen vd., 2005; Kınık vd. 2008; O'Brien vd., 2016; Rattray ve O'Connell, 2011).

Bu çalışmanın sonuçlarıyla uyumlu olarak; Duran (2020) ve Kök-Taş vd. (2013) daneden üretilen kefir ile endüstriyel kültürden üretilen kefirlerin titrasyon asitliği değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığını ($p>0.05$) belirtmiştir. Farklı olarak, Ünal (2013); Aşçı-Arslan (2015) ve Daştan (2015), ticari kefir starter kültürü kullanılarak üretilen örnekler için titrasyon asitliğinin, kefir danesi kullanılarak üretilen örnekler göre daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Ender (2009), farklı kefir starter kültürü kullanımının titrasyon asitliğinde önemli değişimlere sebep olduğunu belirten sonuçlar elde etmiştir.

Farklı kefir kültürleri ve *S. boulardii* mayası ile üretilen kefirlerin titrasyon asitliği değerinin (%laktik asit) 21 gün depolama süresince değişimi Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Kefir örneklerinin titrasyon asitliği değerinin (%laktik asit) depolama süresince değişimi.

Genel olarak; depolamanın 21. gününe kadar kefir örneklerinin titrasyon asitliği değerinin arttığı belirlenmiştir. Farklı kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin genel ortalama titrasyon asitliği değerleri incelendiğinde; en düşük titrasyon asitliği değeri, depolamanın 1. günündeki kefir örneklerinde %0.71 laktik asit olarak belirlenmiş olup bunu 7. gün %0.85 laktik asit ve 14. ile 21. gün kefir örnekleri 0.89 laktik asit olarak takip etmiştir. Depolama boyunca titrasyon asitliği değerindeki değişimin istatistiksel olarak önemli ($p<0.001$) olduğu bulunmuştur. Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre, depolamanın ilk günü titrasyon asitliği değerleri ile diğer günlerin titrasyon asitliği değerleri arasındaki farkın önemli ($p<0.001$) olduğu bulunmuştur. Kefirin 4 ± 1 °C’de 21 gün süre depolanması aşamasında kefirdeki mikroorganizmaların yavaşlayan aktiviteleri sonucunda oluşan laktik asit ile ilişkili olarak titrasyon asitliği de artış göstermiştir.

Kök-Taş vd. (2013) dane ile üretilen kefirin 21 günlük depolama boyunca %laktik asit değerini depolamanın 1. günü %0.89, 7. günü %0.84 ve 21. günü %0.92 olduğunu saptamış ve liyofilize kültür ile üretilen kefirlerin %laktik asit içeriğini ise depolamanın 1. günü %0.81; 7. günü %0.82 ve 21. günü %0.92 olarak belirlemişlerdir.

Bu çalışmadaki kefir örneklerinin depolama süresindeki ortalama laktik asit içeriğindeki değişim ile uyumlu olarak; Yıldız (2009), Ünal (2013), Aşçı-Arslan (2015), Köse (2018), Sarıca (2019), Buran (2020) ve İnce-Coşkun ve Özdestan-Ocak (2022) yaptıkları çalışmalarda 14-21 gün depolama boyunca kefir örneklerinin titrasyon asitliğinin arttığını belirlemişlerdir. Bu sonuçlardan farklı olarak Ender (2009), Demir (2011), Şen (2015), ve Akbörü (2019) 14-21 gün depolama boyunca kefir örneklerinin titrasyon asitliğinin azaldığını belirlemişlerdir.

4.2.3 pH değeri

Gıdanın değerlendirilmesinde önemli bir kalite göstergesi olan pH değeri, gıdadaki hidrojen iyonu aktivitesini göstermekte olup asitliğin gücünü tanımlamaktadır (Cemeroğlu, 2013). Kefir üretiminde fermantasyon işlemine pH 4.5-4.6’da son verilmektedir. Daha sonra kefirin depolanması aşamasında pH değerlerinde görülen değişimler, ürünün raf ömrünün ve depolama aşamasında gerçekleşen düşük hızdaki fermantasyon biyokimyasının bir göstergesi olmaktadır.

Farklı kefir kültürleri (geleneksel veya endüstriyel) ile *S. boulardii* mayasının birlikte kullanılmasıyla üretilen 8 farklı kefirin 4 ± 1 °C’de depolanmasının 1., 7., 14. ve 21. günlerindeki pH değeri ortalamaları Çizelge 4.4’te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Kefir örneklerinin pH değerleri, ($\bar{x} \pm SD$), (n=2).

Örnekler ¹	Gün				Ortalama
	1	7	14	21	
G1	4.43±0.08	4.46±0.11	4.37±0.12	4.45±0.11	4.43±0.12 ^{ab}
GSb1	4.42±0.01	4.39±0.07	4.38±0.10	4.44±0.12	4.41±0.10 ^a
G2	4.67±0.01	4.57±0.12	4.55±0.11	4.56±0.09	4.58±0.11 ^c
GSb2	4.59±0.01	4.60±0.02	4.57±0.03	4.57±0.04	4.58±0.03 ^c
E1	4.64±0.08	4.57±0.06	4.58±0.09	4.49±0.10	4.57±0.10 ^c
ESb1	4.57±0.12	4.52±0.03	4.54±0.02	4.50±0.07	4.53±0.08 ^{bc}
E2	4.44±0.02	4.40±0.12	4.31±0.01	4.34±0.04	4.37±0.09 ^a
ESb2	4.40±0.00	4.31±0.04	4.26±0.02	4.34±0.00	4.32±0.06 ^a
Genel Ort.	4.52±0.12 ^A	4.47±0.13 ^A	4.44±0.15 ^A	4.46±0.12 ^A	

1: Örnekler

G1: Geleneksel Ankara kefir kültürü

GSb1: *S. boulardii* + Geleneksel Ankara kefir kültürü

G2: Geleneksel İzmir kefir kültürü

GSb2: *S. boulardii* + Geleneksel İzmir kefir kültürü

E1: Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

ESb1: *S. boulardii* + Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

E2: Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

ESb2: *S. boulardii* + Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

$\bar{x}$: İki tekerrür ortalaması, SD: Standart sapma, n: Tekerrür sayısı

Aynı sütündeki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (p<0.001).

Aynı satırdaki farklı büyük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (p<0.05).

S. boulardii mayasının ilave edildiği kefir örneklerinin (GSb1, GSb2, ESb1 ve ESb2) pH değeri 4.26-4.60 arasında değişmekte olup genel ortalama pH değeri 4.49 pH olarak bulunmuştur. Farklı kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin (G1, G2, E1 ve E2) pH değeri ise 4.31-4.67 arasında değişmiş ve genel ortalama pH değeri 4.46 pH olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda, kefir starter kültürüyle beraber *S. boulardii* içeren kefir ile bu mayayı içermeyen kefir örneklerinin genel ortalama pH değerleri arasındaki farkın önemli olmadığı (p>0.05) belirlenmiştir.

İnek sütünden üretilen kefirlerin pH değerlerinin belirlendiği diğer çalışmaların sonuçlarıyla; Yıldız (2009) 4.42 pH, Aşçı-Arslan (2015) 4.49-4.59 pH, Köse (2018) 4.52 pH, Buran (2020) 4.44 pH bu çalışmadan elde edilen pH değerleri uyumluluk göstermektedir. Bazı çalışmalarda; Ender (2009) 3.93 pH, Öner vd. (2010) 4.23 pH, Demir (2011) 4.27-4.38 pH, Kök-Taş vd. (2013) 4.38-4.41pH, Daştan (2015) 4.37 pH,

Sarıca (2019) 4.26 pH ve Akbulut-Ataman (2020) 4.32 pH daha düşük pH değerleri elde edilmiştir. Ayrıca farklı çalışmalarda da; Uslu (2010) 4.73 pH, Ünal (2013) 4.63 pH daha yüksek pH değerleri elde edilmiştir.

Kefir *S. boulardii* mayasının eklendiği bir çalışmada, Ivanova vd. (2012), kontrol kefir ve *S. boulardii* mayası ilave edilmiş olan kefir kültürü ile yedi pasaj sonucu üretilen kefir örneklerinin pH değerlerindeki değişimin önemli olmadığını belirtmiştir. Çalışmada, kefirin optimal pH değerinin 4.40 olması gerektiği ve yedinci fermentasyon döngüsünün sonunda liyofilize edilmiş kültürler ile tekrar üretilen kefirlerde asitliğin kontrol kefir için 4.48 pH *S. boulardii* ilaveli kefir için ise 4.50 pH olduğu bildirilmiştir.

S. boulardii'nin fermente süt ürünlerinde starter kültür olarak kullanımında ürünün fermentasyon ve olgunlaşmasına katkıda bulunduğu bilinmektedir (Karaolis vd., 2013).

Ünver (2014), *S. boulardii* mayası ve üç farklı prebiyotik bileşen ilavesi ile üretilen yoğurtların 21 günlük depolama süresi boyunca fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerini karşılaştırdığı çalışmada, maya ilaveli yoğurt örneklerinde genel ortalama pH değerini 4.10 olarak tespit etmiş ve pH değişiminin diğer örneklerle göre daha yavaş olduğunu belirtmiştir. *S. boulardii* probiyotik mayasını içeren yoğurt örneklerinin pH değerlerinde 21 gün depolama süresinde günler arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Sadece yoğurt kültürü ile üretilen yoğurt ile *S. boulardii* probiyotik mayasını içeren yoğurt karşılaştırıldığında depolamanın 21. gününde maya içeren yoğurdun pH değerinin (4.07) kontrol yoğurttan (3.87) daha yüksek olduğu görülmektedir. *S. boulardii* mayası kullanılan yoğurtlarda depolama boyunca asitlik artışının daha az olduğu tespit edilmiştir.

Farklı kefir kültürlerinden üretilen kefirlerin pH değerleri arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0.001$). Geleneksel kefir danesi ile üretilen kefirlerin (G1 ve G2) genel ortalama pH değeri 4.50 olarak tespit edilirken endüstriyel kefir starter kültürü ile üretilen kefirlerin (E1 ve E2) genel ortalama pH değeri de 4.45 olarak belirlenmiştir.

Bu sonuçlar ile uyumlu olarak; Şen (2015), daneden üretilen kefirin 4.57 pH ve ticari kültürden üretilen kefirin 4.38 pH olduğunu; Aşcı-Arslan (2015) daneden üretilen kefirin 4.59 pH ve ticari kültürden üretilen kefirin 4.49 pH olduğunu; Daştan (2020) daneden üretilen kefirin 4.62 pH ve ticari kültürden üretilen kefirin 4.58 pH olduğunu belirtmişlerdir.

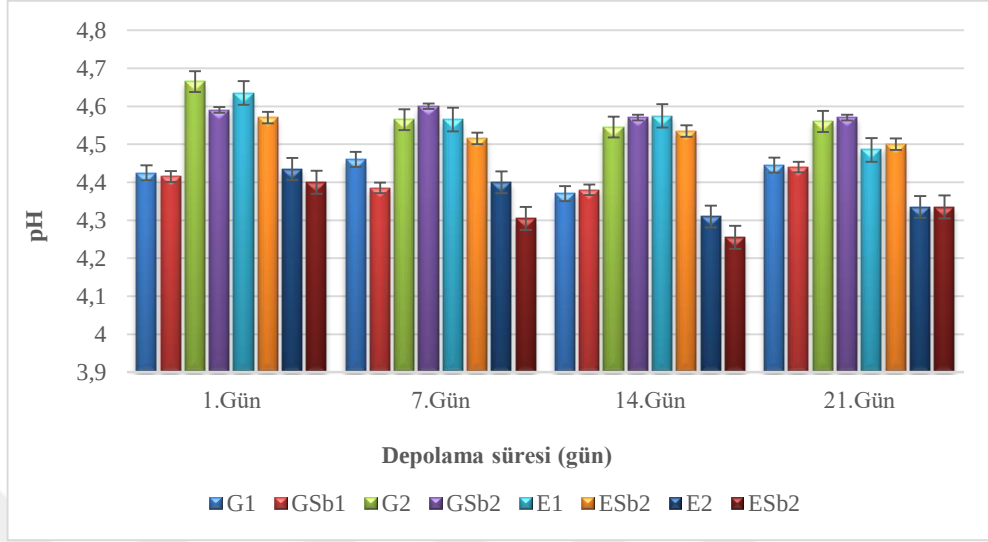
Ayrıca bazı çalışmalarda daneden üretilen kefirlerin pH değerlerinin liyofilize kültürden üretilen kefiirlere göre daha düşük olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalardan; Öner vd. (2010) dane kültürden üretilen kefirlerin pH değerinin 4.23 ve liyofilize kültürden üretilen kefirlerin 4.42 pH olduğunu belirtirken; Kök-Taş vd. (2013) ise dane kültürden üretilen kefirlerin pH değerinin 4.38 ve liyofilize kültürden üretilen kefirlerin ise 4.41 pH olduğunu tespit etmiştir.

Kefirin pH değeri süt türüne, starter kültür inokülasyon oranına, fermentasyon sıcaklık ve süresine, kefir starter kültüründeki bakteri ve maya sayısı ile suş çeşitliliğine ve mikroorganizma aktivitesine göre değişiklik göstermektedir.

Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre, GSb1, E2, ESb2 kefir örneklerinin pH değerleri arasındaki farkın önemsiz olduğu gibi G2, GSb2 ve E1 kefir örneklerinin pH değerleri arasındaki farkın da önemsiz olduğu ancak bu iki kefir grubunun pH değerleri arasındaki farkın önemli ($p<0.001$) olduğu anlaşılmıştır. Farklı kefir kültürleri ile üretilen kefir örneklerinin pH değerleri arasındaki farklar kültürün geleneksel, endüstriyel ya da probiyotik maya içermesinden çok kefir örneklerinin içerdikleri bakteri ile maya tür ve suş çeşitliliğinden kaynaklandığı anlaşılmıştır.

Kefir üretiminde kullanılan dane starter kültürün mikrobiyotası; coğrafi, iklimsel, mevsimsel ve fermentasyon proses değişiklikleri nedeniyle farklılık göstermekte olup üretilen kefirlerin pH değerleri de çalışmalarda farklılık göstermektedir. Ayrıca pH değerindeki bu değişimlerin oluşumunda kullanılan starter kültürdeki bakteri ile mayanın tür ve suş farkı yanında bakteri/maya oranı ve mikroorganizma aktivitelerinin etkili olduğu yapılan çalışmalar ile belirlenmiştir (Aşcı-Arslan, 2015; Daştan 2020; Kök-Taş vd., 2013; Şen 2015). Fermente ürünlerin depolanması aşamasında, organik asitlerin mayalar tarafından metabolize edilmeleri nedeniyle pH değişimi olmayabilmektedir (Lourens-Hattingh ve Viljoen, 2001).

Farklı kefir kültürleri ve *S. boulardii* mayası ile üretilen kefirlerin pH değerlerinin 4 ± 1 °C’de 21 gün depolama süresince değişimi Şekil 4.3’te verilmiştir.



Şekil 4.3. Kefir örneklerinin pH değerinin depolama süresince değişimi.

Grafikten izlenebileceği gibi depolama boyunca kefir örneklerinin pH değerinin 14. güne kadar azaldığı daha sonra 14. gün ile 21. gün arasında arttığı belirlenmiştir. Farklı kefir kültürleri ve *S. boulardii* mayası ile üretilen kefirlerin pH değerleri depolamanın 1. gününde 4.52, 7. gününde 4.47, 14. gününde 4.44 ve 21. gününde 4.76 olarak belirlenmiştir. Depolama süresi boyunca kefir örneklerinin genel ortalama pH değerleri arasındaki farkın önemsiz ($p > 0.05$) olduğu bulunmuştur. Kefirin 4 ± 1 °C’de 21 gün süre boyunca depolanması aşamasında kefirdeki laktik asit bakteri ve maya aktivasyonu ile oluşan metabolitler ile pH değerinde değişim oluşmuştur. Depolamanın 14. gününden itibaren laktik asit bakteri sayısının azalmasına bağlı olarak pH değerinin de yükseldiği tespit edilmiştir.

Benzer şekilde Sarıca (2019) ve Dinkçi vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada, inek sütünden üretilen kefir örneklerinin pH değeri depolamanın 14. gününe kadar azaldığı, 21. gününde ise arttığı bildirilmiştir.

Bu çalışmadaki sonuçlarla uyumlu olarak; Irigoyen vd. (2005), Ender (2009), Demir (2011), Ertekin ve Güzel-Seydim (2010), Şen (2015), Buran (2020) ve Aşçı-Arslan (2015) yapmış oldukları çalışmalarda, depolama sırasında örneklerin pH değerlerindeki değişimin önemli olmadığını ($p > 0.05$) rapor etmişlerdir.

Literatür incelendiğinde *S. boulardii* mayasının yoğurda ilave edildiği bir çalışmada Lourens-Hattingh ve Viljoen (2001), AB yoğurt, AB meyveli yoğurt, UHT Yoğurt ve UHT süte *S. boulardii* mayasını ilave ederek 29 gün boyunca 5 °C’de mayanın canlılığı ile laktoz kullanımını, organik asit üretimini ve yoğurtların pH değişimlerini takip etmiştir. Bu çalışmadaki sonuçlarla da uyumlu olarak, 1. gün UHT süt için 6.55 pH; UHT yoğurt için 4.23 pH ile AB yoğurt için 4.30 pH ve Meyveli yoğurt için de 4.16 pH değerleri tespit edilmiştir. Depolama süresi boyunca farklı günlerde olmak üzere bütün ürünlerde önce pH değeri azalmış sonra artmıştır. *S. boulardii* içeren UHT yoğurt örneklerinde depolamanın 17. gününde pH değerinin yükselerek tekrar 4.23 değerine ulaştığı rapor edilmiştir.

Kefirin olgunlaşma ve depolama süresi boyunca mikroorganizmaların metabolik ya da enzimatik aktiviteleri sonucu asitlik artarak pH değerinde düşüş gözlenmektedir. Kefirin depolanması sırasında laktik asit bakterilerinin ürettiği laktik asit ile pH düşmekte ve fermentasyon yavaşlayarak laktik asit bakteri sayısı da azalmaktadır. Ayrıca kefirin depolanması sırasında içerdiği mayaların gerçekleştirdiği etil alkol fermentasyonu ile asit üretimi sınırlandırılmaktadır. Laktozu fermente edebilen mayalar, laktozu laktik asidin yanı sıra etanol ve karbondioksit dönüştürürler. Mayaların ürettikleri CO₂ gibi karbonatlı metabolitler de asitliğin aşırı yükselmesine engel olmaktadır (Irigoyen vd., 2005; Kınık vd. 2008; O’Brien vd., 2016; Rattray ve O’Connell, 2011).

4.2.4 Yağ miktarı

Kefirin fiziksel ve duyu özelliklerini olumlu yönde etkileyen yağ miktarı, beslenme fizyolojisi açısından da önemlidir. Ayrıca yağ miktarı, ürünün mevzuata uygunluğunu da belirleme açısından önemli bir kriterdir.

Kefir üretiminde, yağ standardizasyonu yapılmış UHT inek sütü kullanıldığı için bütün kefir örneklerinin yağ miktarı %3.00±0.00 (m/m) olarak tespit edilmiştir. Depolama süresi boyunca farklı kefir örneklerinin yağ miktarında herhangi bir değişim olmadığı görülmüş olup 21. gün kefir örneklerinin yağ miktarı %3,00±0.00 (m/m) olarak bulunmuştur. Ayrıca kefir üretiminde kullanılan geleneksel ya da endüstriyel starter kültür ile *S. boulardii* mayasının da kefir örneklerinin yağ oranını değiştirmedığı anlaşılmıştır. Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği, kefirdeki süt yağının

ağırlıkça en fazla %10 olması gerektiğini belirtmiş olup üretilen kefirlerin yağ değerlerinin bu şarta uygun olduğu görülmektedir (Tebliğ No: 2022/44).

Kefir üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde; kefir üretiminde kullanılan sütün yağ miktarına, kültürdeki mikroorganizmaların lipolitik aktivitesine ve ilave edilen prebiyotik bileşenlerin yağ miktarına bağlı olarak kefirin de yağ miktarı değiştiği görülmektedir.

