



**T.C.**  
**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MEYVE YAN ÜRÜNLERİ İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ KEFİRİN  
ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ VE BAZI  
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

**MERVE GÜNEŞ**  
**BİYOKİMYA (VETERİNER) ANA BİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Danışman**  
**Dr. Öğr. Üyesi Murat GÖKGÖZ**

**KIRIKKALE-2024**



**T.C.**  
**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MEYVE YAN ÜRÜNLERİ İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ KEFİRİN  
ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ VE BAZI  
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

**MERVE GÜNEŞ**  
**BİYOKİMYA (VETERİNER) ANA BİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Danışman**  
**Dr. Öğr. Üyesi Murat GÖKGÖZ**

**KIRIKKALE-2024**

## ETİK BEYANI

Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- o Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- o Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- o Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- o Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- o Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

.....

Merve GÜNEŞ

24/07 /2024

# ÖZET

## MEYVE YAN ÜRÜNLERİ İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ KEFİRİN ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ VE BAZI ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Kırıkkale Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Biyokimya (Veteriner) Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Murat GÖKGÖZ

Temmuz 2024, 56 sayfa

Sağlıklı bir yaşam için besinlerin hastalıklara karşı koruyucu ve tedavi edici pek çok etkisi bulunmaktadır. Besinlerin işlevselliğini artırmak amacıyla farklı bileşenlerin eklenmesi ve faydalı etkilerinin güçlendirilmesi sonucu “fonksiyonel besinler” elde edilir. Günümüzde serbest radikallere maruziyet artmakta ve antioksidan savunma sistemi yetersiz kalırsa insan sağlığını tehdit eden oksidatif stres vücudumuzda birçok rahatsızlığa sebep olmaktadır. Kefir, barındırdığı probiyotik bakteri ve mayalar ile antioksidan savunmasını destekler. Aynı zamanda meyvelerin üretiminden arda kalan ve antioksidan kapasitesi yüksek kabuk, posa, çekirdek gibi yan ürünlerin değerlendirilmesi için fonksiyonel besin bazı oluşturur.

Bu çalışmada meyve yan ürünleri ve kefirin antioksidan özelliklerinin incelenmesi ve kombinasyonları sonucu değişen özelliklerin saptanması amaçlandı. Araştırmada materyal olarak Delice beyazı üzümü, siyah üzüm, nar ve kuşburnu meyve çekirdek tozları ile kefir kullanıldı. Kefir, geleneksel ve backslopping yöntemi ile üretildi. Delice Beyazı üzümü, siyah üzüm, nar ve kuşburnu gibi meyve çekirdek tozları ve kefir farklı solventlerle (metanol, dikloro metan, hekzan ve su) ekstrakte edildi. Kefirin bazı özellikleri (pH, titrasyon asitliği, protein miktarı, yağ miktarı, kuru madde miktarı vb.) tayin edildi. Örneklerin serbest radikal süpürücü etkileri (DPPH, ABTS), metal indirgeme gücü (FRAP, CUPRAC), toplam fenolik ve flavonoid bileşik miktarları spektrofotometrik yöntemlerle belirlendi.

Kefirin pH değerinin meyve yan ürünleri eklendiğinde düştüğü gözlemlendi. Kullanılan kefirin titrasyon asitliği %0,644 iken %13,53 kuru madde, %1,86 yağ ve %29,055 protein içerdiği belirlendi. Meyve yan ürünlerinin kefire eklenmesi sonucu antioksidan özelliklerin değiştiği gözlemlendi. Meyve yan ürünlerinin hepsinin kefire göre daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu görüldü. Sonuçlar ekstraksiyonda kullanılan çözücüye ve analiz yöntemine göre farklılık gösterdi. Toplam fenolik ve flavonoid miktarı Delice Beyazı çekirdeğinde, çalışılan diğer çekirdeklerden anlamlı olarak yüksek bulundu. Ekstraksiyonda çözücü olarak metanol kullanımının daha etkili olduğu saptandı. Meyve yan ürünlerinin antioksidan

kapasite, toplam fenolik ve flavonoid madde miktarı ile protein miktarı kefirde daha yüksek bulundu. Zenginleştirilmiş kefir örnekleri antioksidan özellik gösterdi fakat sade kefire kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Sonuç olarak Meyve çekirdeği tozlarının prebiyotik potansiyelinin yüksek olduğu, kefirin probiyotik özelliğini geliştirici kapasiteye sahip olduğu ve doğal besin takviyesi olarak kullanılabileceği akla gelmektedir. Çalışmada kullanılan meyve yan ürünleri kefire eklendiğinde besin değerlerinde ve antioksidan özelliğinde olumlu artışlara sebep olabileceği ve faydalı özelliklerini zenginleştirebileceği, elde edilen fonksiyonel besinin, hastalıklara karşı koruyucu olması açısından ümit verici olabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Antioksidan, beslenme, Delice beyazı üzümü, fonksiyonel besin, kefir, kuşburnu çekirdeği, nar çekirdeği, siyah üzüm çekirdeği