Kefir üretiminde farklı oranlarda serum protein izolatının (whey protein) kullanıldığı bir çalışmada bütün kefir örneklerinin 14 gün depolama süresi boyunca % yağ miktarında bir değişim görülmediği ve denemelerde aynı tip UHT süt kullanılması nedeniyle yağ değerinin %2.8 olarak belirlendiği bildirilmiştir (İnce-Coşkun ve Özdekan-Ocak, 2022).

Buran (2020), %3.7 yağlı inek sütünden üretilen kefirin yağ miktarının %3.30-3.65 arasında değiştiğini ve kefirin yağ miktarının hammadde olarak kullanılan süte çok yakın değerlerde olduğunu belirtmiştir. Benzer şekilde, Sarıca (2019), %3-3.1 yağlı inek sütünden üretilen kefirin 35 gün depolama süresince yağ miktarının %2.94-3.14 arasında değiştiğini tespit etmiştir. Ender (2009) ise %2.8 yağlı inek sütünden üretilen kefirin yağ miktarının %2.4-2.6 arasında değişim gösterdiğini saptamıştır. Irigoyen vd. (2005), %1 ve %5 oranında kefir danesi ile üretilen kefirin 28 gün depolanması sonucunda örneklerin yağ miktarlarının benzer olduğunu ve kefire işlenen süt ile kefirlerin yağ oranları arasında bir fark olmadığını bildirmiştir.

4.2.5 Kül miktarı

Gıdada bulunan organik maddelerin yanması sonucu geriye kalan inorganik kalıntının miktarını belirten % kül miktarı, kefirin besin değerini ve kalite özelliklerini belirlemek açısından önemlidir.

Farklı kefir kültürleri (geleneksel veya endüstriyel) ile *S. boulardii* mayasının birlikte kullanılmasıyla üretilen 8 farklı kefirin 4±1 °C’de depolanmasının 1., 7., 14. ve 21. günlerindeki %kül (m/m) ile kuru maddede % kül (m/m) içeriğinin ortalamaları Çizelge 4.5’te verilmiştir.

Çizelge 4.5. Kefir örneklerinin kül miktarları (%), ($\bar{x} \pm SD$), (n=2).

Örnekler	% Kül (m/m)	% Kül (Km'de, m/m)
G1	0.59±0.02	5.68±0.33
GSb1	0.61±0.00	5.76±0.05
G2	0.59±0.00	5.90±0.04
GSb2	0.60±0.00	5.67±0.04
E1	0.60±0.02	5.76±0.46
ESb1	0.61±0.01	5.79±0.14
E2	0.61±0.02	5.59±0.40
ESb2	0.55±0.03	5.10±0.33
Genel Ort.	0.59±0.02	5.65±0.24

1: Örnekler

G1: Geleneksel Ankara kefir kültürü

GSb1: *S. boulardii* + Geleneksel Ankara kefir kültürü

G2: Geleneksel İzmir kefir kültürü

GSb2: *S. boulardii* + Geleneksel İzmir kefir kültürü

E1: Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

ESb1: *S. boulardii* + Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

E2: Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

ESb2: *S. boulardii* + Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

$\bar{x}$: İki tekerrür ortalaması, SD: Standart sapma, n: Tekerrür sayısı

Farklı starter kültürleri ile *S. boulardii* mayası kullanımının kefirin kül miktarına önemli ($p>0.05$) bir etkisi olmadığı belirlenmiştir. Kefir örneklerinin kül miktarının %0.55-0.61 (kuru maddede kül %5.10-5.90) arasında değiştiği saptanmış olup ortalama kül miktarı %0.59 (kuru maddede kül %5.65) olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlarla uyumlu olarak Kök-Taş vd., (2014) kefirin kül içeriğini %0.56-0.66; Şen (2015) %0.68-0.71 ve Aşçı-Arslan (2015) ise %0.7 olduğunu ve starter kültür çeşidinin kefir örneklerinin kül değerleri üzerine önemli bir etkisinin olmadığını ($p>0.05$) belirlemiştir.

4.3 Farklı Kefir Kültürleri ve *S. boulardii* ile Üretilen Kefirlerin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Farklı dört kefir kültürlerine (G1, G2, E1 ve E2) *S. boulardii* mayası ilave edilerek üretilen (GSb1, GSb2, ESb1, ESb2) 8 farklı kefirin 4 ± 1 °C'depolanmasının 1., 7. 14. ve 21. günlerindeki bazı mikrobiyolojik özelliklerinde meydana gelen değişimler ile bu değişimlerin istatistiksel analiz sonuçları bu bölümde incelenmiş ve değerlendirilmiştir. Yapılan mikrobiyolojik analizler ile kefire *S. boulardii* mayasının ilave edilmesinin, farklı starter kültür kullanımının ve depolama süresinin kefirin mikrobiyolojik özelliklerine olan etkisi belirlenmeye çalışılmıştır.

4.3.1 Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı

Kefirde, toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayısı, genellikle içerdiği probiyotik mikroorganizmaların patojen gelişimine izin vermemesi nedeniyle hijyen indikatörü olmasından çok starter kültürde bulunan mezofilik ve aerobik nitelikteki mikroorganizmaların bir göstergesidir.

Farklı kefir kültürleri (geleneksel veya endüstriyel) ile *S. boulardii* mayasının birlikte kullanılmasıyla üretilen 8 farklı kefirin 4±1 °C’depolanmasının 1., 7., 14. ve 21. günlerindeki toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı ortalamaları log kob/g olarak Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Kefir örneklerinin TMAB sayıları (log kob/g), ($\bar{x} \pm SD$), (n=2).

	Gün				
Örnekler ¹	1	7	14	21	Ortalama
G1	8.34±0.22	8.54±0.26	9.23±0.05	8.80±0.19	8.73±0.41 ^c
GSb1	8.66±0.28	8.46±0.18	8.59±0.25	8.48±0.25	8.55±0.27 ^c
G2	8.22±0.22	7.27±0.57	7.66±0.62	7.23±0.30	7.60±0.65 ^a
GSb2	8.33±0.15	7.62±0.79	7.40±0.59	7.15±0.26	7.62±0.73 ^a
E1	8.10±0.02	7.59±0.33	7.81±0.27	7.56±0.44	7.76±0.40 ^{ab}
ESb1	7.83±0.03	7.43±0.32	7.09±0.21	7.35±0.35	7.30±0.31 ^a
E2	8.91±0.48	8.63±0.52	8.79±0.44	8.20±0.12	8.63±0.53 ^c
ESb2	8.60±0.70	8.17±0.13	7.86±0.22	8.16±0.22	8.20±0.50 ^{bc}
Genel Ort.	8.31±0.58 ^A	7.97±0.70 ^A	8.05±0.81 ^A	7.87±0.67 ^A	

1: Örnekler

G1: Geleneksel Ankara kefir kültürü

GSb1: *S. boulardii* + Geleneksel Ankara kefir kültürü

G2: Geleneksel İzmir kefir kültürü

GSb2: *S. boulardii* + Geleneksel İzmir kefir kültürü

E1: Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

ESb1: *S. boulardii* + Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

E2: Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

ESb2: *S. boulardii* + Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

x̄: İki tekerrür ortalaması, SD: Standart sapma, n: Tekerrür sayısı

Aynı sütundaki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (p<0.001).

Aynı satırdaki farklı büyük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (p<0.05).

S. boulardii mayasının ilave edildiği kefir örneklerinin (GSb1, GSb2, ESb1 ve ESb2) TMAB sayısı ortalaması 7.92 log kob/g, geleneksel veya endüstriyel kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin (G1, G2, E1 ve E2) TMAB sayısı ortalamasından 8.18 log kob/g daha düşük olduğu belirlenmiştir. *S. boulardii* mayası ilave edilen kefirler ile bu mayayı içermeyen kefirlerin TMAB sayısı arasında yaklaşık 0.26 log fark olduğu

ancak bu farkın önemli ($p>0.05$) olmadığı bulunmuştur. Maya eklenmeyen kefir örnekleri içinde en yüksek TMAB sayısı G1 kefirinde 9.23 log kob/g, en düşük TMAB sayısı G2 kefirinde 7.23 log kob/g bulunmuştur. *S. boulardii* mayasının ilave edildiği kefir örnekleri içinde ise en yüksek TMAB sayısı GSb1 kefirinde 8.66 log kob/g, en düşük TMAB sayısı ESb1 kefirinde 7.09 log kob/g olarak bulunmuştur. Kefir örneklerinin TMAB sayısı genel ortalaması 8.05 log kob/g olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmada kefir örneklerinde tespit edilen ortalama TMAB sayısı, Daştan (2015) ve Aşcı-Arslan (2015) değerleriyle uyumluyken; Yıldız (2009); Ünal (2013) ve Sarıca (2019) değerlerinden daha düşük ve Uslu (2010), Buran (2020) ve Öksüztepe vd. (2020) tarafından tespit edilen değerlerden daha yüksek çıkmıştır.

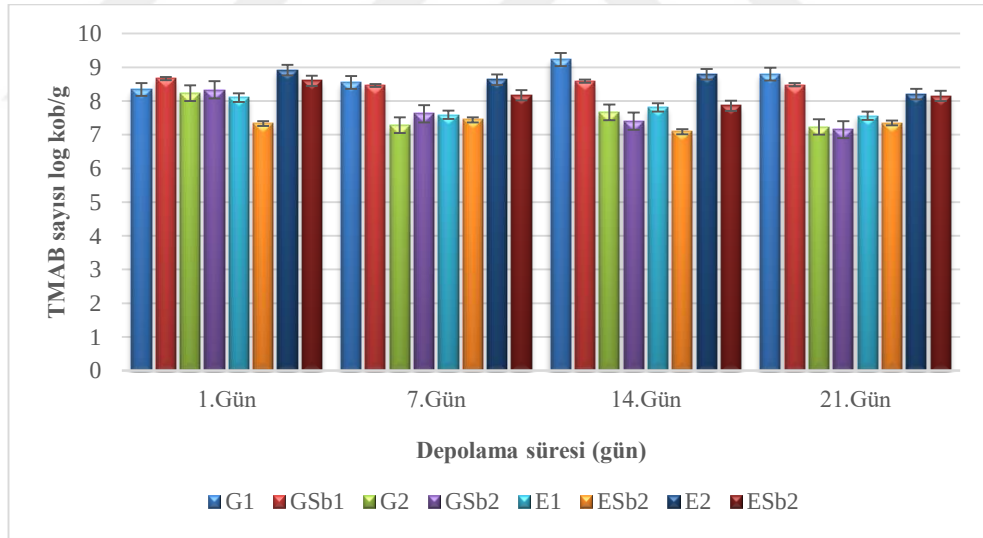
Yıldız (2009), çalışmasında %3 yağ içeren inek sütüne %5 kefir danesi ile %0.5 oranında *S. cerevisiae* mayası inoküle edilerek üretilen kefirin TMAB sayısının 8.48-10.01 log kob/g arasında değiştiğini ve ortalama 9.25 log kob/g olduğunu belirlemiştir.

Farklı kefir starter kültürlerinin ortalama TMAB sayısına olan etkisi istatistik olarak önemli ($p<0.001$) bulunmuştur. Yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre ortalama TMAB sayısı; G1, GSb1 ile E2 kefir örneklerinin kendi arasındaki farklılık önemli olmadığı gibi G2, GSb2 ile ESb1 kefirlerin de kendi arasındaki farklılığın önemli olmadığı ancak bu iki grup arasındaki farkın önemli ($p<0.001$) olduğu anlaşılmıştır. TMAB sayısı bakımından bu iki grup arasında yaklaşık 1 log kob/g fark olduğu belirlenmiştir. Ayrıca E1 ile ESb2 kefir örneklerinin ortalama TMAB sayısının bu iki grubun değerleri arasında yer aldığı ve diğer bütün kefir örneklerinin ortalama TMAB sayısı ile aralarındaki farkın önemli ($p<0.001$) olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlardan da anlaşıldığı gibi geleneksel veya endüstriyel kefir kültürleri ile *S. boulardii* maya ilave edilmiş kefir örneklerinin ortalama TMAB sayısı arasındaki farkın kültürün geleneksel, endüstriyel olması ya da probiyotik maya içermesinden çok kefir üretiminde kullanılan starter kültürlerin mikrobiyal flora çeşitliliğinden kaynaklanmaktadır. Kefirin mikrobiyal metabolizması içinde laktik asit bakterileri, asetik asit bakterileri ve maya gibi çok farklı mikroorganizmalar olduğu bilinmektedir. Bu mikrobiyota kendi içinde simbiyotik ilişki içinde olup oluşturdukları metabolitler de TMAB, LAB ya da maya sayısını etkilemektedir.

Şen (2015), endüstriyel ve geleneksel yöntemlerle üretilen kefirlerin mikrobiyolojik özellikleri ile mikroorganizma profilini incelediği çalışmasında endüstriyel kefir örneklerinin üretiminde kullanılan kültürlerde daha az sayıda TMAB bulunduğunu ve geleneksel olarak üretilen kefirler ile endüstriyel kefirler arasında önemli ($p<0.05$) farklılık bulunduğunu belirtmiştir. Ayrıca geleneksel yöntemle daneden üretilen kefirin TMAB sayısının 8.2 log kob/g olduğu bulunurken endüstriyel yöntemle üretilen kefirin TMAB sayısı ise 6.57 log kob/g olduğu tespit edilmiştir.

Benzer şekilde, Öksüztepe vd. (2020) endüstriyel kefir örneklerini incelemiş ve sade kefirin TMAB sayısını 7.43 log kob/g olarak belirlemiştir. Yıldız (2009) ise geleneksel kültürden üretilen kefir örneklerinin TMAB sayısının starter kültür eklenenlerden daha yüksek olduğunu ve depolamanın 23. gününde en yüksek TMAB sayısının (9,7 log kob/mL) geleneksel yöntemle üretilen kefirde olduğunu tespit etmiştir.

Farklı kefir kültürleri ve *S. boulardii* mayası ile üretilen kefirlerin TMAB sayısının log kob/g olarak 4 ± 1 °C’de 21 gün depolama süresince değişimi Şekil 4.4’te verilmiştir.



Şekil 4.4. Kefir örneklerinin TMAB sayısının (log kob/g) depolama süresince değişimi.

Grafikten izlenebileceği gibi 4 ± 1 °C’de depolama boyunca kefir örneklerinin en yüksek TMAB sayısı ilk günde belirlenmiştir. Depolama süresi boyunca kefir örneklerinin genel ortalama TMAB sayısının günler arasındaki farkının önemsiz ($p>0.05$) olduğu bulunmuştur. Farklı kefir kültürleri ve *S. boulardii* mayası ile üretilen kefirlerin ortalama TMAB sayısı depolamanın 1. gününde 8.31 log kob/g, 7. gününde

7.97 log kob/g, 14. gününde 8.05 log kob/g ve 21. gününde 7.87 log kob/g olarak belirlenmiştir. Kefir örneklerinin TMAB sayısı genel olarak depolama süresinin 7. gününde azalırken 14. gününde tekrar artmış ve sonra 21. gününde azalarak en düşük değer elde edilmiştir. Depolama süresi boyunca kefir örneklerinin genel ortalama TMAB sayısı ilk günden 21. gün sonuna kadar 0.4 log azaldığı belirlenmiştir. Depolama süresi boyunca en yüksek TMAB sayısı ise 14. gün G1 kefirinden 9.23 log kob/g elde edilirken en düşük TMAB sayısı 14. gün ESb1 kefirinden 7.09 log kob/g olarak elde edilmiştir. Kefirin 4 °C’de 21 gün süre boyunca depolanması aşamasında fermentasyon yavaşlayarak devam etmiştir. Bu süreçte kefirdeki laktik asit bakteri ve maya aktivasyonu sonucunda oluşan metabolitler ile bakteri sayısında da değişim olmuştur.

Bu sonuçlarla uyumlu olarak, Yıldız (2009), Aşcı-Arslan (2015) ve Buran (2020) yapmış oldukları çalışmalarda, depolama sırasında örneklerin TMAB sayısında günler arasında farklı artma ve azalma eğilimi olduğunu tespit etmiş ve bu değişimin önemli olmadığını ($p>0.05$) rapor etmişlerdir.

Yıldız (2009) yaptığı çalışmada, %3 yağlı kefir örneklerinde TMAB sayısının 5. gün ile 10. günde artış gösterdiğini ve 10. günden itibaren 23. güne kadar azalma eğiliminde olduğunu tespit etmiştir. Depolama başlangıcı ve sonunda %3 yağlı kefirin TMAB sayısı 8.37 – 8.54 log kob/mL olarak bildirilmiştir.

Ünal (2013), iki farklı kefir kültürü (dane ve liyofilize) ile farklı oranlarda yağsız kuru madde (%9-15) içeren sütlerden üretilen ve 4 °C’de 15 gün depolanan kefirlerden daneden ve %9 yağsız kuru madde içeren süttten üretilen kefirlerde TMAB sayısının depolamanın 8. gününde artış gösterdikten sonra azaldığını bildirmiştir. Aşcı-Arslan (2015) ve Sarıca (2019) da kefirde en yüksek TMAB sayısını depolamanın ilk günü elde edildiğini ifade etmiştir.

Kefirin fermentasyon sıcaklığının da TMAB sayısını etkilediği bilinmektedir. Aşcı-Arslan (2015), 20 °C ve 25 °C fermentasyon sıcaklıklarında TMAB sayısını sırasıyla 8.6 log kob/g ve 8.3 log kob/g olduğunu belirtmiştir.

4.3.2 *Lactobacillus* spp. sayısı

Laktik asit bakterileri metabolizmaları sırasında laktik asit oluşturan bakteriler olup bu bakterilerin büyük bölümünü *Lactobacillus* cinsine ait türler oluşturmaktadır. *Lactobacillus* cinsi laktik asit bakterilerinin seksenden fazla türü vardır (Yoon vd., 2022). *Lactobacillus* spp. sayısı fermente gıdalar için, üretimde kullanılan starter kültür gelişiminin bir göstergesidir.

Farklı kefir kültürleri (geleneksel veya endüstriyel) ile *S. boulardii* mayasının birlikte kullanılmasıyla üretilen 8 farklı kefirin 4 ± 1 °C’de depolanmasının 1., 7., 14. ve 21. günlerindeki *Lactobacillus* spp. sayısı ortalamaları log kob/g olarak Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Kefir örneklerinin *Lactobacillus* spp. sayıları (log kob/g), ($\bar{x} \pm SD$), (n=2).

	Gün				
Örnekler ¹	1	7	14	21	Ortalama
G1	8.80±0.28	8.54±0.02	8.82±0.07	8.46±0.21	8.66±0.25 ^d
GSb1	8.88±0.40	8.37±0.07	8.47±0.17	8.20±0.22	8.48±0.38 ^{cd}
G2	8.05±0.18	7.79±0.47	7.97±0.31	7.44±0.49	7.81±0.48 ^b
GSb2	7.74±0.51	7.74±0.49	8.07±0.29	6.87±0.27	7.48±0.58 ^b
E1	7.52±0.08	7.88±0.32	8.10±0.70	7.32±0.24	7.71±0.54 ^b
ESb1	6.74±0.44	7.43±0.57	7.21±0.31	6.04±0.56	6.85±0.77 ^a
E2	9.09±0.05	8.94±0.17	8.41±0.36	8.78±0.05	8.81±0.35 ^d
ESb2	8.78±0.16	8.30±0.08	7.51±0.25	7.97±0.54	8.01±0.61 ^{bc}
Genel Ort.	8.20±0.86 ^A	8.06±0.60 ^A	8.01±0.65 ^A	7.64±0.95 ^B	

1: Örnekler

G1: Geleneksel Ankara kefir kültürü

GSb1: *S. boulardii* + Geleneksel Ankara kefir kültürü

G2: Geleneksel İzmir kefir kültürü

GSb2: *S. boulardii* + Geleneksel İzmir kefir kültürü

E1: Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

ESb1: *S. boulardii* + Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

E2: Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

ESb2: *S. boulardii* + Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

$\bar{x}$: İki tekerrür ortalaması, SD: Standart sapma, n: Tekerrür sayısı

Aynı sütundaki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (p<0.001).

Aynı satırdaki farklı büyük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (p<0.05).