# ABSTRACT

## DETERMINATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY AND INVESTIGATION OF SOME PROPERTIES OF KEFIR ENRICHED WITH FRUIT BY-PRODUCTS

Kırıkkale University

Institute of Health Sciences

Department of Biochemistry (Veterinary), Master Thesis

Consultant: Assistant Prof. Dr. Murat GÖKGÖZ

July 2024, 56 page

Nutrients have many protective and therapeutic effects against diseases and are essential for a healthy life. "Functional foods are obtained by adding various components to increase the functionality of food and enhance its beneficial effects. Today, exposure to free radicals is increasing and oxidative stress, which threatens human health when the antioxidant defence system is inadequate, causes many disorders in our bodies. Kefir supports antioxidant defences with its probiotic bacteria and yeasts. At the same time, it creates a functional nutritional base for the use of by-products such as peel, pulp and seeds, which are left over from fruit production and have a high antioxidant capacity.

The aim of this study was to investigate the antioxidant properties of fruit by-products and kefir and to determine the changes in properties as a result of their combination. Delice white grape, black grape, pomegranate and rosehip fruit seed powders and kefir were used as materials in the study. Kefir was produced using the traditional and backslopping methods. Fruit seed powders such as Delice white grape, black grape, pomegranate and rosehip and kefir were extracted with different solvents (methanol, dichloro methane, hexane and water). Some properties of the kefir (pH, titration acidity, protein content, fat content, dry matter content, etc.) were determined. Free radical scavenging (DPPH, ABTS), metal reducing power (FRAP, CUPRAC), total phenolic and flavonoid compounds of the samples were determined by spectrophotometric methods.

It was observed that the pH of the kefir decreased when fruit by-products were added. The titration acidity of the kefir used was 0.644%, 13.53% dry matter, 1.86% fat and 29.055% protein. It was observed that the antioxidant properties changed as a result of the addition of fruit by-products to the kefir. All fruit by-products were found to have a higher antioxidant capacity than kefir. The results varied according to the solvent used for extraction and the method of analysis. The total phenolic and flavonoid content was found to be significantly higher in Delice white seeds than in the other seeds studied. The use of methanol as solvent in the extraction was found to be more effective. Antioxidant capacity, total phenolic and flavonoid content and protein content of fruit by-products were higher than in kefir. Enriched kefir samples

showed antioxidant properties but were not statistically significant compared to plain kefir.

As a result, it is suggested that fruit seed powders have a high prebiotic potential, have the ability to improve the probiotic properties of kefir and can be used as natural food supplements. It is suggested that the addition of the fruit by-products used in the study to kefir may result in a positive increase in nutritional and antioxidant values and enrichment of its beneficial properties, and the resulting functional food may be promising in terms of disease protection.

**Keywords:** antioxidant, nutrition, Delice white grape, functional food, kefir, rosehip seeds, pomegranate seeds, black grape seeds



## TEŞEKKÜR

Tez çalışma sürecimde desteğini ve bilgisini esirgemeyen, her türlü olanağı sağlayan kıymetli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Murat GÖKGÖZ'e, lisansüstü eğitim yolculuğumda yoluma ışık olan, örnek aldığım,engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım çok kıymetli hocam Prof. Dr. Miyase ÇINAR'a, her adımda yanımda olan, yol gösteren, akademik alanda teşviğini ve desteğini hiç esirgemeyen Arş. Gör. Ali ŞENOL'a, kıymetli bilgileri ve bakış açılarıyla eğitime katkıda bulunan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Özkan DURU'ya, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sayın Dr. Öğr. Üyesi Ümit YIRTICI'ya, labaratuvar ve deney sürecinde sonsuz yardımcı olan İlknur ÖNGER'e, araştırma sürecimde desteklerini hissettiğim Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu'nun değerli hoca ve çalışanlarına, tanıdığı imkan ve olanaklardan ötürü Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü'ne sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca eğitim hayatım dahil her anımda beni yalnız bırakmayan değerli babam Tayfun Ahmet BENT ve annem Ebru BENT'e, kardeşlerime, daima yanımda olan sevdiklerime, arkadaşlarıma ve kıymetli eşim Serhat GÜNEŞ'e tüm kalbimle teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

|                                                                | <u>Sayfa</u> |
|----------------------------------------------------------------|--------------|
| <b>ÖZET.....</b>                                               | <b>iv</b>    |
| <b>ABSTRACT .....</b>                                          | <b>vi</b>    |
| <b>TEŞEKKÜR .....</b>                                          | <b>viii</b>  |
| <b>İÇİNDEKİLER .....</b>                                       | <b>ix</b>    |
| <b>ÇİZELGELER DİZİNİ .....</b>                                 | <b>xi</b>    |
| <b>ŞEKİLLER DİZİNİ .....</b>                                   | <b>xii</b>   |
| <b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....</b>                    | <b>xiii</b>  |
| <b>1. GİRİŞ .....</b>                                          | <b>1</b>     |
| 1.1. Kefirin Mikrobiyolojik ve Fizikokimyasal Özellikleri..... | 3            |
| 1.2. Kefir Üretim Yöntemleri .....                             | 5            |
| 1.3. Kefirin İnsan Sağlığına Etkileri.....                     | 7            |
| 1.3.1. Kefirin Antioksidan Özelliği .....                      | 7            |
| 1.4. Meyve Yan Ürünleri.....                                   | 10           |
| 1.4.1. Üzüm Çekirdekleri.....                                  | 11           |
| 1.4.2. Nar Çekirdekleri .....                                  | 11           |
| 1.4.3. Kuşburnu Çekirdeği.....                                 | 12           |
| 1.5. Fonksiyonel Besinler .....                                | 13           |
| 1.6. Tezin Amacı .....                                         | 15           |
| <b>2. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>                              | <b>16</b>    |
| 2.1. Materyal.....                                             | 16           |
| 2.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Sarf Malzemeler .....            | 16           |
| 2.1.2. Kefir Üretimi .....                                     | 17           |
| 2.1.3. MYÜ'nün Eldesi.....                                     | 18           |
| 2.1.4. MYÜ'nün Kefire Eklenmesi.....                           | 21           |
| 2.2. Yöntem .....                                              | 21           |
| 2.2.1. Çözeltilerin Hazırlanması .....                         | 21           |
| 2.2.2. Kefirin pH Tayini .....                                 | 23           |
| 2.2.3. Titrasyon Asitliği .....                                | 23           |
| 2.2.4. Protein Tayini .....                                    | 23           |
| 2.2.5. Yağ Tayini .....                                        | 23           |
| 2.2.6. Kuru Madde Tayini.....                                  | 24           |
| 2.2.7. Kefirin Mikroorganizma İçeriği ve Çeşitliliği .....     | 24           |
| 2.2.8. Kefir ve MYÜ'nün Ekstraksiyonu.....                     | 24           |
| 2.2.8.1. Kefir Ekstraksiyonu .....                             | 24           |
| 2.2.8.2. MYÜ'nün Ekstraksiyonu .....                           | 25           |
| 2.2.8.3. MYÜ Eklenen Kefirlerin Ekstraksiyonu.....             | 25           |
| 2.2.9. Örneklerin Antioksidan Analizleri.....                  | 26           |
| 2.2.9.1. DPPH Analizi.....                                     | 26           |
| 2.2.9.2. ABTS Analizi.....                                     | 27           |
| 2.2.9.3. FRAP Analizi .....                                    | 28           |