S. boulardii ilave edilen kefir örneklerinin (GSb1, GSb2, ESb1 ve ESb2) *Lactobacillus* spp. sayısı ortalamasının 7.71 log kob/g olduğu belirlenmiş olup geleneksel ve endüstriyel kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinde (G1, G2, E1 ve E2) ise 8.25 log kob/g olduğu tespit edilmiştir. *S. boulardii* mayası ilave edilen kefirler ile bu

mayayı içermeyen kefirlerin *Lactobacillus* spp. sayısı arasındaki farkın önemli ($p<0.01$) olduğu belirlenmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre G2 ve GSb2 kefir örneklerinin *S. boulardii* mayası kullanımının *Lactobacillus* spp. sayısına olan etkisinin önemli ($p>0.05$) olmadığı anlaşılmıştır. Kefir üretiminde *S. boulardii* mayası kullanılan GSB1 kefirinin depolamanın ilk gününde *Lactobacillus* spp. sayısının G1'den daha yüksek olduğu ve yine GSb2 kefirinin 14. gününde *Lactobacillus* spp. sayısının G2'den daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Bütün kefir örneklerinin *Lactobacillus* spp. sayısı incelendiğinde *S. boulardii* mayası ilave edilen kefirler ile bu mayayı içermeyen kefirler arasındaki farkın yaklaşık 0.5 log olduğu anlaşılmıştır. Kefir üretiminde kullanılan kefir kültürlerine göre *Lactobacillus* spp. sayısı incelendiğinde; G1 ile GSb1 kefirlerinin arasındaki farkın 0.18 log; G2 ile GSb2 kefirlerinde 0.33 log; E1 ile ESb1 kefirlerinde 0.86 log ve E2 ile ESb2 kefirlerinde ise 0.8 log olduğu tespit edilmiştir. Buradan da anlaşılabileceği gibi geleneksel kefir danesi ile üretilen kefirlerde *S. boulardii* mayası kullanımının *Lactobacillus* spp. sayısına olan etkisinin çok az olduğu ancak endüstriyel kefir kültürlerinde ise bu farkın artarak üç katına çıktığı görülmektedir. *Lactobacillus* spp. sayısı bakımından *S. boulardii* mayasının geleneksel kefir dane mikrobiyotasına daha iyi uyum sağladığı anlaşılmıştır. Bu değişime rağmen *S. boulardii* içeren kefir örneklerinin *Lactobacillus* spp. sayısı ortalaması (7.71 log kob/g) literatürde incelenen kefirlerin çoğunun üstündedir.

S. boulardii içermeyen kefir örnekleri içinde en yüksek *Lactobacillus* spp. sayısı 9.09 log kob/g ile E2 kefirinde tespit edilmiş olup en düşük *Lactobacillus* spp. sayısı da 7.32 log kob/g ile E1 kefirinde bulunmuştur. *S. boulardii* ilave edilen kefir örnekleri içinde ise en yüksek *Lactobacillus* spp. sayısı GSb1 kefirinde 8.88 log kob/g, en düşük *Lactobacillus* spp. sayısı ESb1 kefirinde 6.04 log kob/g olarak bulunmuştur. Kefir örneklerinin genel ortalama *Lactobacillus* spp. sayısı 7.98 log kob/g olarak belirlenmiştir.

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği, kefirin toplam spesifik mikroorganizma sayısının en az 10^7 kob/g olması gerektiğini belirtmiştir. Bu açıdan

Çalışma kapsamında üretilen bütün kefir rnekleri TGK Fermente Süt rnleri Tebliği'ne uygunluk göstermektedir (Tebliğ No: 2022/44).

Bu çalışmada kefir örneklerinde tespit edilen ortalama *Lactobacillus* spp. sayısı, Ender (2009) ve ner vd. (2010) değerleriyle uyumluyken; Uslu (2010), Demir (2011), nal (2013), şen (2015), Daştan (2015), Akbörü (2019), Sarıca (2019) ve ksztepe vd. (2020) tarafından tespit edilen değerlerden daha yüksek bulunurken Kök-Taş (2013), Aşcı-Arslan (2015) ve Akbulut-Ataman (2020) değerlerinden daha düşük çıkmıştır.

Yıldız (2009), çalışmasında %3 yağ içeren inek sütüne %5 kefir danesi ile %0.5 oranında *S. cerevisiae* mayası inoküle ederek üretilen kefirin *Lactobacillus* spp. sayısının 6,48-8.06 log kob/g arasında değiştiğini belirlemiştir.

Karaolis vd. (2013), yoğurt retiminde *S. boulardii* mayasının fermentasyon başlangıcında ya da sonrasında yoğurt kültürüyle birlikte kullanılmasının 28 gün boyunca *Lactobacillus* spp. sayısına etkisini incelemiştir. Maya fermentasyon başlangıcında eklendiğinde yoğurtların ilk gün *Lactobacillus* spp. sayısı 4.5 log kob/g iken sonradan maya eklenmiş örneklerde ise 5.7 log kob/g olduğu ve sadece yoğurt kültürü kullanılan kontrol örneğinde ise bu değerin 4.7 log kob/g olduğu tespit edilmiştir. Depolama boyunca en yüksek *Lactobacillus* spp. sayısı mayanın fermentasyon başında kullanıldığı yoğurt örneklerinde 10. günde 6.18 log kob/g olarak belirlenirken kontrol yoğurt örneklerinde ise 5.3 log kob/g olarak daha düşük sayıda olduğu tespit edilmiştir. Yoğurt örneklerinde depolamanın 10. gün sonunda toplam *Lactobacillus* spp. sayıları kontrol için düşerken, maya içeren örneklerde önemli ölçüde yüksek ve nispeten sabit kalmıştır. Bu bulgu Lourens-Hattingh ve Viljoen (2001) tarafından vurgulanan *S. boulardii* mayasının laktik asit bakterilerinin gelişimini ve hayatta kalmasını sağlar, yönündeki görüşünü de destekler niteliktedir.

Laktik asit bakterileri lag fazındayken ortama eklenen *S. boulardii* mayası ile antagonist bir etkileşim sergileyebilmektedir. Ancak fermentasyonun ilerleyen aşamalarında LAB tarafından üretilen laktik asit ve galaktozu kullanan maya ile ortam asitliği azalmakta ve asitliğe duyarlı olan LAB ile sinerjik bir etkileşime girmektedir (Lourens-Hattingh ve Viljoen, 2001).

Kefir *S. boulardii* mayasının eklendiği bir çalışmada, Ivanova vd. (2012), kontrol kefir ve *S. boulardii* mayası ilave edilmiş olan kefir kültürü ile üretilen kefir örneklerinin *Lactobacillus* spp. sayısının başlangıçta 8.4 log kob/g olduğunu ancak yedi pasaj üretimin ardından *Lactobacillus* spp. sayısının değiştiğini ve kontrol örneğinde 9.4 log kob/g iken *S. boulardii* mayası eklenen kefirde 8.3 log kob/g olduğunu rapor etmiştir.

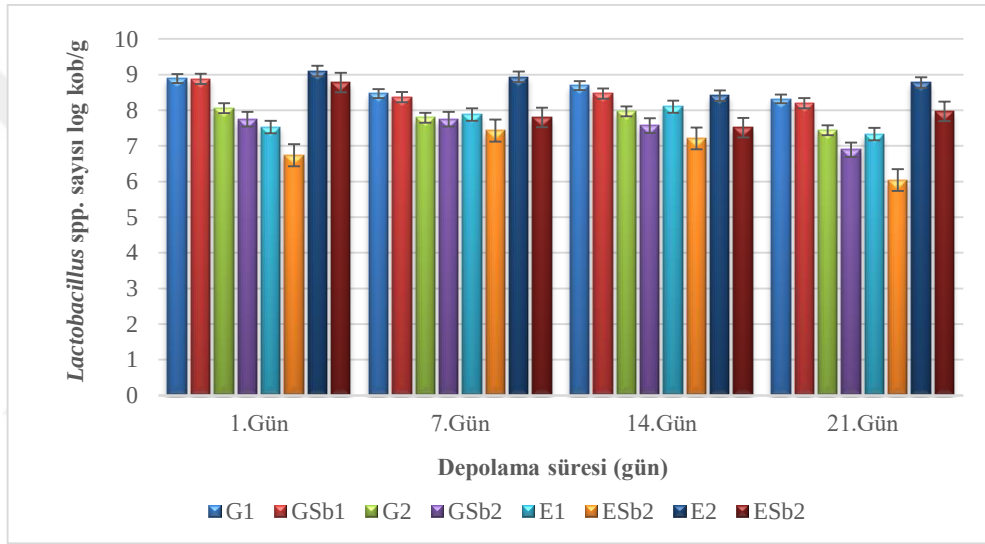
Farklı kefir starter kültürü kullanımının *Lactobacillus* spp. sayısına olan etkisi istatistik olarak önemli ($p < 0.001$) bulunmuştur. Yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre; G2, GSb2 ve E1 kefir örneklerinin *Lactobacillus* spp. sayısı arasında önemli ($p > 0.05$) bir fark olmadığı gibi G2 ile E2 kefir örneklerinin *Lactobacillus* spp. sayısı arasında önemli ($p > 0.05$) bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Bu iki grup arasında ve diğer bütün kefir örneklerinin *Lactobacillus* spp. sayısı arasındaki farkın önemli ($p < 0.001$) olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlardan da anlaşıldığı gibi geleneksel veya endüstriyel kefir kültürleri ile üretilen kefir örneklerinin ortalama *Lactobacillus* spp. sayısı arasındaki fark kültürün geleneksel ya da endüstriyel olmasından çok içerdiği mikrobiyal flora çeşitliliğinden kaynaklanmaktadır.

Kefir mikrobiyal metabolizması içinde bakteri ve maya arasında bir denge mevcuttur. Kefir danelerinin laktozu fermente eden ve etmeyen mayalar ile homofermentatif ve heterofermentatif laktik asit bakterileri ve asetik asit bakterilerinin farklı türlerini içeren kompleks bir mikroflora sahip olduğu ve bunların simbiyoz halde yaşadığı bilinmektedir (Yüksekdağ ve Beyatlı, 2003). Bakteri ve mayaların bir kısmı laktozu fermente ederek sayılarını artırırken oluşan laktik asit, amino asit, glukoz ve galaktoz gibi metabolitler yine bakteri ve mayalar tarafından metabolize edilerek sayılarını artırabilmektedir (Güzel-Seydim ve Kök-Taş, 2019). Ayrıca oluşan organik asitler LAB gibi asitliğe duyarlı mikroorganizmaların gelişimini önce yavaşlatıp sonra durdurmaktadır. Bu nedenle kefir mikrobiyotası sürekli değişiklik göstermekte ve bu değişim de LAB sayısı sonuçlarına yansımaktadır.

Akbörü (2019), farklı kefir kültürleri kullanarak üretilen ve 28 gün depolanan kefirlerin ortalama *Lactobacillus* spp. sayısını 7.6 log kob/g; Sarıca (2019), inek sütünden üretilen ve 35 gün depolanan kefirlerin ortalama *Lactobacillus* spp. sayısını 5.79 log kob/g; Demir (2011), yarım yağlı UHT inek sütünden üretilen ve 20 gün depolanan sade kefirin *Lactobacillus* spp. sayısını 7.6 log kob/g olarak tespit etmiştir.

Şen (2015) inek sütünden dane ya da liyofilize kültür ile üretilen ve 21 gün depolanan kefirlerin ortalama *Lactobacillus* spp. sayısını daneden üretilen için 6.36 log kob/g ve liyofilize kültürden üretilen için de 7.35 log kob/g olarak vermiştir. Öner vd. (2010) ise inek sütünden dane ya da liyofilize kültürden üretilen ve 15 gün depolanan kefirlerin ortalama *Lactobacillus* spp. sayısını 8.40 log kob/g ve liyofilize kültür kültürden üretilen için de 7.52 log kob/g olarak tespit etmiştir.

Farklı kefir kültürleri ve *S. boulardii* mayası ile üretilen kefirlerin *Lactobacillus* spp. sayısının log kob/g olarak 4 ± 1 °C’de 21 gün depolama süresince değişimi Şekil 4.5’te verilmiştir.



Şekil 4.5. Kefir örneklerinin *Lactobacillus* spp. sayısının (log kob/g) depolama süresince değişimi.

Grafikten izlenebileceği gibi 4 ± 1 °C’de depolama boyunca kefir örneklerinin en yüksek *Lactobacillus* spp. sayısı ilk günde belirlenmiş olup depolama süresi boyunca *Lactobacillus* spp. sayısı azalmıştır. Depolama süresi boyunca kefir örneklerinin genel ortalama *Lactobacillus* spp. sayısının günler arasındaki farkının önemli ($p < 0.05$) olduğu bulunmuştur. Yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre ortalama *Lactobacillus* spp. sayısının depolamanın ilk günü ile 7. ve 14. günleri arasındaki farklılığın önemli olmadığı ama 21. gün *Lactobacillus* spp. sayısının diğer günlerle arasındaki farkının önemli ($p < 0.05$) olduğu anlaşılmıştır. Kefir örnekleri depolama günleri boyunca incelendiğinde; E2 ve ESb2 hariç bütün örneklerin *Lactobacillus* spp. sayısının 7. günde azaldığı, 14. günde arttığı ve 21. günde tekrar

azaldığı belirlenmiştir. E2 ve ESb2 kefir örneklerinin *Lactobacillus* spp. sayısı ise depolamanın 14. gününe kadar azaldıktan sonra 21. gününde tekrar artmıştır. Depolama süresi boyunca en yüksek *Lactobacillus* spp. sayısı ise 1. gün E2 kefirinde (9.09 log kob/mL) elde edilirken en düşük *Lactobacillus* spp. sayısı 21. gün ESb1 kefirinde (7.09 log kob/mL) tespit edilmiştir.

Kefir örneklerinin genel ortalama *Lactobacillus* spp. sayısı depolamanın ilk günü ile 21. günü arasında azalarak yaklaşık 0.6 log fark olduğu tespit edilmiştir. Farklı kefir kültürleri ve *S. boulardii* mayası ile üretilen kefirlerin ortalama *Lactobacillus* spp. sayısı depolamanın ilk gününde 8.20 log kob/g, 7. gününde 8.06 log kob/g, 14. gününde 8.01 log kob/g ve 21. gününde 7.64 log kob/g olarak belirlenmiştir. Ayrıca 21 günlük depolama süresi boyunca *S. boulardii* içermeyen kefir örnekleriyle *S. boulardii* içeren kefir örneklerinin *Lactobacillus* spp. sayısı arasında 1. gün 0.33 log, yedinci gün 0.46 log, on dördüncü gün 0.63 log ve yirmi birinci gün 0.73 log fark olduğu belirlenmiştir. *S. boulardii* içeren kefir örneklerinin toplam spesifik mikroorganizma sayısının literatürde yer alan çalışmalarda ve mevzuatta öngörülenin üstünde olması nedeniyle 21 gün depolama sonunda *Lactobacillus* spp. sayısındaki azalmanın olumsuz bir etki oluşturmadığı sonucuna varılmıştır.

Literatür incelendiğinde bazı araştırmacıların sonuçları, kefirde *Lactobacillus* spp. sayısının depolamanın belirli günlerinde artış gösterdiği sonra azaldığı ya da sabit kaldığı yönündedir. Bazı çalışmalarda ise *Lactobacillus* spp. sayısının depolama süresi boyunca azaldığı belirtilmiştir. Bu durumun kefirin mikrobiyota farkı nedeniyle oluşan fermentasyon metabolitlerinin laktik asit bakterileri üzerindeki etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca kefirin içerdiği maya türlerinin faaliyeti sonucu kefirde laktik asit miktarı azalmakta ve laktik asit bakterilerinin canlılıkları bundan olumlu yönde etkilenmektedir.

Irigoyen vd. (2005), çalışmasında kefirin ilk gün *Lactobacillus* spp. sayısını 8 log kob/mL olduğunu ve depolamanın 14. gününe kadar *Lactobacillus* spp. sayısının 1,5 log azaldığını daha sonra ise 28. güne kadar sabit kaldığını tespit etmiştir.

Yıldız (2009), farklı starter kültür ve %3 yağlı inek sütünden üretilen kefirlerin *Lactobacillus* spp. sayısının depolamanın 10. gününe kadar artış göstermesinin ardından 23. güne kadar azaldığını bildirmiştir.

Bu sonuçlarla uyumlu olarak Öner vd. (2010), inek sütünden farklı kültürlerle üretilen kefir örneklerinden dane ile üretilen kefirlerin *Lactobacillus* spp. sayısı ilk gün 8.15 log kob/g iken 7. günde artarak 8.57 log kob/g olduğu ve 15. gün 8.50 log kob/g olarak azaldığı belirlenirken liyofilize kültürle üretilen kefirlerin ilk gün *Lactobacillus* spp. sayısı 7.62 log kob/g iken 7. gün azalarak 7.41 log kob/g olduğu ve 15. gün ise tekrar artarak 7.53 log kob/g olduğu tespit edilmiştir.

Aşcı-Arslan (2015), çalışmasında farklı ticari kültürler ve dane ile üretilen 6 farklı kefir örneğinin *Lactobacillus* spp. sayısının 28 gün boyunca farklı şekilde arttığı veya azaldığını belirlemiştir. Çalışmada bazı kefir örneklerinin *Lactobacillus* spp. sayısının depolamanın 7. gününe kadar artış gösterdikten sonra azaldığını bildirmiştir. Depolama süresi boyunca kefir örneklerinin *Lactobacillus* spp. sayısının 1.4 log azaldığı tespit edilmiştir.

Demir (2011), de benzer şekilde yarım yağlı süttten üretilen kefire elma ve limon lifinin ilave edildiği çalışmasında kontrol kefirinin birinci gün 7.67 log kob/mL olan *Lactobacillus* spp. sayısının depolamanın 10. gününde 8.09 log kob/mL olarak arttığını ve sonra depolamanın 20. gününde 7.29 log kob/mL olarak azaldığını tespit etmiştir.

Şen (2015), daneden üretilen kefirlerin *Lactobacillus* spp. sayısının 21 gün depolama süresi boyunca 2.4 log artış gösterdiğini başka bir örnekte ise sabit kaldığını bildirmiştir. Ayrıca liyofilize kültürden üretilen kefirlerin *Lactobacillus* spp. sayısının 21 gün depolama süresi boyunca 1 log azalma gösterdiğini başka bir örnekte ise 0.2 log azaldığını bildirmiştir.

Sarıca (2019), inek sütünden üretilen kefir örneklerinin *Lactobacillus* spp. sayısının 35 gün depolama süresi boyunca azaldığını ve depolamanın ilk günü ile 35. gün arasında *Lactobacillus* spp. sayısının 1.6 log azaldığını bildirmiştir.

Benzer şekilde Ender (2009), 30 gün süresince depolanan kefirlerin Kök-Taş vd. (2013) ve Akbulut-Ataman (2020), ise 21 gün boyunca depolanan kefirlerin *Lactobacillus* spp. sayısının depolama günleri boyunca sürekli azaldığını belirtmişlerdir.

4.3.3 Mezofilik laktik kok sayısı

Laktik asit bakterilerinin mezofilik nitelikte ve kok formunda olan bakterileri *Streptococcus* spp., *Lactococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Pediococcus* spp. ve *Leuconostoc* spp. cinsi bakterilerden oluşmaktadır. Literatürde *Lactococcus* spp. ya da *Sterptococcus* spp. olarak verilen değerler aslında mezofilik laktik kok sayısını göstermektedir (Halkman, 2019). Mezofilik laktik koklar diğer laktik asit bakterileri gibi fermente gıdalar için üretimde kullanılan starter kültür gelişiminin bir göstergesidir.

Farklı kefir kültürleri (geleneksel veya endüstriyel) ile *S. boulardii* mayasının birlikte kullanılmasıyla üretilen 8 farklı kefirin 4 ± 1 °C’de depolanmasının 1., 7., 14. ve 21. günlerindeki mezofilik laktik kok sayısı ortalamaları log kob/g olarak Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Kefir örneklerinin mezofilik laktik kok sayıları (log kob/g), ($\bar{x} \pm SD$), (n=2).