|                                                                                               |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.2.9.4. CUPRAC Analizi .....                                                                 | 29        |
| 2.2.9.5. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı .....                                                 | 30        |
| 2.2.9.6. Toplam Flavonoid Miktarı .....                                                       | 31        |
| 2.3. İstatistiksel Analiz .....                                                               | 32        |
| <b>3. BULGULAR .....</b>                                                                      | <b>33</b> |
| 3.1. Kefir Örneklerinin pH Değeri Sonuçları .....                                             | 33        |
| 3.2. Kefir Örneklerinin Titrasyon Asitliği, Kuru Madde, Yağ, Protein ve Azot Miktarları ..... | 34        |
| 3.3. Kefirin Antioksidan Analiz Sonuçları .....                                               | 34        |
| 3.4. Kefirin Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde Miktarı Sonuçları .....                        | 34        |
| 3.5. MYÜ'nün Azot ve Protein Miktarları .....                                                 | 35        |
| 3.6. MYÜ'nün Antioksidan Analizleri .....                                                     | 35        |
| 3.6.1. DBÜ'nün Antioksidan Analiz Sonuçları .....                                             | 35        |
| 3.6.2. Meyve Çekirdeklerinin Antioksidan Analiz Sonuçları .....                               | 37        |
| 3.7. Meyve Çekirdeklerinin Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde Tayini .....                     | 38        |
| 3.8. Zenginleştirilmiş Kefirin Antioksidan Analiz Sonuçları .....                             | 38        |
| <b>4. TARTIŞMA .....</b>                                                                      | <b>40</b> |
| <b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>                                                             | <b>45</b> |
| <b>KAYNAKLAR .....</b>                                                                        | <b>47</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>                                                                         | <b>57</b> |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

### ÇİZELGE

### Sayfa

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.1. Fenolik Bileşiklerin Grupları ve Sağlığa Olan Faydaları.....                   | 9  |
| 2.1. Sarf Malzeme Listesi .....                                                     | 16 |
| 2.2. Cihazlar Listesi .....                                                         | 17 |
| 3.1. Örneklerin pH Değerleri .....                                                  | 33 |
| 3.2. Kefirin Titrasyon Asitliği, Kuru Madde ve Yağ, Protein ve Azot Miktarları..... | 34 |
| 3.3. Kefir Ekstrelerinin DPPH ve ABTS Analiz Sonuçları (mg TE/g ka).....            | 34 |
| 3.4. Kefirin Farklı Ekstrelerinin Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde Miktarı .....   | 35 |
| 3.5. MYÜ'nün Azot ve Protein Yüzdeleri .....                                        | 35 |
| 3.6. DBÇ ve DBM'nin CUPRAC Analizi Sonuçları .....                                  | 36 |
| 3.7. DBÇ ve DBM'nin FRAP Analizi Sonuçları .....                                    | 36 |
| 3.8. MYÜ Ekstrelerinin DPPH Analizi Sonuçları (mg TE/g ka).....                     | 37 |
| 3.9. MYÜ Ekstrelerinin ABTS Analizi Sonuçları (mg TE/g ka).....                     | 37 |
| 3.10. MYÜ Ekstrelerinin Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg GAE/g).....                | 38 |
| 3.11. MYÜ Ekstrelerinin Toplam Flavonoid Madde Miktarı (mg RE/g).....               | 38 |
| 3.12. Zenginleştirilmiş Kefirlerin Antioksidan Analiz Sonuçları .....               | 39 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

| <u>ŞEKİL</u>                                                     | <u>Sayfa</u> |
|------------------------------------------------------------------|--------------|
| 1.1. Antioksidanların Sınıflandırılması .....                    | 8            |
| 2.1. Kefir Mayası .....                                          | 18           |
| 2.2. Delice Beyazı Üzümleri .....                                | 18           |
| 2.3. Beyaz Üzümleri Çekirdeği .....                              | 19           |
| 2.4. Öğütölmüş Beyaz Üzümleri Çekirdeği Tozu .....               | 19           |
| 2.5. Öğütölmüş Beyaz Üzümleri Meyvesi Tozu .....                 | 19           |
| 2.6. Öğütölmüş Siyah Üzümleri Çekirdeği Tozu .....               | 20           |
| 2.7. Öğütölmüş Nar Çekirdeği Tozu .....                          | 20           |
| 2.8. Öğütölmüş Kuşburnu Çekirdeği Tozu .....                     | 20           |
| 2.9. Hububat Öğütöcü .....                                       | 21           |
| 2.10. Otomatik Azot ve Protein Analiz Cihazı .....               | 23           |
| 2.11. DPPH Standart Eğri Grafiğı.....                            | 27           |
| 2.12. ABTS Standart Eğri Grafiğı.....                            | 28           |
| 2.13. FRAP Standart Eğri Grafiğı.....                            | 29           |
| 2.14. CUPRAC Standart Eğri Grafiğı.....                          | 30           |
| 2.15. Toplam Fenolik Madde Miktarı Standart Eğri Grafiğı. ....   | 31           |
| 2.16. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Standart Eğri Grafiğı. .... | 32           |