	Gün				
Örnekler ¹	1	7	14	21	Ortalama
G1	8.84±0.14	8.34±0.08	8.62±0.00	8.27±0.30	8.52±0.31 ^b
GSb1	8.91±0.30	8.24±0.01	8.20±0.37	8.04±0.34	8.35±0.47 ^b
G2	7.06±1.06	7.24±1.43	7.07±0.53	6.80±0.20	6.04±1.01 ^a
GSb2	7.07±1.07	7.23±0.75	7.03±0.73	6.45±0.02	6.95±0.86 ^a
E1	7.32±0.32	7.29±0.17	7.00±0.70	7.01±0.48	7.16±0.52 ^a
ESb1	7.02±0.02	6.96±0.49	6.57±0.09	6.24±0.46	6.70±0.50 ^a
E2	9.15±0.08	8.60±0.01	8.64±0.07	8.61±0.02	8.75±0.26 ^b
ESb2	8.71±0.28	8.63±0.27	7.91±0.47	8.13±0.46	8.34±0.54 ^b
Genel Ort.	8.01±1.10 ^A	7.81±0.92 ^A	7.63±0.91 ^A	7.44±0.95 ^A	

1: Örnekler

G1: Geleneksel Ankara kefir kültürü

GSb1: *S. boulardii* + Geleneksel Ankara kefir kültürü

G2: Geleneksel İzmir kefir kültürü

GSb2: *S. boulardii* + Geleneksel İzmir kefir kültürü

E1: Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

ESb1: *S. boulardii* + Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

E2: Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

ESb2: *S. boulardii* + Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

$\bar{x}$: İki tekerrür ortalaması, SD: Standart sapma, n: Tekerrür sayısı

Aynı sütundaki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (p<0.001).

Aynı satırdaki farklı büyük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (p<0.05).

S. boulardii mayasının ilave edildiği kefir örneklerinin (GSb1, GSb2, ESb1 ve ESb2) mezofilik laktik kok sayısı 7.58 log kob/g iken geleneksel ve endüstriyel kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin (G1, G2, E1 ve E2) mezofilik laktik kok sayısı 7.87 log kob/g olarak belirlenmiştir. *S. boulardii* mayası ilave edilen kefirler ile bu mayayı içermeyen kefirlerin mezofilik laktik kok sayısı arasındaki farkın önemli ($p>0.05$) olmadığı bulunmuştur. *S. boulardii* mayası ilave edilen kefirler ile eklenmeyenler arasında 0.3 log fark olduğu görülmektedir. Maya eklenmeyen kefir örnekleri içinde en yüksek mezofilik laktik kok sayısı E2 kefirinde 9.15 log kob/g, en düşük mezofilik laktik kok sayısı G2 kefirinde 6.80 log kob/g olarak bulunmuştur. *S. boulardii* mayasının ilave edildiği kefir örnekleri içinde ise en yüksek mezofilik laktik kok sayısı GSb1 kefirinde 8.91 log kob/g, en düşük mezofilik laktik kok sayısı ESb1 kefirinde 6.24 log kob/g olarak bulunmuştur. Kefir örneklerinin genel ortalama mezofilik laktik kok sayısı 7.72 log kob/g olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmada kefir örneklerinde tespit edilen ortalama mezofilik laktik kok sayısı, Öner vd. (2010), Buran (2020) ve Öksüztepe vd. (2020) değerleriyle uyumluyken, Ender (2009), Demir (2011), Aşcı-Arslan (2015), Şen (2015), Akbörü (2019) ve Sarıca (2019) değerlerinden daha düşük bulunmuş olup Yıldız (2009) ve Daştan (2015) değerlerinden ise daha yüksek çıkmıştır.

Kefirde *Lactobacillus* spp. ile mezofilik laktik koklar simbiyotik bir gelişim göstermektedir. Mezofilik laktik kokların gelişimi için gerekli olan aminoasit ve serbest peptitler *Lactobacillus* spp. tarafından kazein fraksiyonlarından üretilmektedir. *Lactobacillus* spp. gelişimini teşvik eden formik asit ise mezofilik laktik koklar tarafından üretilmektedir (Lourens-Hattingh ve Viljoen, 2001). Kefir fermantasyonunun ilk 24. saatinde kültürdeki mezofilik laktik koklar baskınken fermantasyonun 168 saate uzatılmasıyla *Lactobacillus* spp. baskın duruma geçmektedir (Fontan vd. 2006). Ayrıca mayaların etil alkol fermantasyonu ve mezofilik laktik kokların üre metabolizması sırasında açığa çıkan CO₂ de *Lactobacillus* spp. gelişimini stimüle etmektedir (Uzunsoy ve Özer, 2019). Kefire eklenen *S. boulardii* mayası ile kefirin doğal mikrobiyotası içinde yer alan mayalar laktik asit gibi organik asitleri metabolize ederek *Lactobacillus* spp. ve mezofilik laktik kokların gelişimini teşvik etmektedir (Lourens-Hattingh ve Viljoen, 2001).

Yıldız (2009), çalışmasında %3 yağ içeren inek sütüne %5 kefir danesi ile %0.5 oranında *S. cerevisiae* mayası inoküle edilerek üretilen kefirin ilk on gün depolama süresi boyunca *Lactococcus* spp. sayısının arttığını ancak daha sonra azaldığını ve 6,29-7.69 log kob/g arasında değiştiğini belirlemiştir.

Köse (2018), doğal kefir danesinden üretilen kefirlerin 0., 4., 8., 12., 16., ve 18. saatlerde ve depolamanın 1. ve 7. günündeki *Lactococcus* spp. sayısını tespit ettiği çalışmasında, fermantasyonun 4. saatinden 12. saatine kadar *Lactococcus* spp. sayısının yaklaşık 5 log kob/mL olduğunu ve 18 saat süren fermantasyonun sonunda bu sayının 8,96 log kob/mL'ye ulaştığını belirlemiştir. Depolamanın 7. gününde kefir örneklerinde *Lactococcus* spp. sayısının 9.27 log kob/mL olduğu bildirilmiştir (Köse, 2018).

Farklı kefir starter kültürlerinin mezofilik laktik kok sayısına olan etkisi istatistik olarak önemli ($p<0.001$) bulunmuştur. Yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre; G1, GSb1, E2 ve ESb2 kefir örneklerinin mezofilik laktik kok sayısı arasında önemli ($p>0.05$) bir fark olmadığı gibi G2, GSb2, E1 ve ESb2 kefir örneklerinin de mezofilik laktik kok sayısı arasında da önemli ($p>0.05$) bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Bu iki grup arasında laktik kok sayısı bakımından yaklaşık 1.5 log fark olduğu ve bu farkın da önemli ($p<0.001$) olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlardan da anlaşıldığı gibi kefir örneklerinin laktik kok sayısı arasındaki fark kültürün geleneksel ya da endüstriyel olmasından çok içerdiği mikrobiyal flora ile ilişkilidir. Kefir örneklerinin depolanması sırasında düşük hızda da olsa laktik asit fermentasyonu devam ettiği için oluşan laktik asit, asitliğin yükselmesine ve bütün laktik asit bakterilerinin bundan etkilenecek sayısının düşmesine neden olmaktadır. Depolama boyunca mayalar tarafından gerçekleştirilen etil alkol fermentasyonu da düşük hızda devam etmekte ve laktik asidin bir bölümünü parçalayarak asitliğin düşmesine neden olmaktadır. Bu nedenle depolama süresi içinde laktik asit bakterilerinin sayısında, günler arasında azalma ve artışlar görülmektedir.

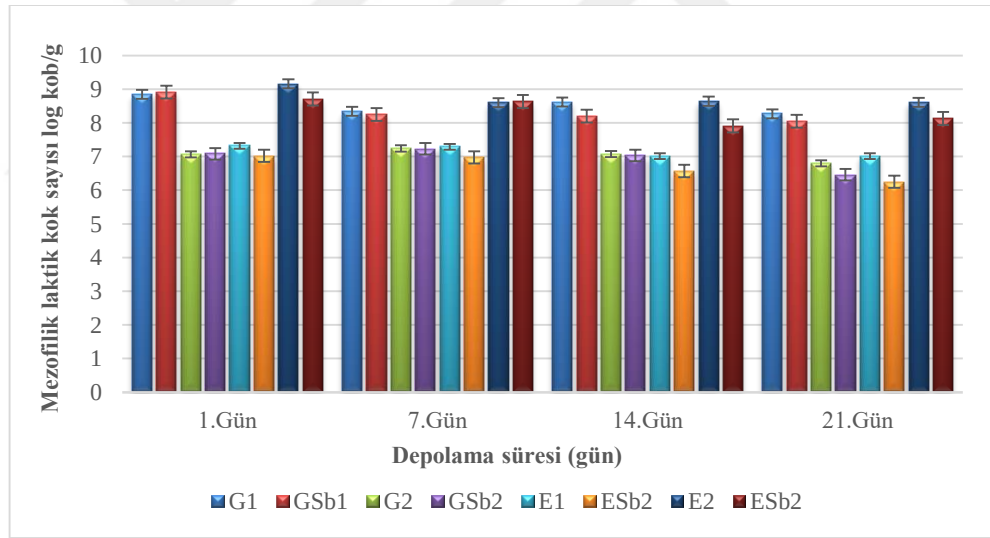
Kök-Taş vd. (2013), kefirin kalite karakteristikleri üzerine fermantasyon parametrelerinin etkisini inceledikleri çalışmalarında, 21 günlük depolama süresince kefir danesi kullanılarak üretilen kefir örneklerindeki *Lactococcus* spp. sayısının 8.0-9.2 log kob/mL arasında değişirken ticari kefir starter kültürü kullanılarak üretilen

kefir örneklerinin *Lactococcus* spp. sayısının 8.9-9.3 log kob/mL arasında değiştiğini belirlemişlerdir.

Öner vd. (2010) çalışmasında, inek sütünden dane ile üretilen kefirlerin *Lactococcus* spp. sayısının 7.89 log kob/g iken liyofilize kültürle üretilenlerde 7.63 log kob/g olduğunu ve aralarında 0.3 log fark bulunduğunu belirtmiştir.

Kefir danesi ve liyofilize kültür ile üretilen kefirlerin *Lactococcus* spp. sayısının sırasıyla 8.3 log kob/g ve 8.7 log kob/g olarak belirlendiği başka bir çalışmada ise 30 gün depolama süresi boyunca *Lactococcus* spp. sayısının azaldığı ve depolama sonunda 7.8 log kob/g olduğu tespit edilmiştir (Aşcı-Arslan, 2015).

Farklı kefir kültürleri ve *S. boulardii* mayası ile üretilen kefirlerin mezofilik laktik kok sayısının log kob/g olarak 4 ± 1 °C’de 21 gün depolama süresince değişimi Şekil 4.6’da verilmiştir.



Şekil 4.6. Kefir örneklerinin mezofilik laktik kok sayısının (log kob/g) depolama süresince değişimi.

Grafikten izlenebileceği gibi 4 ± 1 °C’de 21 gün depolama süresi boyunca genel olarak kefir örneklerinin mezofilik laktik kok sayısı azalmış olup en yüksek mezofilik laktik kok sayısı depolamanın ilk gününde belirlenmiştir. Depolama süresi boyunca kefir örneklerinin genel ortalama mezofilik laktik kok sayısının günler arasındaki farkının önemli olmadığı ($p>0.05$) bulunmuştur.

Farklı kefir kültürleri ve *S. boulardii* mayası ile üretilen kefirlerin ortalama mezofilik laktik kok sayısı depolamanın 1. gününde 8.01 log kob/g, 7. gününde 7.81 log kob/g, 14. gününde 7.63 log kob/g ve 21. gününde 7.44 log kob/g olarak belirlenmiştir. Kefir örneklerinin 21 gün depolama süresi boyunca genel ortalama mezofilik laktik kok sayısı 0.6 log azalmıştır. G2 ve GSb2 kefir örneklerinin mezofilik laktik kok sayısında 7. gün artış olurken, G1 ve E2 kefir örneklerinde 14. gün artış olmuş ve ESb2 kefir örneğinde ise 21. gün artış olduğu görülmüştür. Depolama süresi boyunca en yüksek mezofilik laktik kok sayısı 1. gün E2 kefirinde 9.15 log kob/mL olarak belirlenmiş olup en düşük mezofilik laktik kok sayısı ise 21. gün ESb1 kefirinde 6.24 log kob/mL olarak tespit edilmiştir.

Akbörü (2019), kefir danesi ve starter kültürle üretilen kefirlerin 28 gün depolanması sırasında mikrobiyal florada oluşan değişimi belirlediği çalışmasında depolama sonunda daneyle üretilen kefirin *Lactococcus* spp. sayısının 7.77 log kob/g iken ticari starter kültürle üretilen kefirin 7,68 log kob/g olduğunu belirlemiştir.

Öner vd. (2010), inek sütünden farklı kültürlerle üretilen kefir örneklerinden dane ile üretilen kefirlerin *Lactococcus* spp. sayısı ilk gün 8.18 log kob/g iken 7. günde azalarak 7.25 log kob/g olduğu ve 15. gün tekrar artarak 8.23 log kob/g olduğunu belirlemiştir. Çalışmada liyofilize kültürle üretilen kefirlerin ilk gün *Lactococcus* spp. sayısı 7.27 log kob/g iken 7. gün artarak 8.06 log kob/g olduğu ve 15. gün ise azalarak 7.56 log kob/g olduğu tespit edilmiştir.

Buran (2020) ise, inek sütünden üretilen kefirlerin *Lactococcus* spp. sayısının ilk gün 7.93 log kob/g olduğunu ve 28 günlük depolama süresi boyunca azalarak 7.35 log kob/g olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde inek sütünden üretilen kefirlerin bazı özelliklerinin incelendiği başka bir çalışmada ise kefirlerin 35 gün depolanması sırasında *Lactococcus* spp. sayısında yaklaşık 0.7 log birim azama olduğu ve ilk gün 9.23 log kob/g olan *Lactococcus* spp. sayısının 35. gün sonunda 8.55 log kob/g olduğu tespit edilmiştir (Sarica, 2019).

Güzel-Seydim vd. (2005), kefirin *Lactococcus* spp. sayısının fermentasyon başında 3.75 log kob/mL olduğunu ve 22 saatlik fermentasyon sonunda sayının 8.64 log kob/mL'ye yükseldiğini ve depolama sırasında asitliğin artmasına bağlı olarak *Lactococcus* spp. sayısının azaldığını belirtmişlerdir.

4.3.4 Maya sayısı

Kefirde maya sayısı, kefirin üretiminde kullanılan ve maya içeren starter kültürün gelişimini göstermektedir. Kefir mikrobiyotası farklı coğrafyalarda değişiklik göstermekle birlikte genellikle *Kluyveromyces*, *Torulospira*, *Saccharomyces*, *Pichia* ve *Candida* cinsi mayaları içermektedir (Güzel-Seydim ve Kök-Taş, 2019).

Farklı kefir kültürleri (geleneksel veya endüstriyel) ile *S. boulardii* mayasının birlikte kullanılmasıyla üretilen 8 farklı kefirin 4 ± 1 °C’de depolanmasının 1., 7., 14. ve 21. günlerindeki maya sayısı ortalamaları log kob/g olarak Çizelge 4.9’da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Kefir örneklerinin maya sayıları (log kob/g), ($\bar{x} \pm SD$), (n=2).

Örnekler ¹	Gün				Ortalama
	1	7	14	21	
G1	6.52±0.22	6.70±0.06	7.08±0.12	6.66±0.11	6.74±0.27 ^c
GSb1	6.75±0.25	6.55±0.15	6.51±0.01	6.18±0.31	6.50±0.31 ^b
G2	7.06±0.06	7.49±0.37	7.07±0.08	7.02±0.02	7.16±0.29 ^d
GSb2	7.36±0.32	6.72±0.06	6.85±0.23	6.73±0.05	6.92±0.35 ^c
E1	7.75±0.24	6.82±0.06	7.20±0.20	7.32±0.06	7.27±0.39 ^d
ESb1	6.92±0.12	6.88±0.04	6.76±0.01	6.63±0.05	6.80±0.14 ^c
E2	ND	ND	ND	ND	ND ^a
ESb2	6.61±0.12	6.40±0.08	6.39±0.16	6.11±0.17	6.38±0.24 ^b
Genel Ort.	7.00±0.47 ^A	6.79±0.37 ^B	6.84±0.33 ^{AB}	6.66±0.44 ^B	

1: Örnekler

G1: Geleneksel Ankara kefir kültürü

GSb1: *S. boulardii* + Geleneksel Ankara kefir kültürü

G2: Geleneksel İzmir kefir kültürü

GSb2: *S. boulardii* + Geleneksel İzmir kefir kültürü

E1: Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

ESb1: *S. boulardii* + Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

E2: Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

ESb2: *S. boulardii* + Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

$\bar{x}$: İki tekerrür ortalaması, SD: Standart sapma, n: Tekerrür sayısı, ND: Tespit edilmedi

Aynı sütundaki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (p<0.001).

Aynı satırdaki farklı büyük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (p<0.05).

Bu çalışmada kullanılan endüstriyel kefir örneklerinden biri olan E2 kefirinin üretiminde kullanılan starter kültür sadece bakterilerden oluşan ve maya içermeyen bir kültür olduğu için ESb2 kefir örneklerinden elde edilen maya sayısı doğrudan kefire eklenen *S. boulardii* maya sayısını vermektedir. Depolamanın ilk günü *S. boulardii* maya sayısı 6.61 log kob/g olarak belirlenirken 21. gün maya sayısı ise 6.38 log kob/g olarak belirlenmiştir. Depolama süresi içinde *S. boulardii* maya sayısında 0.23 log

azalma olduğu tespit edilmiştir. *S. boulardii* mayası ilave edilen kefirler ile bu mayayı içermeyen kefirlerin maya sayısı arasındaki farkın önemli ($p<0.01$) olduğu bulunmuştur. Buradaki farklılığın nedenlerinden biri olarak üretilen 8 farklı kefirin içinde E2 kefirinin maya içermemesidir. Ayrıca farklı kefir kültürleriyle üretilen kefirler ile *S. boulardii* mayasının kullanıldığı kefirlerin 4 °C’de 21 gün depolama süresi sonundaki ortalama maya sayıları karşılaştırıldığında; G1 ile GSb1 arasında 0.24 log; G2 ile GSb2 arasında 0.24 log ve E1 ile ESb1 arasında da 0.47 log azalma olduğu tespit edilmiştir. *S. boulardii* mayası kullanılan ve endüstriyel kefir danesiyle üretilen kefirlerin maya sayısındaki azalma geleneksel kefir dane kültür kullanılan kefirlerle göre iki kat daha fazla olduğu görülmektedir. Maya içermeyen E2 kefir örneği hariç *S. boulardii* mayasının ilave edildiği diğer kefir örneklerinin (GSb1, GSb2, ESb1) ortalama maya sayısı 6.74 log kob/g iken geleneksel ve endüstriyel kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin (G1, G2, E1) ortalama maya sayısı 7.06 log kob/g olarak belirlenmiştir. *S. boulardii* mayası ilave edilen kefir ile eklenmeyenler arasında 0.32 log fark olduğu görülmektedir. Burada kefirin mikrobiyotası içinde maya türleri arasında bir denge olduğu ancak depolama süresi boyunca tür bazında maya sayısının nasıl değiştiğinin moleküler tanı yöntemleri ile anlaşılacağı düşünülmektedir.

S. boulardii mayası eklenmeyen kefir örnekleri içinde en yüksek maya sayısı E1 kefirinde 7.75 log kob/g, en düşük maya sayısı G1 kefirinde 6.52 log kob/g olarak bulunmuştur. *S. boulardii* mayasının ilave edildiği kefir örnekleri içinde ise en yüksek maya sayısı GSb2 kefirinde 7.36 ± 0.32 log kob/g, en düşük maya sayısı GSb1 kefirinde 6.18 ± 0.31 log kob/g olarak bulunmuştur. Kefir örneklerinin genel ortalama maya sayısı 6.82 log kob/g olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada üretilen kefir ve analize alınan kefir örneklerinde herhangi bir küf gelişimine rastlanmamıştır.

Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği, kefirin maya sayısının en az 10^4 kob/g olması gerektiğini belirtmiştir. Bu açıdan çalışma kapsamında üretilen bütün kefir örnekleri TGK Fermente Süt Ürünleri Tebliği’ne uygunluk göstermektedir (Tebliğ No: 2022/44).

Bu çalışmada kefir örneklerinde tespit edilen ortalama maya sayısı, Güzel-Seydim vd. (2005), Ivanova (2012), Kök-Taş vd. (2013), Aşçı-Arslan (2015) değerleriyle uyumlu olup; Yıldız (2009), değerlerinden daha düşük bulunmuş ve Ender (2009), Irigoyen

vd. (2005), Öner vd. (2010), ve Şen (2015), Daştan (2015), Köse (2018), Akbörü (2019), Sarıca (2019), Akbulut-Ataman (2020) ve Buran (2020) değerlerinden ise daha yüksek çıkmıştır.

Ivanova vd. (2012), *S. boulardii* ilave edilen kefir örneklerinin maya sayısını birinci ve yedinci fermantasyon sonunda sırasıyla 5.74 log kob/g ve 5.04 log kob/g olduğunu tespit etmiştir. Çalışmada kontrol kefirin maya sayısının birinci ve yedinci fermantasyon sonunda sırasıyla 6.0 log kob/g ve 7.18 log kob/g olduğu belirtilmiştir.

Yıldız (2009), %3 yağlı inek sütüne %5 kefir danesi ile %0.5 oranında *S. cerevisiae* mayası inoküle ederek üretilen kefirin maya sayısının 23 gün depolama süresi boyunca 7.12-9.29 log kob/g arasında değiştiğini ve en yüksek maya sayısının depolamanın 10. gününde tespit edildiğini bildirmiştir.

Karaolis vd. (2013), çalışmasında yoğurt starter kültürü ve *S. boulardii* mayasının fermantasyonun başında ve aynı anda keçi sütüne inoküle edildiğinde, maya gelişiminin laktik asit fermantasyonu metabolitleri olan galaktoz, glukoz ve laktik asit oluşuncaya kadar geciktiğini tespit etmiştir.

Lourens-Hattingh ve Viljoen (2001), *S. boulardii* mayasının AB yoğurt (*Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum*), meyveli AB yoğurt, UHT yoğurt ve UHT süte eklendiği çalışmasında 5°C'de 29 gün depolanan yoğurt örneklerinde *S. boulardii* mayasının canlılığını koruduğunu ve 7-8 log kob/g düzeyinde maya sayısı olduğunu belirtmiştir. *S. boulardii* mayası sütte bulunan laktozu kullanamamasına rağmen, laktozun bakteriyel metabolizmasından elde edilen organik asitleri, galaktozu ve glukozu ve meyveli ürünlerde bulunan fruktoz ve sakarozu kullanarak gelişim göstermektedir.

Farklı kefir starter kültürlerinin maya sayısına olan etkisi istatistik olarak önemli ($p<0.001$) bulunmuştur. Yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre; G1, GSb2 ve ESb1 kefir örneklerinin maya sayısı arasında önemli ($p>0.05$) bir fark olmadığı gibi GSb1 ve ESb2 kefir örneklerinin de maya sayısı arasında önemli ($p>0.05$) bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca G2 ile E1 kefir örneklerinin maya sayısı arasında da önemli bir ($p>0.05$) fark olmadığı belirlenmiştir. Maya içermeyen E2 kültürü ile üretilen kefir örnekleri maya sayısı bakımından diğer bütün örneklerden

farklı olduğu bulunmuştur. Buna göre, kefir örneklerinin maya sayısı arasındaki farkın, kullanılan kültürün geleneksel ya da endüstriyel olmasından çok mikrobiyotası ile ilişkili olduğu anlaşılmaktadır.

Kefirlerin maya sayısındaki değişim kullanılan starter kültür çeşidine, inokülasyon oranına ve kültürün içerdiği maya sayısına bağlı olarak değişmektedir. Mayalar kefirde CO₂ oluşturdıkları için depolanan ürünün ambalajında şişmeye neden olmaktadır. Bu nedenle ticari kültürlerde bazen hiç maya kullanılmazken bezen de maya sayısı çok düşük düzeyde tutulmaktadır.

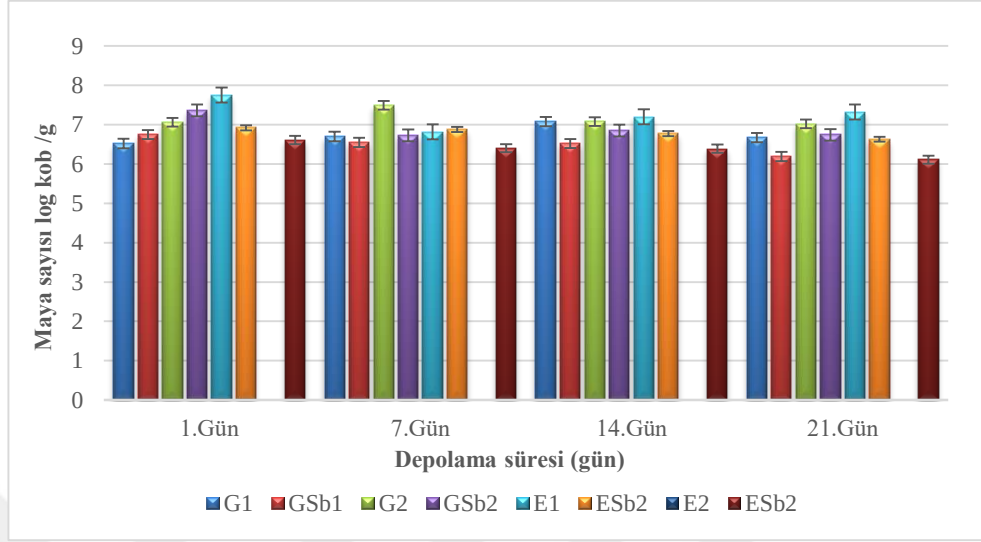
Irigoyen vd. (2005), süte kefir danesi inokülasyon oranının maya sayısını etkilediğini belirtmiştir. Çalışmasında %1 kefir danesi inoküle edilerek üretilen kefir örneklerinin maya sayısında depolamanın 14. günü ile 28. günü arasında yaklaşık 1 log azalma olurken %5 kefir danesi inoküle edilerek üretilen kefirin maya sayısında önemli bir değişim olmadığı belirlenmiştir.

Kök-Taş vd. (2013) Akdeniz Üniversitesinden temin edilen dane kefir starter kültürünün %2 oranında yağsız inek sütüne inokülasyonu ile üretilen kefirin maya sayısının 6.9 log kob/mL olduğunu belirlemiştir. Ankara Üniversitesinden temin edilen kefir starter kültürü ile üretilen kefirin maya sayısı ise 5 log kob/g olarak tespit edilmiştir.

Öner vd. (2010), çalışmalarında inek sütünden dane ile üretilen kefirlerin maya sayısının 5.1 log kob/g olarak tespit ederken liyofilize kültürle üretilen kefirlerde ise 6.5 log kob/g olduğunu belirtmiştir. Bu sonuçlardan farklı olarak Aşcı-Arslan (2015) daneden üretilen kefirin maya sayısını 6.5 log kob/g ve ticari kültürden üretilen kefirin maya sayısını da 5.0 log kob/g olarak tespit etmiştir. Başka bir çalışmada ise farklı liyofilize kültürler ile üretilen kefirlerin maya sayısının 1.9-6.46 log kob/g arasında değiştiği ve dane kültürden üretilen kefirlerin de maya sayısının 6.21 log kob/g olduğu belirtilmiştir (Akbörü, 2019).

Şen (2015), ise UHT inek sütüne farklı dane kefir kültürü inokülasyonu ile üretilen ve 21 gün depolanan kefirlerin ortalama maya sayısının 4.60-5.56 log kob/g arasında değiştiğini tespit etmiştir. Ayrıca liyofilize kültürle üretilen kefirlerde ise maya sayısının 1.33-1.83 log kob/g şeklinde çok düşük olduğunu bildirmiştir.

Farklı kefir kültürleri ve *S. boulardii* mayası ile üretilen kefirlerin maya sayısının log kob/g olarak 4 ± 1 °C’de 21 gün depolama süresince değişimi Şekil 4.7’de verilmiştir.



Şekil 4.7. Kefir örneklerinin maya sayısının (log kob/g) depolama süresince değişimi.

Grafikte de görüldüğü gibi 4 ± 1 °C’de 21 gün depolama süresi boyunca kefir örneklerinde en yüksek maya sayısı ilk günde belirlenmiş olup depolama süresince azalan maya sayısı 14. günde artış gösterdikten sonra tekrar azalmıştır. Depolama süresi boyunca kefir örneklerinin genel ortalama maya sayısının günler arasındaki farkının önemli ($p<0.001$) olduğu bulunmuştur. Yapılan duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre ortalama maya sayısının depolamanın 7. günü ile 21. günü arasındaki farklılığın önemli olmadığı ancak diğer günlerdeki maya sayısı arasındaki farkların önemli ($p<0.001$) olduğu anlaşılmıştır. Depolama süresi boyunca en yüksek maya sayısı 1. gün E1 kefirinde (7.75 log kob/g) belirlenmiş olup en düşük maya sayısı ise 21. gün ESb2 kefirinde (6.11 log kob/g) tespit edilmiştir.

Kefir örneklerinin maya sayısının 21 gün depolama süresindeki değişimi incelendiğinde, en büyük farkın GSb2 kefir örneğinde (0.63 log) olduğu görülürken bunu GSb1 kefiri (0.57 log), ESb2 kefiri (0.5 log), E1 kefiri (0.43 log) ve ESb1 kefiri (0.29 log) takip ettiği görülmüştür. Kefir örneklerinin maya sayıları arasındaki farkların 1 log bile olmayışı ve mayanın 21 gün boyunca 6-7 log kob/g canlılık göstermesi nedeniyle *S. boulardii* mayasının kefire iyi uyum sağladığı düşünülmektedir.

Irigoyen vd. (2005), kefir danesi inokülasyon oranının kefirin maya sayısını etkilediğini belirtmiş ve %1 kefir danesi inoküle edilerek üretilen kefir örneklerinin maya sayısında depolamanın 14. günü ile 28. günü arasında yaklaşık 1 log azalma olduğunu ancak %5 kefir danesi inoküle edilen kefir örneklerinde önemli bir değişim olmadığını bildirmiştir.

Bu sonuçlara benzer olarak, Akbulut-Ataman (2020), laktozlu ve laktozsuz süte farklı oranlarda çilek püresi ilave edilerek üretilen ve 21 gün depolanan kefir örneklerinden laktozlu kontrol ile meyveli olanların maya sayısının depolamanın 14. gününe kadar artış gösterdiğini ancak daha sonra azaldığını rapor etmiştir. Yıldız (2009), ise %3 yağlı inek sütünden üretilen kefirin maya sayısının depolamanın 16.gününe kadar arttığını daha sonra ise 23. günde azaldığını tespit etmiştir.

Karaolis vd. (2013), keçi sütüne *S. boulardii* mayasının fermentasyon başında veya sonunda ilave edilmesiyle üretilen farklı yoğurt örneklerinin 28 gün depolama süresi boyunca maya sayısının yaklaşık 5 log kob/g düzeyinde olduğunu ve bu değişimin istatistiksel olarak önemli olmadığını belirtmiştir. Ünver (2014), ise *S. boulardii* mayası ilave edilmiş yoğurdun maya sayısının depolamanın yedinci günü arttığını ancak sonrasında azaldığını ve bu değişimin önemli ($p<0.05$) olduğunu belirtmiştir.

Bazı çalışmalarda da kefir örneklerinde maya sayısının depolamanın ilk günlerinde düştüğü, daha sonra arttığı bildirilmiştir (Güzel-Seydim, 2005; Sarıca, 2019).

Sarıca (2019), inek sütünden üretilen kefir örneklerinin maya sayısının depolamanın ilk günü ile 21. günü arasında 1 log düzeyinde azaldığını ancak daha sonra maya sayısının artarak 35. gün sonunda ilk günkü sayıya yaklaştığını tespit etmiştir.

Bazı araştırmacılar da depolama süresi boyunca kefirin maya sayısının arttığını bildirmiştir (Ender, 2009; Aşçı-Arslan, 2015; Akbörü, 2019; Buran, 2020).

Buran (2020), ise inek sütünden elde edilen kefir örneklerinin 28 gün depolama boyunca maya sayısının 0.7 log artış gösterdiğini ve maya sayısındaki günler arasındaki bu farkın istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) olduğunu saptamıştır.

Akbörü (2019), yaptığı çalışmada endüstriyel beş farklı kefir kültürü ve dane kültür kullanılarak üretilen kefirlerin 28 gün depolama süresi içinde ortalama maya

sayısındaki artışın yaklaşık 2 log olduğunu ve sadece bir kültürün maya sayısında depolamanın yedinci günde azalma olduğunu belirtmiştir.

Öner vd. (2010), çalışmalarında inek sütünden dane ile üretilen kefirlerin maya sayısının 15 gün depolama süresi boyunca arttığını (4.7-5.3 log kob/g); liyofilize kültürden üretilen kefirlerde ise azaldığını (6.7-6.4 log kob/g) belirlemişlerdir.

Kefir mikrobiyotası içinde yer alan *Lactobacillus* spp., mezofilik laktik kok, asetik asit bakteri ve maya sayıları kullanılan starter kültür çeşidi, inokülasyon oranı, fermantasyon sıcaklığı ve depolama sıcaklığına bağlı olarak değişmektedir. Ayrıca laktik asit bakterileri mayalarla birlikte daha yavaş gelişim gösterdiği için laktik asit ve asetik asit üretim hızı da yavaşlamaktadır (Irigoyen vd. 2005).

Irigoyen vd. (2005), %1 ve %5 kefir danesi inokülasyonu ile üretilen kefirlerin 5°C'de 28 günlük depolamadan sonra bazı mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve duyuşal parametrelerindeki değişimleri incelemiştir. Buna göre, *Lactobacillus* spp., mezofilik laktik kok sayısının %1 inokülasyon ile üretilen kefirlerde daha yüksek olduğu belirlenirken maya ve asetik asit bakteri sayılarının da %5 inokülasyon ile üretilen kefirlerde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada kefir örneklerinin içerdiği maya türlerinin kendi içinde bir denge oluşturdıkları ve sayılarını genellikle 6-7 log kob/g düzeyinde tuttıkları anlaşılmıştır. Ancak kültürel sayım yöntemleri ile *S. boulardii* mayasını, kefir mikrobiyotasında bulunan diğer mayalardan ayırt etmek mümkün olmadığı için kefirde depolama boyunca *S. boulardii* gelişimini takip etmek mümkün olmamıştır. Depolama süresi içinde kefirde doğal olarak bulunan mayalar ile *S. boulardii* mayasının kendi içinde nasıl bir denge oluşturduğunu ve maya sayılarındaki değişimi belirlemek için moleküler tanımlama yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır.

4.4 Farklı Kefir Kültürleri ve *S.boulardii* ile Üretilen Kefirlerin Duyusal Analiz Sonuçları

Kefirin temel duyuşal özellikleri görünüş (kıvam, yapı, renk), tat, aroma ve lezzet kriterlerinden oluşmaktadır. Kefir üretiminde gerçekleşen fermantasyonlar sırasında oluşan organik asitler, monosakkaritler, amino asitler, yağ asitleri, CO₂ ve aroma bileşenleri kefirin duyuşal özelliklerine katkı sağlamaktadır (Koçan, 2019). Duyusal değerlendirme yeni ürün geliştirmede önemli bir göstergedir.

Farklı dört kefir kültürlerine (G1, G2, E1 ve E2) *S. boulardii* mayası ilave edilerek üretilen (GSb1, GSb2, ESb1, ESb2) 8 farklı kefirin 4 ± 1 °C’de depolanmasının 1., 7. 14. ve 21. günlerinde bazı duysal özelliklerinde meydana gelen değişimler ile bu değişimlerin istatistiksel analiz sonuçları bu bölümde incelenmiş ve değerlendirilmiştir.

Yapılan duysal analiz ile kefire *S. boulardii* mayasının ilave edilmesinin, farklı starter kültür kullanımının ve depolama süresinin kefirin duysal özelliklerine olan etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Duysal analiz, kıvam, tat ve aroma ile genel beğeni kriterlerini 5 puan üzerinden değerlendiren 10 panelist ile gerçekleştirilmiştir.

4.4.1 Kıvam puanı

Kefirde kıvamı etkileyen unsurlar sütün yağ oranı ve homojenizasyon koşulları, süte uygulanan ısıt işlemler, starter kültür tipi ve inokülasyon oranı, starter kültürdeki mikroorganizmaların asit oluşturma yetenekleri, inkübasyon sıcaklığı, fermantasyon sonlandırma pH değeri, soğutma koşulları, ürüne eklenen prebiyotik bileşenler ve son ürüne uygulanan işlemlerdir.

Farklı kefir kültürleri (geleneksel veya endüstriyel) ile *S. boulardii* mayasının birlikte kullanılmasıyla üretilen 8 farklı kefirin 4 ± 1 °C’de depolanmasının 1., 7., 14. ve 21. günlerinde kıvam puanına ilişkin sonuçlar Çizelge 4.10’da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Kefir örneklerinin kıvam puanları, ($\bar{x} \pm SD$), (n=2).

	Gün				
Örnekler ¹	1	7	14	21	Ortalama
G1	4.35±0.15	4.20±0.10	4.25±0.05	4.35±0.05	4.29±0.73 ^e
GSb1	4.40±0.00	4.30±0.10	4.35±0.15	4.05±0.15	4.28±0.86 ^e
G2	3.40±0.40	2.45±0.75	3.35±0.65	3.55±0.85	3.19±1.22 ^b
GSb2	3.75±0.25	4.05±0.15	4.20±0.20	3.70±0.30	3.93±0.84 ^d
E1	3.85±0.05	3.55±0.35	3.20±0.20	2.55±0.05	3.29±1.25 ^{bc}
ESb1	3.95±0.05	3.45±0.25	3.90±0.20	3.10±0.30	3.60±1.09 ^{bc}
E2	3.75±0.05	2.20±0.80	2.10±1.00	2.05±0.15	2.53±1.35 ^a
ESb2	3.40±0.60	2.15±0.75	1.45±0.05	2.00±0.50	2.25±1.34 ^a
Genel Ort.	3.86±0.99 ^A	3.29±1.37 ^B	3.35±1.39 ^B	3.17±1.36 ^B	

1: Örnekler

G1: Geleneksel Ankara kefir kültürü

GSb1: *S. boulardii* + Geleneksel Ankara kefir kültürü

G2: Geleneksel İzmir kefir kültürü

GSb2: *S. boulardii* + Geleneksel İzmir kefir kültürü

E1: Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

ESb1: *S. boulardii* + Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

E2: Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

ESb2: *S. boulardii* + Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

$\bar{x}$: İki tekerrür ortalaması, SD: Standart sapma, n: Tekerrür sayısı

Aynı sütundaki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (p<0.001).

Aynı satırdaki farklı büyük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (p<0.001).

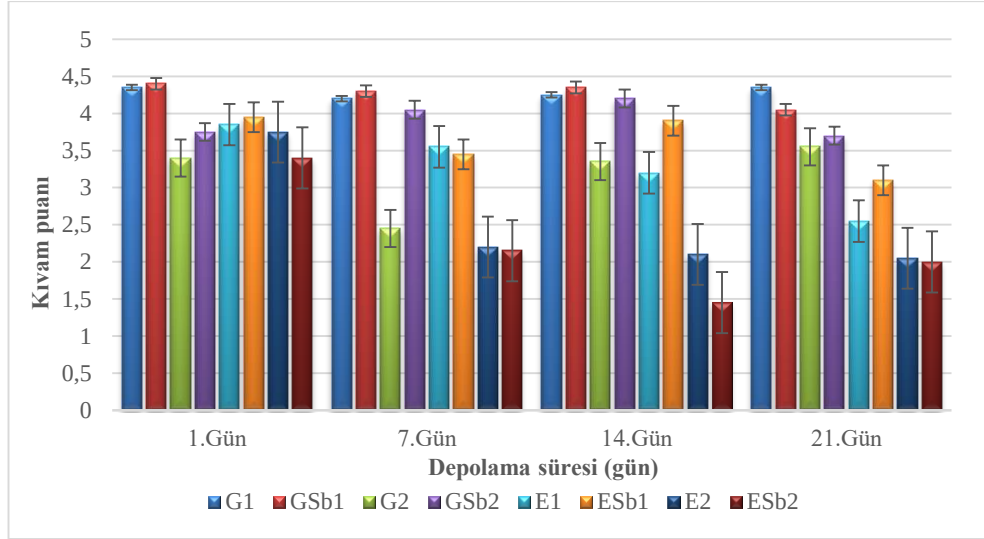
S. boulardii içeren kefirlerin kıvam puanı ortalaması ile bu mayayı içermeyen kefir örneklerinin kıvam puanı ortalaması arasındaki farkın önemsiz (p>0.05) olduğu bulunmuştur. *S. boulardii* mayasının ilave edildiği kefir örneklerinin (GSb1, GSb2, ESb1 ve ESb2) kıvam puanı ortalaması (3.51), geleneksel veya endüstriyel kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin (G1, G2, E1 ve E2) kıvam puanı ortalamasından (3.32) daha yüksek çıkmıştır. Kefir örnekleri içinde en yüksek kıvam puanını G1 ve GSb1 kefir örnekleri (4.3) almış olup en düşük kıvam puanını ise ESb2 kefir örneği (2.25) almıştır. G2 kefir örneğinin kıvam puanı ortalaması 3.2 iken aynı kültüre *S. boulardii* mayası ilave edildiğinde GSb2 kefir örneğinin kıvam puanı ortalamasının 3.9 olarak arttığı görülmüştür.