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|        |                                                    |
|--------|----------------------------------------------------|
| ABD    | Amerika Birleşik Devletleri                        |
| ABTS   | 2,2'-azinobis (3-etil-bezotiazolin 6 sulfonat)     |
| ADA    | Amerika Diyetetik Derneği                          |
| CUPRAC | Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite        |
| DNA    | Deoksiribo nükleik asit                            |
| DPPH   | 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikali              |
| FDA    | Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi                      |
| FRAP   | Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite |
| g      | Gram                                               |
| GAE    | Gallik asit eşdeğeri                               |
| HDL    | Yüksek yoğunluklu lipoprotein                      |
| KA     | Kuru ağırlık                                       |
| ka     | Kuru ağırlık                                       |
| L      | Litre                                              |
| LAB    | Laktik asit bakterileri                            |
| LDL    | Düşük yoğunluklu lipoprotein                       |
| M      | Molarite                                           |
| mg     | Miligram                                           |
| mg/ml  | Milimolar                                          |
| ml     | Mililitre                                          |
| N      | Normalite                                          |
| RE     | Rutin eşdeğeri                                     |
| TE     | Troloks eşdeğeri                                   |
| UHT    | Ultra yüksek ısı                                   |
| WHO    | Dünya Sağlık Örgütü                                |
| µg     | Mikrogram                                          |
| µL     | Mikrolitre                                         |



## 1. GİRİŞ

Hastalıklar, istisnalar dışında çevresel faktörlerin birer sonucu olmaktan çıkıp insanların tercihleri ve davranışlarının sonucu olarak karşımıza çıkmaktadır. Sağlıklı yaşam ve doğru beslenme bireylerin kendi sorumluluğu olarak kabul edilmektedir. Özellikle beslenme, hayatın her alanına etkileyen majör bir faktördür. Hastalıklara karşı korunmada, yaşam standartlarını yükseltmede ve WHO'nun sağlık tanımındaki 'bedence, ruhça ve sosyal yönden tam iyilik hali'ne ulaşmada önemli rol oynar. Besinler, vücuda faydalı olan özel fizyolojik etkilere sahip olduğunda, bu yönlerini güçlendirebilmek adına başka bileşenler eklenerek daha işlevsel hale getirilir ve "fonksiyonel besin" olarak tanımlanırlar (Shiby ve Mishra, 2013).Amerikan DiyetetikDerneği'ne (ADA) göre fonksiyonel besinler, doğru beslenmeye ilave olarak düzenli ve etkili düzeylerde tüketildiğinde sağlık üzerinde potansiyel olarak faydalı etkiye sahiptir. Toplumsal olarak fonksiyonel besinler hakkında yetersiz ve kirli bilgiler yaygındır ve tüketimi düşük orandadır. Sağlıklı ve dengeli beslenme göz ardı edilmeden fonksiyonel besinlerin önemi hakkında toplum daha bilinçli hale getirilmelidir ve bu alandaki çalışmalar artırılmalıdır (Esgin ve Özçelik, 2021).

Zenginleştirilmiş fonksiyonel süt bazlı içecekler temel besin öğeleri açısından dengeli, günlük tüketime elverişli, bağışıklık sistemini olumlu etkileyen ve destekleyici tedavilerin bir parçası olarak kullanılabilen besinlerdir. Biyoaktif bileşenlerin eklendiği bu içeceklerde antimikrobiyal ve antioksidan özellikler artar, laktik asit bakterileri içeriyorsa probiyotik özelliği güçlenir ve içeceğin raf ömrünü uzar. Son zamanlarda yapılan çalışmalar bazı ekstraktların kefirin sağlığa faydalı özelliklerini iyileştirdiğini gözler önüne sermektedir. Bitki, tarımsal atıklar, soya türevleri, meyve suları, meyve yan ürünleri, bal ve lifler kullanarak fonksiyonları geliştirilmiş kefir içecekleri elde edilmektedir. Bu tür ekstraktlarla zenginleştirilen içeceklerde artan antioksidan aktivite dikkat çekmektedir (Aiello vd., 2020). Kandyliari vd. (2023) yaptıkları çalışmada birçok süt ürününe birbirinden farklı bitki ekstraktları eklenerek fonksiyonel ürünler elde edilmiştir. Bu çalışmada süt ürünleri arasında zenginleştirilmiş kefir ürünleri panelistler tarafından daha yüksek puanlar

almıştır. Ülkemizde kefirin faydalı özelliklerinin yeterince bilinmemesi sebebiyle tüketimi istenen seviyede değildir. Bu sebeple ilgili çalışmalar artırılmalı, farklı türleri üretilmeli ve halka sunularak farkındalık oluşturulmalıdır (Eryılmaz, 2018).