Yıldız (2009), %3 yağlı inek sütüne %5 kefir danesi ile %0.5 oranında *S. cerevisiae* mayası inoküle edilerek üretilen kefirin duyusal değerlendirmesinde kıvam puanlarının 23 gün depolama süresi boyunca azaldığını ve farklı kültürlerle üretilen 15 kefir örneği arasında kıvamı en çok beğenilen 3. kefir olduğunu belirtmiştir. Bu çalışmada en çok %5 (m/v) kefir danesi ve %5 probiyotik kültür (La5 ve Bb12) ile üretilen kefirin kıvamı beğenilmiştir.

Farklı kefir starter kültürlerinin kıvam puanı ortalamasına olan etkisi istatistik olarak önemli ($p<0.001$) bulunmuştur. Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre, G1 ile GSb1 kefir örneklerinin kıvam puanı ortalaması arasındaki farkın önemli ($p>0.05$) olmadığı gibi E1 ile ESb1 ve E2 ile ESb2 kefirleri arasındaki farkın da önemli ($p>0.05$) olmadığı ancak diğer bütün kefirler arasındaki farkın önemli ($p<0.001$) olduğu belirlenmiştir. Kefir örnekleri içinde en çok G1 ve GSb1 kefirinin kıvamı beğenilmiş olup bunu GSb2 ve ESb1 takip etmiştir. Panelistler E2 ve ESb2 kefir örneklerinin kıvamını yoğun bulmuş olup en düşük kıvam puanlarını bu örnekler almıştır. Geleneksel kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin (G1, GSb1 ve G2, GSb2) kıvam puanı ortalaması (3.9), endüstriyel kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin (E1, ESb1 ve E2, ESb2) kıvam puanı ortalamasından (2.9) daha yüksek çıkmıştır. Duyusal analizler sırasında E2 starter kültürü ile üretilen kefirlerin geç fermente olduğu ve yoğun kıvamı nedeniyle düşük puan aldığı görülmüştür. Bu sonuçlar kefir örneklerinin kıvam puanları arasındaki farkın kefir kültürünün mikrobiyaya değişikliği ile açıklanabileceğini göstermektedir.

Kefir üretiminde kullanılan kültüre göre kefirin kıvam puanı değişmektedir. Farklı kültürlerle inek sütünden üretilen ve 28 gün depolanan kefirlerin kıvam özelliklerinin incelendiği bir çalışmada ticari kültürler ile üretilen kefirlerin kıvam puan ortalaması 4.0-4.53 arasında değişirken dane kültür ile üretilenlerde ise 4.15 olduğu belirlenmiştir (Akbörü, 2019). Başka bir çalışmada ise, dane ile inek sütünden üretilen ve 10 puan üzerinden değerlendirilen kefirlerin kıvam puan ortalaması 5.74 olduğu ve ticari kültürle üretilen kefirlerde bu sayının 7.42 olduğu belirtilmiştir (Ender, 2009).

Farklı kefir kültürleri ve *S. boulardii* mayası ile üretilen kefirlerin kıvam puanlarının 4 ± 1 °C'de 21 gün depolama süresince değişimi Şekil 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.8. Kefir örneklerinin kıvam puanının depolama süresince değişimi.

Grafikten izlenebileceği üzere, farklı kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin kıvam puanı depolama süresince azalmıştır. Farklı kefir kültürleri ve *S. boulardii* mayasının ilave edilmesiyle üretilen sekiz farklı kefir örneğinin 21 gün depolama süresi boyunca kıvam puanı ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.001$) bulunmuştur. Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre, depolamanın 1. günündeki kefirlerin kıvam puanı ortalaması diğer günlere göre daha yüksek bulunmuştur. Depolamanın 7., 14. ve 21. günlerindeki kefirlerin kıvam puanı ortalaması arasındaki farkın önemli olmadığı ($p > 0.05$) belirlenmiştir. Depolama süresi içinde en çok birinci gün kefir örneklerinin kıvamı beğenilmiş olup bunu 14. gün kefir örnekleri takip etmiştir.

Sonuçlarla uyumlu olarak, Akbörü (2019), farklı kültürlerle inek sütünden üretilen ve 28 gün depolanan kefirlerin kıvam puanının depolamanın 14. gününe kadar düştüğünü, sonra artış gösterdiğini ancak 28.gün tekrar düştüğünü bildirmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen viskozite değerlerindeki düşüş ile kıvam puanının da düştüğü tespit edilmiştir.

Irigoyen vd. (2005), çalışmasında depolamanın ikinci gününde %1 dane starter kültür ile üretilen kefirin viskozitesinin %5 dane ile üretilene göre daha yüksek olduğunu tespit etmiştir. Ancak depolamanın 14. gününe kadar geçen sürede %5 daneden üretilen kefirlerin viskozite değerlerinin %1 kefir danesinden üretilene göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

4.4.2 Tat ve aroma puanı

Kefirin eşsiz tat ve aroması, içerdiği bakteri ve maya arasındaki simbiyotik ilişkinin bir sonucudur. Tat ve aroma oluşumunda bakteri ile maya arasındaki denge önemlidir. Laktik asit bakterilerinin olması gerekenden fazla olması kefirin daha ekşimsi olmasına neden olurken maya sayısının artması ise kefirde gaz oluşumunun artmasına ve istenmeyen yabancı koku ile yakıcı bir tadın ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

Farklı kefir kültürleri (geleneksel veya endüstriyel) ile *S. boulardii* mayasının birlikte kullanılmasıyla üretilen 8 farklı kefirin 4±1 °C’de depolanmasının 1., 7., 14. ve 21. günlerindeki tat ve aroma puanı ortalaması Çizelge 4.11’de verilmiştir.

Çizelge 4.11. Kefir örneklerinin tat ve aroma puanları, ($\bar{x} \pm SD$), (n=2).

	Gün				
Örnekler ¹	1	7	14	21	Ortalama
G1	4.05±0.25	3.80±0.20	3.65±0.35	3.80±0.20	3.83±0.87 ^d
GSb1	4.30±0.30	4.20±0.20	4.30±0.20	4.00±0.50	4.20±0.95 ^e
G2	3.00±0.40	2.65±0.45	3.05±0.65	3.15±0.85	2.96±1.85 ^{bc}
GSb2	3.45±0.15	3.50±0.10	4.05±0.25	3.45±0.55	3.61±1.00 ^d
E1	3.15±0.25	3.00±0.45	2.90±0.65	2.20±0.85	2.81±1.10 ^{bc}
ESb1	3.60±0.10	2.60±0.20	2.40±0.10	2.05±0.10	3.14±1.08 ^c
E2	3.60±0.10	2.60±0.60	2.40±0.80	2.05±0.05	2.66±1.41 ^{ab}
ESb2	3.35±0.35	2.30±0.50	1.85±0.05	2.15±0.25	2.41±1.21 ^a
Genel Ort.	3.55±1.07 ^A	3.15±1.23 ^B	3.16±1.27 ^B	2.95±1.28 ^B	

1: Örnekler

G1: Geleneksel Ankara kefir kültürü

GSb1: *S. boulardii* + Geleneksel Ankara kefir kültürü

G2: Geleneksel İzmir kefir kültürü

GSb2: *S. boulardii* + Geleneksel İzmir kefir kültürü

E1: Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

ESb1: *S. boulardii* + Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

E2: Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

ESb2: *S. boulardii* + Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

$\bar{x}$: İki tekerrür ortalaması, SD: Standart sapma, n: Tekerrür sayısı

Aynı sütundaki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (p<0.001).

Aynı satırdaki farklı büyük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (p<0.001).

S. boulardii içeren kefirlerin tat ve aroma puanı ortalaması ile bu mayayı içermeyen kefir örneklerinin tat ve aroma puanı ortalamaları arasındaki farkın önemli (p<0.05) olduğu bulunmuştur. *S. boulardii* mayasının ilave edildiği kefir örneklerinin (GSb1, GSb2, ESb1 ve ESb2) tat ve aroma puanı ortalaması (3.34), geleneksel veya endüstriyel kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin (G1, G2, E1 ve E2) tat ve

aroma ortalamasından (3.06) daha yüksek çıkmıştır. Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre E2 kefir örneği hariç *S. boulardii* mayası ilave edilen kefirlerin (GSb1, GSb2 ve ESb1) tat ve aroma puanlarının bu mayayı içermeyen kefiirlere (G1, G2 ve E1) göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Tat ve aroma bakımından *S. boulardii* mayası ilave edilen kefirlerin daha yüksek puan alması *S. boulardii* mayasının kefire iyi uyum sağladığının ve yabancı tat ve aroma oluşturmadığının bir göstergesidir. Yapılan duyusal analizler sonucunda *S. boulardii* içeren kefirlerin diğer kefiirlere göre tadının daha yumuşak ve içiminin daha kolay olduğu görülmüştür. Bu durum özellikle kefir içmekte zorlanan bireyler için umut vericidir.

Ivanova vd. (2012), *S. boulardii* içeren kefirin fermantasyon sonrası devam eden aromatik bileşiklerin sentezinden *Streptococcus thermophilus* gibi aromatik kültürlerin sorumlu olduğunu ve *S. boulardii* içeren kefirin daha lezzetli olduğunu bildirmiştir.

Yıldız (2009), çalışmasında %3 yağlı inek sütünden *S. cerevisiae* mayasının %0.5 oranında kullanıldığı ve %5 kefir danesi kullanılarak üretilen kefirlerin 23 gün depolama süresi boyunca tat ve aroma puanlarının diğer kefiirlere göre daha yüksek bulunduğunu ve probiyotik kültür (La5 ve Bb12) ile üretilen kefir ile aynı puanı alarak en çok beğenilen kefir olduğunu tespit etmiştir.

Hadjimbei vd. (2020), keçi sütünden yapılmış *S. boulardii* mayası ve *Pistacia atlantica* fıstık türü içeren yoğurt örneklerinin kontrol yoğurt ve fıstık türünün diğer formları (asidik ve nötral) kullanılan yoğurtlara göre organoleptik özelliklerinin daha iyi olduğunu ve panelistler tarafından tercih edildiğini bildirmiştir. Ayrıca *S. boulardii* mayası içeren yoğurtlarda keçi sütünden gelen kokunun daha az hissedildiği tespit edilmiştir. Çalışmada, *S. boulardii* mayası içeren yoğurtlar, hoş tat ve aroması ile asitliğin hissedilmesi nedeniyle tercih edilmiş olup panelistlerin bu yoğurdu daha saf ve geleneksel bulduğunu bildirmiştir.

Farklı kefir starter kültürlerinin tat ve aroma puanı ortalamasına olan etkisi istatistik olarak önemli ($p<0.001$) bulunmuştur. Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre, G1 ile GSb2 kefir örneklerinin tat ve aroma puanı ortalaması arasındaki farkın önemli ($p>0.05$) olmadığı gibi G2 ile E1 kefirleri arasındaki farkın da önemli ($p>0.05$) olmadığı ancak diğer bütün kefirler arasındaki farkın önemli ($p<0.001$) olduğu

belirlenmiştir. Kefir örnekleri içinde en çok GSb1 kefirinin (4.2) tat ve aroması beğenilmiş olup bunu G1 (3.8) ve GSb2 (3.6) kefir örnekleri takip etmiştir. Kefir örnekleri içinde tat ve aroma puanları en düşük olanlar ise E2 (2.7) ve ESb2 (2.4) kefir örnekleridir. Panelistler E2 kefir örneğinde depolamanın ilk günlerinde yetersiz tat ve 21. gün duyuşal değerlendirmesinde ise acı tat algılamıştır. Ayrıca depolama boyunca duyuşal değerlendirmede E1 ve ESb1 kefir örneklerinde hayvansal koku algılandığı belirtilmiştir. Geleneksel kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin (G1, GSb1 ve G2, GSb2) tat ve aroma puanı ortalaması (3.65), endüstriyel kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin (E1, ESb1 ve E2, ESb2) tat ve aroma puanı ortalamasından (2.76) daha yüksek çıkmıştır.

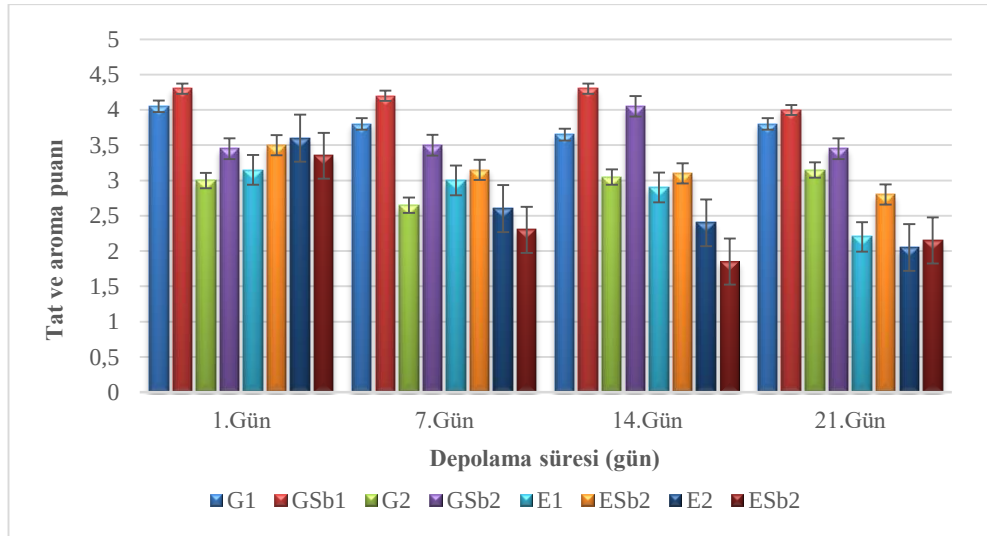
Bu sonuçlarla uyumlu olarak Ender (2009), dane ile inek sütünden üretilen ve 10 puan üzerinden değerlendirilen kefirlerin tat ve aroma puan ortalamasının 6.84 olduğunu ve ticari kültürle üretilen kefirlerde ise bu sayının 5.03 olduğunu bildirmiştir.

Duran (2020), kefirde bulunan bazı bakterilerin süte inokülasyonu ve dane ile liyofilize kültürden üretilen kefirlerin aroma bileşenlerini belirlediği çalışmasında, kefir mikrobiyotasının sinerjik etkilerinden dolayı tek suş ile üretilen kefirler ile dane ya da liyofilize karışık kültürden üretilen kefirlerin aroma bileşenlerinin farklı olduğunu tespit etmiştir.

Yıldız (2009), farklı mikroorganizmalar içeren kültür ve kefir danesinden üretilen kefirlerin tat ve aroma puanlarının kültüre göre değişkenlik gösterdiğini ve geleneksel yöntemle üretilen kefir örneklerinin tat ve aroma açısından yavan bulunduğunu bildirmiştir.

Irigoyen vd. (2005), çalışmasında on dört gün depolama süresi boyunca %1 dane starter kültür ile üretilen kefirin tat ve aroma yoğunluğunun %5 dane ile üretilene göre daha yüksek olduğunu tespit etmiştir.

Farklı kefir kültürleri ve *S. boulardii* mayası ile üretilen kefirlerin tat ve aroma puanının 4 ± 1 °C’de 21 gün depolama süresince değişimi Şekil 4.9’da verilmiştir.



Şekil 4.9. Kefir örneklerinin tat ve aroma puanının depolama süresince değişimi.

Farklı kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin en yüksek ortalama tat ve aroma puanı depolamanın 1. gününde elde edilirken en düşük ortalama tat ve aroma puanı depolamanın 21. gününde elde edilmiştir. Farklı kefir kültürleri ve *S. boulardii* mayasının ilave edilmesiyle üretilen sekiz farklı kefir örneğinin 21 gün depolama süresi boyunca ortalama tat ve aroma puanları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p < 0.001$) bulunmuştur. Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre, depolamanın birinci günü ile diğer günler arasında kefirlerin tat ve aroma puanları farkının önemli ($p < 0.001$) olduğu ancak 7., 14. ve 21. günlerindeki kefirlerin tat ve aroma puanları arasındaki farkın önemli ($p > 0.05$) olmadığı belirlenmiştir. Depolamanın 1. günündeki kefirlerin tat ve aroması diğer günlere göre daha çok beğenilmiştir. En yüksek tat ve aroma puanı depolamanın 1. ve 14. gününde GSb1 örneğinde 4.3 olarak tespit edilmiştir. En düşük tat ve aroma puanı ise depolamanın 14. gününde ESb2 kefir örneğine aittir. Genel olarak geleneksel kefir danesi ile üretilen kefirlerin tat ve aroma puan değerleri (3.65) daha yüksek olup depolama süresi boyunca 14. günde artış göstermiştir. Endüstriyel kefir kültürü ile üretilen kefirlerin ise tat ve aroma puan değerleri (2.75) daha düşük olup depolama süresi boyunca azalmıştır. Depolama süresince kefir mikrobiyotasında meydana gelen değişimler ile ilişkili olarak tat ve aroma bileşenlerinin sentezlendiği biyokimyasal reaksiyonlarda da değişimler oluşmaktadır.

Bu sonuçlarla uyumlu olarak Ender (2009), dane ve liyofilize kültür ile inek sütünden üretilen kefirlerin tat ve aroma puan ortalamasının depolamanın ilk günü en yüksek değerinde olduğunu ve daha sonra azaldığını belirtmiştir.

Irigoyen vd. (2005), çalışmasında on dört gün depolama süresi boyunca %1 ve %5 dane starter kültür ile üretilen kefirin tat ve aroma yoğunluğunun en iyi depolamanın 2. gününde olduğunu tespit etmiştir. Çalışmada on dört gün depolama süresi boyunca kefirin aromatik bileşiklerinde artış olduğu ancak aynı zamanda asitliğin de geliştiği ve bunun sonucunda acılık, ekşi tat ve fermente koku gibi istenmeyen özelliklerin oluştuğu bildirilmiştir. Ayrıca çalışmada %1 dane kültür ile üretilen kefirin en iyi kabul edilebilir düzeyi depolamanın 2. gününde tespit edilirken %5 dane kültürde ise depolamanın birinci gününde tespit edilmiştir. Ayrıca 14 gün depolama süresi boyunca kefirin kabul edilme düzeyi azalmıştır.

Akbörü (2019), farklı kültürlerle inek sütünden üretilen ve 28 gün depolanan kefirlerin en yüksek tat ve aroma puanının depolamanın 7. gününde alındığını ve sonrasında puanların düştüğünü tespit etmiştir.

Yıldız (2009), farklı kefir kültürleri ile üretilen kefirlerin tat ve aroma puanlarının 23 gün depolama süresi boyunca düştüğünü ve bu farkın önemli ($p<0.01$) olduğunu belirtmiştir. Benzer şekilde Demir (2011), kontrol kefir örneğinin tat ve aroma puanlarının 20 gün depolama süresi boyunca düştüğünü belirlemiştir.

Ünver (2014), *S. boulardii* mayası ve yoğurt kültürü kullanılarak üretilen yoğurt örneklerinin koku, asitlik ve ekşilik kriterlerinde depolamanın 14. gününe kadar yüksek puanlar aldığını ancak 7. günden itibaren algılanan yabancı tat ve koku nedeniyle genel beğeni puanlarının düştüğünü bildirmiştir.

4.4.3 Genel beğeni puanı

Kefirlerin duysal özellikleri genel beğeni olarak değerlendirildiğinde panelistler, ürünlerin kıvam, tat ve aroma parametrelerini göz önünde bulundurarak, kişisel tercihleri doğrultusunda hangi ürünü tüketmeyi tercih edeceklerine ilişkin puanlama yapmışlardır.

Farklı kefir kültürleri (geleneksel veya endüstriyel) ile *S. boulardii* mayasının birlikte kullanılmasıyla üretilen 8 farklı kefirin 4±1 °C’de depolanmasının 1., 7., 14. ve 21. günlerindeki genel beğeni puan ortalaması Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Kefir örneklerinin genel beğeni puanları, ($\bar{x} \pm SD$), (n=2).

Örnekler ¹	Gün				Ortalama
	1	7	14	21	
G1	4.20±0.20	4.00±0.20	3.90±0.20	4.05±0.05	4.03±0.75 ^e
GSb1	4.35±0.15	4.20±0.20	4.30±0.20	4.15±0.35	4.25±0.85 ^e
G2	3.05±0.45	2.40±0.60	3.10±0.60	3.45±0.75	3.00±1.01 ^b
GSb2	3.45±0.25	3.50±0.20	4.05±0.05	3.50±0.40	3.63±0.83 ^d
E1	3.40±0.10	3.15±0.15	2.70±0.10	2.25±0.25	2.88±1.15 ^b
ESb1	3.70±0.00	3.25±0.05	3.15±0.25	2.75±0.25	3.21±1.04 ^c
E2	3.80±0.20	2.30±0.80	2.15±0.95	1.85±0.15	2.53±1.42 ^a
ESb2	3.30±0.40	2.10±0.70	1.70±0.20	2.00±0.40	2.28±1.29 ^a
Genel Ort.	3.66±1.03 ^A	3.11±1.23 ^B	3.13±1.31 ^B	3.00±1.30 ^B	

1: Örnekler

G1: Geleneksel Ankara kefir kültürü

GSb1: *S. boulardii* + Geleneksel Ankara kefir kültürü

G2: Geleneksel İzmir kefir kültürü

GSb2: *S. boulardii* + Geleneksel İzmir kefir kültürü

E1: Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

ESb1: *S. boulardii* + Endüstriyel Büyüdanem kefir kültürü

E2: Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

ESb2: *S. boulardii* + Endüstriyel Doğadan kefir kültürü

$\bar{x}$: İki tekerrür ortalaması, SD: Standart sapma, n: Tekerrür sayısı

Aynı sütundaki farklı küçük harfler örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (p<0.001).

Aynı satırdaki farklı büyük harfler depolama günleri arasındaki farklılığın önemli olduğunu ifade etmektedir (p<0.001).

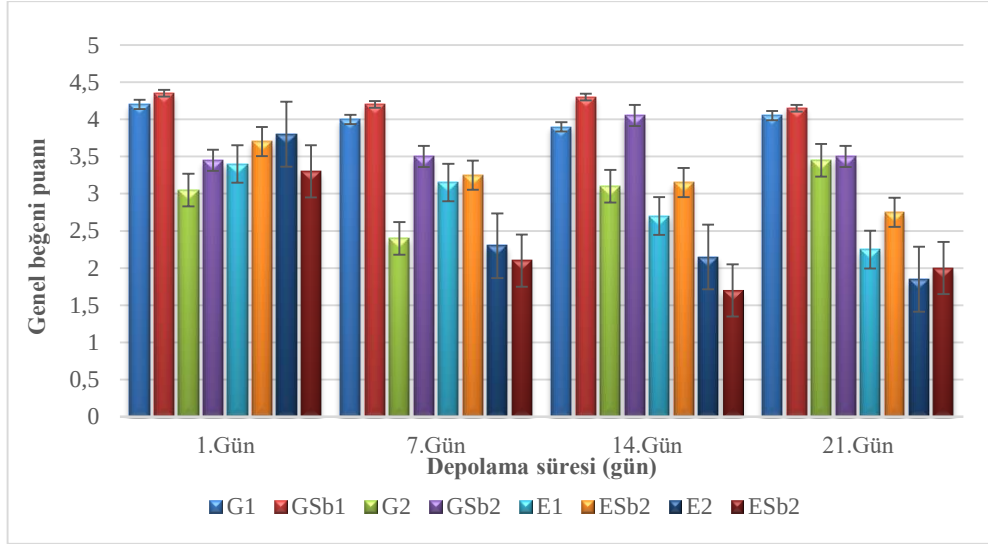
S. boulardii mayasının kefirlerin genel beğeni puanı ortalamasına etkisinin önemsiz (p>0.05) olduğu bulunmuştur. *S. boulardii* mayasının ilave edildiği kefir örneklerinin (GSb1, GSb2, ESb1 ve ESb2) genel beğeni puanı ortalaması (3.34), geleneksel veya endüstriyel kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin (G1, G2, E1 ve E2) genel beğeni puanı ortalamasından (3.11) daha yüksek çıkmıştır.

Kefir örnekleri içinde en yüksek ortalama genel beğeni puanını GSb1 kefir örneği (4.25) almış olup bunu G1 (4.03) ve GSb2 (3,63) takip etmiştir. Duyusal değerlendirmede en düşük ortalama genel beğeni puanını ise E2 (2.53) ve ESb2 kefir örneği (2.28) almıştır. E2 örneği hariç diğer bütün kefir örneklerinde *S. boulardii* eklenen kefirlerin genel beğeni puanının arttığı belirlenmiştir. Bu nedenle *S. boulardii* mayası kefirin genel beğeni özelliklerini artırmış ve kefirin içilebilir olma durumunu olumlu yönde etkilemiştir.

Genel olarak duyusal değerlendirme sonucuna göre, *S. boulardii* mayası kefirin kıvam, tat ve aroma özelliklerini geliştirmiş ve kefire çok iyi uyum sağlamıştır. Ayrıca bu maya kefirde yumuşak bir tat oluşumu ile içimi daha kolay bir ürün elde edilmesini sağlamıştır. Bu nedenle *S. boulardii* içeren kefir, günlük hayatta kefir içemeyen kişiler tarafından bile sevilerek içilebileceği kanısına varılmıştır.

Farklı kefir starter kültürlerinin genel beğeni puanı ortalamasına olan etkisinin önemli ($p<0.001$) olduğu bulunmuştur. Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre, G1 ile GSb1 kefir örneklerinin genel beğeni puanı ortalaması arasındaki farkın önemli ($p>0.05$) olmadığı gibi E2 ile ESb2 ve G2 ile E1 kefirleri arasındaki farkın da önemli ($p>0.05$) olmadığı diğer bütün kefirler arasındaki farkın önemli ($p<0.001$) olduğu belirlenmiştir. Geleneksel kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin (G1, GSb1 ve G2, GSb2) genel değerlendirme puan ortalaması (3.73), endüstriyel kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin (E1, ESb1 ve E2, ESb2) genel değerlendirme puanı ortalamasından (2.72) daha yüksek çıkmıştır.

Farklı kefir kültürleri ve *S. boulardii* mayası ile üretilen kefirlerin genel beğeni puan değerlerinin 4 ± 1 °C’de 21 gün depolama süresince değişimi Şekil 4.10’da verilmiştir.



Şekil 4.10. Kefir örneklerinin genel beğeni puanının depolama süresince değişimi.

Grafikten izlenebileceği üzere, farklı kefir kültürleriyle üretilen kefir örneklerinin en yüksek genel beğeni puanı ortalama değerleri depolamanın 1. gününde elde edilirken en düşük ortalama genel beğeni puanı depolamanın 21. gününde elde edilmiştir. Farklı kefir kültürleri ve *S. boulardii* mayasının ilave edilmesiyle üretilen sekiz farklı kefir örneğinin 21 gün depolama süresi boyunca ortalama genel beğeni puanları arasındaki farkın önemli ($p < 0.001$) olduğu bulunmuştur. Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre sadece depolamanın birinci günü ile diğer günler arasında kefirlerin genel beğeni puanları arasındaki farkın önemli ($p < 0.001$) olduğu belirlenmiştir. Depolamanın 1. günündeki kefirler genel olarak daha çok beğenilmiştir. En yüksek genel beğeni puanı depolamanın 1. gününde GSb1 örneğinde 4.35 olarak tespit edilmiştir. En düşük genel beğeni puanı ise depolamanın 14. gününde ESb2 kefir örneğinde 1.70 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada depolamanın son gününe kadar bütün kefir örneklerinin tüketime uygun olduğu görülmüştür.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma kapsamında UHT inek sütüne iki farklı geleneksel kefir danesi (AnkaraG1 ve İzmirG2) ve iki farklı endüstriyel kefir starter kültürü (BüyüdanemE1 ve Doğadan BizimE2) ile *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 (Reflor) probiyotik mayası (GSb1, GSb2, ESb1, ESb2) inoküle edilerek sekiz farklı kefir üretilmiştir. Bu kefirler 4 ± 1 °C'de 21 gün süresince depolanmış ve depolamanın 1., 7., 14., ve 21. günlerinde kefir örneklerinin bazı kimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal özellikleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre;

Toplam kuru madde içeriği bakımından sadece farklı kefir kültürü kullanımının etkisi önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Endüstriyel kefir kültürü olan Doğadan kültürü ile üretilen kefirlerin genel ortalama kuru madde miktarı (%10.82), diğer kültürlerle üretilen kefirlerin genel ortalama kuru madde miktarından; Ankara (%10.52), Büyüdanem (%10.42) ve İzmir (%10.28) daha yüksek çıkmıştır. Kefir örneklerinin ortalama kuru madde miktarları arasındaki farkın kültürün geleneksel ya da endüstriyel olmasından çok kefir mikrobiyota farkıyla ilgili olduğu anlaşılmıştır. Starter kültürdeki mikroorganizmalar fermantasyon sırasında laktik asit, su, etil alkol, karbondioksit gibi metabolitler oluşturarak ürünün kuru madde miktarının değişimine neden olmaktadır. Kefir örnekleri içinde E2 örneği hariç kefir üretiminde *S. boulardii* mayası kullanımının genel ortalama toplam kuru madde içeriğini artırdığı ancak bu etkinin önemli ($p>0.05$) olmadığı anlaşılmıştır. Depolama süresi boyunca kefir örneklerinin toplam kuru madde (%) miktarındaki değişimin de önemli ($p>0.05$) olmadığı belirlenmiştir.

Titrasyon asitliği bakımından kefirler incelendiğinde, *S. boulardii* kullanımının önemli ($p>0.05$) bir etkisi olmadığı ancak farklı kefir kültürü kullanımının önemli ($p<0.01$) etkisi olduğu bulunmuştur. Ankara kültürü (G1, GSb1) ve Doğadan kültürü (E2, ESb2) ile üretilen kefirlerin ortalama titrasyon asitliği (0.88 g/100 g laktik asit), olup Büyüdanem kültürü (E1, ESb1) (0.81 g/100 g laktik asit) ve İzmir kültürü (G2, GSb2) (0.77 g/100 g laktik asit) titrasyon asitliğinden daha yüksek çıkmıştır. Farklı kültürden üretilen kefirlerin titrasyon asitliği incelendiğinde G1, GSb1, E2 ve ESb2 kefir örneklerinin titrasyon asitliğinin diğer kefirlerden yüksek olması aynı kefirlerin *Lactobacillus* spp., mezofilik laktik kok sayılarının daha yüksek ve maya sayılarının da daha düşük olmasıyla açıklanmıştır. Kefir mikrobiyotasında bulunan bakteri ve

mayaların farklı çeşit ve düzeyde organik asitler üretmesi ya da mayaların laktik asidi metabolize etmesi sonucunda kefirin titrasyon asitliği miktarı da değişmektedir. Kefirin 4 ± 1 °C'de 21 gün süre boyunca depolanması aşamasında fermentasyon düşük hızda da olsa devam etmiş ve asitliğin artmasına sebep olmuştur. Bu çalışmada üretilen kefir örneklerinin genel ortalama titrasyon asitliği değeri, TKG Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde belirtilmiş olan ağırlıkça en az %0.6 laktik asit kriterine uygun olduğu görülmektedir (Tebliğ No: 2022/44).

pH değeri bakımından sonuçlar incelendiğinde, kefirde *S. boulardii* kullanımı ve kefirin 21 gün depolanmasının pH değerine olan etkisinin önemli ($p>0.05$) olmadığı ancak farklı kefir kültürü kullanımının pH değerine olan etkisinin önemli ($p<0.001$) olduğu bulunmuştur. Kefir örneklerinin pH değerleri 4.31-4.67 arasında değişmiştir. Farklı kefir kültürünün pH değerine olan etkisi titrasyon asitliği ile uyumlu bir şekilde gerçekleşmiştir. pH değerinin değişimi kültürün içerdiği bakteri ile maya tür ve suş çeşitliliğinden kaynaklanmaktadır. Fermente ürünlerde mayaların organik asitleri substrat olarak kullanması nedeniyle mikroorganizmalar tarafından organik asitler oluşturulsa bile pH değişmeyebilmektedir.

Kefir üretiminde standardize edilmiş %3 yağlı UHT inek sütü kullanılmış olup kefir örneklerinin ortalama yağ miktarı %3.00 (m/m) olarak belirlenmiş ve depolama süresi boyunca değişmediği tespit edilmiştir. Kefir örneklerinde depolamanın 21. gününde belirlenen kül miktarı %0.55-0.61 (m/m) arasında değişmiş olup benzer çalışmalarla uyum göstermektedir.

Bu çalışmada üretilen kefir örneklerinde tespit edilen ortalama TMAB sayısı 8 log kob/g olup *S. boulardii* kullanımının ve kefirin 21 gün depolanmasının TMAB sayısına olan etkisinin önemli ($p>0.05$) olmadığı ancak farklı kefir kültürü kullanımının TMAB sayısına olan etkisinin önemli ($p<0.001$) olduğu belirlenmiştir. TMAB sayısı bakımından G1, GSb1 ile E2 kefir örnekleri ile diğer kefir örnekleri arasında yaklaşık 1 log fark olduğu belirlenmiştir. Kefirin mikrobiyal metabolizması içinde laktik asit bakterileri, asetik asit bakterileri ve maya gibi çok farklı mikroorganizmalar olduğu bilinmektedir. Bu mikrobiyota kendi içinde simbiyotik ilişki içinde olup oluşturdıkları metabolitler ile TMAB, *Lactobacillus* spp., mezofilik laktik kok, ya da maya sayısını etkilemektedir.

Lactobacillus spp. sayısı bakımından sonuçlar incelendiğinde, kefirde *S. boulardii* kullanımının ($p<0.01$), farklı kefir kültürü kullanımının ($p<0.001$) ve kefirin 21 gün depolanmasının etkisinin önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Kefir örneklerinin genel ortalama *Lactobacillus* spp. sayısı 7.98 log kob/g olarak belirlenmiştir. Bütün kefir örneklerinin *Lactobacillus* spp. sayısı incelendiğinde *S. boulardii* mayası ilave edilen kefirler ile bu mayayı içermeyen kefirler arasındaki farkın yaklaşık 0.5 log düzeyinde olduğu anlaşılmıştır. Kefir üretiminde kullanılan kefir kültürlerine göre *Lactobacillus* spp. sayısı incelendiğinde; G1 ile GSb1 kefirlerinin arasındaki farkın 0.18 log; G2 ile GSb2 kefirlerinde 0.33 log; E1 ile ESb1 kefirlerinde 0.86 log ve E2 ile ESb2 kefirlerinde ise 0.8 log olduğu tespit edilmiştir. Buradan da anlaşılabileceği gibi geleneksel kefir danesi ile üretilen kefirlerde *S. boulardii* mayası kullanımının *Lactobacillus* spp. sayısına olan etkisinin çok az olduğu ancak endüstriyel kefir kültürlerinde ise bu farkın artarak üç katına çıktığı görülmektedir. *Lactobacillus* spp. sayısı bakımından *S. boulardii* mayasının geleneksel kefir dane mikrobiyotasına daha iyi uyum sağladığı anlaşılmıştır. Bu değişimin endüstriyel kültür mikrobiyotası ile ilgili olarak başlangıç *Lactobacillus* spp. sayısının düşük olması ve laktik asit bakterisi ile maya arasındaki dengeyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. En yüksek *Lactobacillus* spp. sayısı, depolamanın ilk günü alınmış olup sayı 21 gün depolama süresi boyunca azalarak 7. 64 log kob/g değerine ulaşmıştır.

Bu çalışmada kefir örneklerinin genel ortalama mezofilik laktik kok sayısı 7.72 log kob/g olarak belirlenmiş olup *S. boulardii* kullanımının ve kefirin 21 gün depolanmasının mezofilik laktik kok sayısına olan etkisinin önemli ($p>0.05$) olmadığı ancak farklı kefir kültürü kullanımının mezofilik laktik kok sayısına olan etkisinin önemli ($p<0.001$) olduğu belirlenmiştir. Mezofilik laktik kok sayısı bakımından G1, GSb1 ile E2 ve ESb2 kefir örnekleri ile diğer kefir örnekleri arasında yaklaşık 1.5 log fark olduğu belirlenmiştir. Kefir fermantasyonunun ilk 24. saatinde kültürdeki mezofilik laktik koklar baskınken fermantasyonun ilerleyen saatlerinde *Lactobacillus* spp. baskın duruma geçmektedir. En yüksek mezofilik laktik kok sayısı, depolamanın ilk günü alınmış olup sayı 21 gün depolama süresi boyunca azalarak 7. 44 log kob/g değerine ulaşmıştır. Bu çalışmada üretilen kefir örneklerinin *Lactobacillus* spp. ve mezofilik laktik kok sayısının, TGK Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde belirtilmiş olan toplam spesifik mikroorganizma (*Lactobacillus* spp. ve mezofilik laktik kok) sayısının en az 10^7 kob/g kriterine uygun olduğu görülmektedir (Tebliğ No: 2022/44).

Maya sayısı bakımından sonuçlar incelendiğinde, kefirde *S. boulardii* kullanımının ($p<0.01$), farklı kefir kültürü kullanımının ($p<0.001$) ve kefirin 21 gün depolanmasının etkisinin önemli ($p<0.001$) olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan endüstriyel kefir örneklerinden biri olan E2 kefir üretiminde kullanılan starter kültür sadece bakterilerden oluşan, maya içermeyen bir kültür olduğu için ESb2 kefir örneklerinden *S. boulardii* maya sayısını takip etmek mümkün olmuştur. *S. boulardii* mayasının geleneksel kefir dane kültürlerine (G1 ve G2) daha iyi uyum sağladığı tespit edilmiştir. *S. boulardii* içeren ve bu mayayı içermeyen kefirlerin maya sayısı ortalamasının depolama süresindeki değişimi incelendiğinde, geleneksel dane kültür kullanımında 0.24 log azalma olurken endüstriyel kültür kullanımında 0.47 log azalma olduğu tespit edilmiştir. Depolamanın ilk günü *S. boulardii* maya sayısı 6.61 log kob/g olarak belirlenirken 21. gün maya sayısı ise 6.11 log kob/g olarak belirlenmiştir. Depolama süresi içinde *S. boulardii* maya sayısında 0.23 log azalma olduğu tespit edilmiştir. Kefir örneklerinin en yüksek maya sayısı depolamanın ilk gününde tespit edilmiş olup depolama süresi boyunca maya sayısı azalmakla birlikte sadece 14. günde artış göstermiştir. Kefir örneklerinin genel ortalama maya sayısı 6.8 log kob/g olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada üretilen kefir örneklerinin maya sayısının, TKG Fermente Süt Ürünleri Tebliği'nde belirtilmiş olan maya sayısının en az 10^4 kob/g kriterine uygun olduğu görülmektedir (Tebliğ No: 2022/44).

Kefirlerin maya sayısındaki değişim kullanılan starter kültür çeşidine, inokülasyon oranına ve kültürün içerdiği maya sayısına bağlı olarak değişmektedir. Bu çalışmada kefir örneklerinin içerdiği maya türlerinin kendi içinde bir denge oluşturdıkları ve sayılarını genellikle 6-7 log kob/g düzeyinde tuttukları anlaşılmıştır. *S. boulardii* mayasının kefirin doğal mikrobiyotasında bulunan mayalardan ayrı olarak belirlenebilmesini sağlayan selektif bir besiyeri bulunmadığı için kefir mikrobiyotasındaki mayalar ile sonradan eklenen *S. boulardii* mayası arasındaki etkileşimi ve depolama süresince tür bazında maya sayılarındaki değişimi anlamak için moleküler tanılama yöntemlerinin kullanılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Duyusal analiz sonuçlarına göre, *S. boulardii* mayasını içeren GSb1 (Ankara) kefir örneği panelistler tarafından kıvam, tat ve aroma ile genel beğeni açısından en çok beğenilen örnek olmuş bunu G1 (Ankara) ve GSb2 (İzmir) kefir örnekleri takip etmiştir. Duyusal analizler sırasında E2 starter kültürü (Doğadan Bizim) ile üretilen

kefirlerin geç fermente olarak yetersiz tat ve aroma içerdiği ve depolama boyunca yoğun kıvamlı olması nedeniyle en düşük puanları aldığı görülmüştür. Geleneksel kefir danesiyle üretilen kefirler endüstriyel kültürlerle üretilenlere göre daha yüksek kıvam, tat ve aroma puanı almıştır. *S. boulardii* içeren kefirlerin daha yüksek tat ve aroma puanı aldığı ve bu farkın önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre E2 kefir rneği hariç *S. boulardii* içeren kefirlerin diğer kefiirlere göre tadının daha yumuştak, lezzetli ve içiminin daha kolay olduğu görülmüştür. Bu durum özellikle kefir içmekte zorlanan bireyler için umut vericidir.

Başlangıçta süte eklenen 5 log kob/g *S. boulardii* maya sayısının fermentasyonla 6 log kob/g düzeyine çıkması ve depolama sonunda kefir mikrobiyotasında bulunan *Lactobacillus* spp. ve mezofilik laktik kok gibi faydalı bakteri sayısının yaklaşık 8 log kob/g düzeyinde olması, *S. boulardii* mayasının kefire oldukça iyi uyum sağladığını göstermiştir.

Clostridium difficile, rota virüs ya da antibiyotiğe bağlı akut ve kronik diyare tedavisinde baştırlı sonuçlar veren ve insan sindirim sistemini düzenleyerek bağırsaklarda bulunan faydalı mikroorganizmaların tekrar kolonize olmasını sağlayan bu probiyotik mayanın gıdalarda kullanımına dair daha fazla çalıştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalıştırmada geliştiriilen probiyotik gıdanın yeni bir fonksiyonel gıda olmasının yanında klinik uygulamalarda da kullanılabilme potansiyeli bulunmaktadır. Yaştı ve çocukların ilaçları zor ve isteksiz tüketmeleri nedeniyle probiyotik özellikteki *S. boulardii* mayasının gıdalar ile hastalara verilmesinin tedavinin etkinliğini artıracabileceği dştnlmektedir. Bu etkinin ortaya net bir şekilde konulabilmesi için klinik araştırmalara ve kanıt düzeyinin belirlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu alıştıma, konu ile ilgili ileride yapılacak alıştırmalara ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

- Adiloğlu, A., Gönülateş, N., İşler, M. ve Şenol, A., 2013. Kefir tüketiminin insan bağışıklık sistemi üzerine etkileri: bir sitokin çalışması, Mikrobiyol Bul, 47, 2, 273-281.
- Ak, G., 2018. Yenilebilir kıvamda üretilen meyveli kefirlerin fizikokimyasal, duyuşal ve mikrobiyolojik özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- Akbörü, T., 2019. Farklı ticari kültürler ve dane ile üretilen kefirlerin özelliklerinin karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Akbulut-Ataman, F., 2020. Laktozlu ve laktozsuz süten kefir danesi ilavesiyle üretilen kefiirlere çilek püresi katılarak fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya.
- Akdeniz, V., Özer, E. ve Akalın, A. S., 2018. *Helicobacter pylori* enfeksiyonunda probiyotiklerin rolü, Gıda Teknolojisi Derneği, 43, 6, 943-956.
- Alagöz-Kabakcı, S., 2019. Antosiyaninlerce zengin meyve ve sebze suyu eklenmiş kefirlerin kalite özelliklerinin belirlenmesi ve kefir kültürü ile siyah havuç suyundan fermente içecek üretimi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Alkan, R., 2012. Probiyotik maya: *Saccharomyces boulardii*, Tübbav Bilim Dergisi, 5, 4, 13-16.
- Ansari, F., Alian-Samakkhah, S., Bahadori, A., Maedeh-Jafari, S., Ziaee, M., Taghi-Khodayari, M. ve Pourjafar, H., 2023. Health-promoting properties of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* as a probiotic; characteristics, isolation, and applications in dairy products, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 63, 4, 457-485.
- AOAC, 2005. Total Solids in Ice Cream and Frozen Desserts: Gravimetric Method, Official Method 941.08. Gaithersburg, Maryland: USA.
- AOAC, 1990a. Solids (Total) in milk, Official Methods of Analysis, No.925.23. Association of Official Analytical Chemists Inc. Virginia, USA.
- AOAC, 1990b. Acidity of milk (Titrimetric method), Official Methods of Analysis, No. 947.05. Association of Official Analytical Chemists Inc. Virginia, USA.
- AOAC, 1990c. Ash of milk (Gravimetric method), Official Methods of Analysis. No. 945.46. Association of Official Analytical Chemists Inc: Virginia, USA.
- AOAC, 2004. Fat Content of Raw and Pasteurised Whole Milk: Gerber Method by Weight, Official Method 2000.18. Gaithersburg, Maryland: USA.

- AOAC, 2005. Total Solids in Ice Cream and Frozen Desserts: Gravimetric Method, Official Method 941.08. Gaithersburg, Maryland: USA.
- Aşcı-Arslan, A., 2015. Üretim parametrelerinin kefirin fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyu özellikleri üzerine etkisi ile üretilen kefirlerin peptid profilinin belirlenmesi, Doktora Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- Atılğan, S., 2018. Kefir danesi ve kefir starter kültürü ile üretilen kefirlerin *in vivo* olarak probiyotik potansiyellerinin qpcr ile belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Baran, B., 2008. İrritabl barsak sendromlu hastalarda kefirin semptomlar ve hayat kalitesi üzerine olan etkileri, Uzmanlık Tezi, Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Bursa.
- Bekar, Ö., 2007. Kefir'in *Helicobakter pylori* eradikasyonuna ve tedaviye bağlı yan etkiler üzerine etkisi, Uzmanlık Tezi, Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Bursa.
- Buran, İ., 2020. Probiyotik ve prebiyotiklerin sinbiyotik kullanımının inek ve keçi sütünden üretilen kefirlerin kalite özellikleri üzerine etkisi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Cemeroğlu, B., 2013. Gıda Analizleri, Bizim Grup Basımevi, Ankara.
- Ching-Yun, K. ve Ching-Wen, L., 1999. Taiwanese kefir grains: their growth, microbial and chemical composition of fermented milk, The Australian Journal of Dairy Technology, 54, 1, 19–23.
- Coqueiro, A. Y., Raizel, R., Bonvini, A., Tirapegui, J. ve Rogero, M. M., 2019. Probiotics for inflammatory bowel diseases: a promising adjuvant treatment, International journal of food sciences and nutrition, 70,1, 20-29.
- Currò, D., Ianiro, G., Pecere, S., Bibbò, S. ve Cammarota, G., 2017. Probiotics, fibre and herbal medicinal products for functional and inflammatory bowel disorders, British Journal of Pharmacology, 174, 11, 1426-1449.
- Daştan, S., 2015. Ticari ve geleneksel yöntemlerle üretilen kefirlerin mikrobiyolojik profilinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Davras, F., 2018. Doğal kefir danesinden ve starter kefir kültüründen üretilen kefirlerin *in vivo* bazı immünolojik etkilerinin karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- De Man, J. C., Rogosa, M. ve Sharpe, M. E., 1960. A medium for the cultivation of *Lactobacilli*, Journal of Applied Bacteriology, 23, 1, 130–135.
- Demir, C., 2011. Kefir üretiminde bitkisel lif kullanımı, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

- Dinç, A., 2008. Kefirin bazı mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Dinkçi, N., Kesenkaş, H., Korel, F. ve Kınık, Ö., 2015. An innovative approach: cow/oat milk based kefir, *Mljekarstvo*, 65, 3, 177-186.
- Duran, E. F., 2020. Kefir danesine özgü bazı bakterilerden ve daneden üretilen ürünlerin aroma bileşenlerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O. ve Gürbüz, F., 1987. Araştırma ve Deneme Metotları (İstatistik II), Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, 381, Ankara.
- Ender, G., 2009. Oligofruktozla zenginleştirilmiş sütten üretilen kefirlerin kalitesi üzerine tane ve kültür kullanımının etkileri, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Ertekin B., 2008. Yağ ikame maddeleri kullanımının kefir kalite kriterleri üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Ertekin, B. ve Güzel-Seydim, Z. B., 2010. Effect of fat replacers on kefir quality, *Journal of Science Food Agriculture*, 90, 4, 543-548.
- EFSA, European Food Safety Authority, 2010. Scientific opinion on the substantiation of health claims related to *S. cerevisiae* var *boulardii* CNCM I-1079 and defence against pathogenic gastrointestinal microorganisms, *EFSA Journal*, 10, 6, 2717.
- Fontán, M. C. G., Martínez, S., Franco, I. ve Carballo, J., 2006. Microbiological and chemical changes during the manufacture of Kefir made from cows' milk, using a commercial starter culture, *International Dairy Journal*, 16, 7, 762-767.
- Güzel-Seydim, Z. B., Wyffels, J. T., Seydim, A. C. ve Greene, A. K., 2005. Turkish kefir and kefir grains: microbial enumeration and electron microscobic observation, *Int. J. Dairy Tech.*, 58, 1, 25-29.
- Güzel-Seydim, Z. B., Kök-Taş, T., Greene, A. K. ve Seydim, A. C., 2011. Review: functional properties of kefir, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 3, 261-268.
- Güzel-Seydim, Z. B. ve Kök-Taş, T., 2019. Kefir, 233-256, Anlı E. ve Şanlıbaba P. (Editör), *Fermente Gıdalar*, Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara.
- Hadjimbei, E., Botsaris, G., Goulas, V., Alexandri, E., Gekas, V. ve Gerothanassis, I. P., 2020. Functional stability of goats' milk yoghurt supplemented with *Pistacia atlantica* resin extracts and *Saccharomyces boulardii*, *International Journal of Dairy Technology*, 73, 1, 134-143.
- Halkman, A.K., 2019. Gıda Mikrobiyolojisi, Başak Matbacılık, Ankara.

- Harrigan, W.F., 1998. Laboratory Methods in Food Microbiology, Third Edition, Academic Press, San Diego, California, USA.
- ICMSF, International Commission on Microbiological Specifications for Foods, 1978. Microorganisms in foods, I. Their significance and methods of enumeration, Second Edition, University of Toronto Press, Toronto, Canada.
- Irigoyen, A., Arana, I., Castiella, M., Torre, P. ve Ibanez, F.C., 2005. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage, Food Chemistry, 90, 4, 613-620.
- Ivanova, G., Momchilova, M., Rumyan, N., Atanasova, A. ve Georgieva, N., 2012. Effect of *Saccharomyces boulardii* yeasts addition on the taste and aromatic properties of kefir, Journal of The University of Chemical Technology and Metallurgy, 47, 1, 59-62.
- İnce-Coşkun, A.E. ve Özdestan-Ocak, Ö., 2022. Effect of whey protein isolate microparticle addition on some physical and chemical properties of kefir, Chemical Papers, 76, 5, 3109–3118.
- Karagözlü, C., 1990. Farklı ısıtım işlem uygulanmış inek sütlerinden kefir kültürü ve kefir tanesi ile üretilen kefirlerin dayanıklılığı ve nitelikleri üzerine araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Karagözlü, C., Ender, G., Yerlikaya, O. ve Akbulut, N., 2006. Dünya’da ve Türkiye’de tüketimi artan fermente süt içecekleri, Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, Bildiriler Kitabı, Cilt I, 149-152.
- Karaolis, C., Botsaris, G., Pantelides, I. ve Tsaltas, D., 2013. Potential application of *Saccharomyces boulardii* as a probiotic in goat’s yoghurt: survival and organoleptic effects, International Journal of Food Science & Technology, 48, 7, 1445-1452.
- Karatepe, P., Yalçın, H., Patır, B. ve Aydın, I., 2012. Kefir ve kefirin mikrobiyolojisi, Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi, 10, 1, 1-10.
- Kınık, Ö., Kesenkaş, H., Dinkçi, N., Seçkin, K., Kavas, G. ve Gönç, S., 2008. Kefir üretiminde soya sütünden faydalanma olanakları üzerinde araştırmalar, Proje No: Tovag 106 O 810.
- Koçan, D., 2019. Probiyotikler, prebiyotikler ve sinbiyotikler ders notları basılmamış. Aksaray Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Aksaray.
- Koyu, E., 2018. Metabolik sendromlu hastalarda düzenli kefir tüketiminin metabolik sendrom parametreleri ve inflamatuvar yanıtı etkisi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- Kök-Taş, T., Seydim, A. C., Özer, B. ve Güzel-Seydim, Z. B., 2013. Effects of different fermentation parameters on quality characteristics of kefir, *Journal of Dairy Science*, 96, 2, 780-789.
- Kök-Taş, T., İlay, E. ve Öker, A., 2014. Pekmez ve erik kullanılarak üretilen kefirlerin bazı kalite kriterlerinin belirlenmesi, *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknolojisi Dergisi*, 2, 2, 86-91.
- Köse, M., 2018. Kefir fermantasyonu süresince mikrobiyal metabolizma ile bazı galaktooligosakkaritler dahil karbonhidrat profilindeki değişimin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Lazo-Velez, M. A., Serna-Saldivar, S. O., Rosales-Medina, M. F., Tinoco-Alvear, M. ve Briones-Garcia, M., 2018. Application of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* in food processing: a review, *J.Appl. Microbiol*, 125, 4, 943-951.
- Lourens-Hattingh, A. ve Viljoen, B. C., 2001. Growth and survival of a probiotic yeast in dairy products, *Food Research International*, 34, 9, 791–796.
- Marsh, A. J., O’Sullivan, O., Hill, C., Ross, R. P. ve Cotter, P. D., 2013. Sequencing-based analysis of the bacterial and fungal composition of kefir grains and milks from multiple sources, *PloS one*, 8, 7, e69371.
- McFarland, L.V., 2010. Systematic review and meta-analysis of *Saccharomyces boulardii* in adult patients, *World Journal of Gastroenterology*, 16, 18, 2202-2222.
- McFarland, L.V., 2017. Common organisms and probiotics: *Saccharomyces boulardii* in The microbiota in gastrointestinal pathophysiology, 145-160, Academic Press, London, United Kingdom.
- O’Brien, K.V., Aryana, K. J, Prinyawiwatkul, W., Ordonez, K. C. ve Boeneke, C. A., 2016. Short communication: The effects of frozen storage on the survival of probiotic microorganisms found in traditionally and commercially manufactured kefir, *Journal of Dairy Science*, 99, 9, 1-6.
- Öksüztepe, G., Demir, P., Karatepe, P., Alan, S., ve Akgöl, M., 2020. Ticari kefirlerin bazı kalite parametrelerinin incelenmesi, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 5, 2, 40-47.
- Öner, Z., Karahan, A. G. ve Çakmakçı, M. L., 2010. Effects of different milk types and starter cultures on kefir, *Gıda*, 35, 3, 177-182.
- Pais, P., Almeida, V., Yılmaz, M. ve Teixeira, M. C., 2020. *Saccharomyces boulardii*: what makes it tick as successful probiotic, *Journal of Fungi*, 6, 78, 1-16.
- Perlmutter D. ve Loberg K., 2018. Beyin ve Bağırsak, Çev. Ş. Dalyan. Pegasus Yayınları, İstanbul.

- Rattray, F. P. ve O'Connell, M. J., 2011. Fermented milks kefir, 518-524, in: Fukay, J. W. (ed.), Encyclopedia of Dairy Sciences, Second Edition, Academic Press, San Diego, USA.
- Sarıca, E., 2019. Farklı sütlerden yapılan kefirlerin buzdolabı sıcaklığında ve dondurarak depolanması esnasında meydana gelen değişmeler, Doktora Tezi, Bolu İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bolu.
- şen, İ., 2015. Kefir kültürü kullanılarak üretilen fermente süt ürünlerinin aroma aktif bileşenlerinin ve duysal özelliklerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- T.C. Resmi Gazete, Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt  r nleri Tebliği. (Tebliğ No: 2022/44), 32029, 30.11.2022.
- T.C. Resmi Gazete, Türk Gıda Kodeksi İçme Sütleri Tebliği. (Tebliğ No: 2019/12), 30699, 27.02.2019.
- Tavlaş, B., 1986. Kefir tanesi ve kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin kalitesi üzerine olgunlaştırma koşullarının etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Terzaghi, B. E. ve Sandine, W. E., 1975. Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages, Applied Microbiology, 29, 6, 807–813.
- Tomar, O., 2015. Farklı yağ oranlarına sahip inek ve manda sütleri kullanılarak iki ayrı üretim metoduyla üretilen kefir örneklerinin depolama süresince bazı kalite karakteristiklerinin belirlenmesi, Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Tunay, R., T., 2018. Kefir danesinden üretilen kefir tüketiminin anne sütündeki probiyotik mikroorganizmalara etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Uzunsoy, I. ve  zer, B., 2019. Yoğurt, 187-231, Anlı E. ve şanlıbaba P. (Editör), Fermente Gıdalar, Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara.
- Uslu, G., 2010. Ankara piyasasında satılan kefirlerin mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal ve duysal özellikleri üzerine bir araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
-  nal, F. G., 2013. Kuru madde oranları farklı sütlerden starter kültür ve dane ile üretilen set tipi kefirlerin duysal, fizikokimyasal ve mikrobiyolojik  zellikleri, Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
-  nver, İ., H., 2014. *Saccharomyces boulardii* kullanarak probiyotik yoğurt üretimi ve bazı prebiyotiklerin yoğurtların çeşitli nitelikleri üzerine etkisinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

- Ürkek, B., Şengül, M. ve Erkaya, T., 2014. *Saccharomyces boulardii*'nin fermente süt ürünlerinde kullanımı, Akademik Gıda, 12, 2, 108-113.
- Yıldıran, H., 2017. Probiyotik özellik gösteren bazı maya suşları ve laktik asit bakterilerinin etkileşimlerinin araştırılması, Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Yıldıran, H., Kılıç, B., G. ve Karahan, G., A., 2017. Probiyotik mayalar ve özellikleri, Türk Tarım- Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 5, 10, 1148-1155.
- Yıldırım, E., 2016. Yoğurt, probiyotik yoğurt ve kefir tüketiminin hipertansiyon üzerine etkisi, Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Yıldız F., 2009. Farklı yağ oranlarının ve farklı starter kültürlerin kefirin nitelikleri üzerine etkisi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Yılmaz, İ., 2018. Kefirin bazı probiyotik özelliklerinin belirlenmesi ve inflamatuvar bağırsak hastalarının semptomlarına, hasta dışkılarındaki *Lactobacillus* florasına etkilerinin incelenmesi, Doktora Tezi, İstanbul Aydın Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Yoon, J. H., Kim, J. Y., Yoo, J. H. ve Lee, S. Y., 2023. Development of a selective medium for the enumeration of lactic acid bacteria and bifidobacteria in food products, Food Science and Biotechnology, 32, 5, 713-721.
- Yüksekdağ, Z. N. ve Beyatlı, Y., 2003. Kefir mikroflorası ile laktik asit bakterilerinin metabolik, antimikrobiyal ve genetik özellikleri, Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 1, 2, 49-69.
- URL-1 < <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/>>, Erişim tarihi: 09.01.2023.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı: Büşra ÇİNAR

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans: Aksaray Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 2015-2019.

Yüksek Lisans: Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 2020-

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

1. Alanımda 2 yıl Aksaray ilinde özel sektörde çalıştım.

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Kongrelerde Sunulan Makaleler:

1. *Saccharomyces cerevisiae* spp. *boulardii* ile Üretilmiş Olan Kefirin Mikrobiyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. Türkiye 14. Gıda Kongresi. 19-21 Ekim 2022.