Meyve işleme yan ürünleri besinlerle buluşturabileceğimiz potansiyel diyet lifi kaynaklarıdır. Düşük maliyetli ve kolay ulaşılabilir bu endüstriyel atıkların insan beslenmesinde kullanılması için etkilerinin ve sahip oldukları özelliklerin araştırılması gerekmektedir (Göncü, Çelikel, Akın ve Akın, 2017). Üzüm yan ürünlerinin prebiyotik özelliği ile kefirin probiyotik fonksiyonu arasındaki uyumlu ilişki son zamanlarda çalışmaların konusu olmaya başlamıştır. Üzüm çekirdeklerinde bulunan fenolik bileşikler, süt proteinleri ile etkileşime girdiğinde birçok özelliğini etkilemektedir. Mikrobiyolojik kalite, antioksidan kapasite, duysal ve fonksiyonel özelliklerin geliştirilmesini sağlamaktadır. Üzüm çekirdekleri en çok elde edilen yan ürünlerdendir. Çekirdek kısmı meyvenin kabuk ve posadan daha çok biyoaktif molekül içeren ve yüksek antioksidan kapasiteye sahip bölümdür. Kırmızı üzüm ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır fakat beyaz üzüm zengin farmasotik içeriklerine rağmen halen az çalışılmaktadır (Carullo vd., 2020a; 2020b; 2022a; 2022b).

Yapılan araştırmalar nar yan ürünlerinin özellikle çekirdeğin yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ve besinleri zenginleştirmede kullanılacak potansiyeli taşıdığını belirtmektedir. Nar suyu, kabuğu ve çekirdeği çeşitli süt ürünlerine eklenerek analizlere tabi tutulmuştur. Fakat bildiğimiz kadarıyla nar çekirdeklerinin kefire eklenerek fonksiyonel besin üretimi üzerine çalışılmamıştır (Çalışkanlar, Saygılı, Karagözlü ve Karagözlü, 2023; İrkin, Kızıl, Nevruz ve Küçük, 2023; Aiello vd., 2020; Elaltunkara, 2018). Kuşburnu çekirdekleri ise fonksiyonel besin üretiminde ve besin takviyelerinde kullanılma potansiyeli olan yüksek antioksidan ve askorbik asit kaynağı bir meyve yan ürünüdür. Sahip olduğu prebiyotik özelliklerden dolayı kefirin zenginleştirilmesinde kullanılabilir (İlyasoğlu, 2014; Özçelik, Akan ve Kinik, 2021).

Siyah üzüm, beyaz üzüm, nar ve kuşburnu çekirdekleri; doğal antioksidan (proantosiyanidinler, resveratrol, tokoferoller vb.), esansiyel yağ asitleri ve diyet lifi açısından zengin meyve yan ürünleridir (Göncü vd., 2017). Bu çalışmanın amacı endüstriyel ve tarımsal atık olarak karşımıza çıkan bu ürünlerin prebiyotik potansiyelini, antioksidan özelliklerini, besin değerlerini incelemek ve kefire ekleyerek fonksiyonel bir besin elde etmektir. Ayrıca araştırmamız, bildiğimiz

kadarıyla Vitis Vinifera vc. Delice üzüm çeşidi hakkında yapılan öncü çalışmalardan biri niteliğindedir.

### **1.1.Kefirin Mikrobiyolojik ve Fizikokimyasal Özellikleri**

Sağlıklı beslenmeye yönelik ilginin artmasıyla son yıllarda probiyotik besinlerin ticari üretimi artış göstermiştir. Laktik asit bakterileri(LAB) sağlıklı beslenme, hastalıklardan korunma, tedavi etme ve mortalitenin azalmasında etkilidir. Gastrointestinal sistemin doğal sakinlerindendir. Laktozun laktik asite fermantasyonunda sütün asitliği yükselir ve mikroorganizmaların aktifliği düşer fakat LAB aktivitesini devam ettirerek “probiyotik” özellik kazanır.Dünya Sağlık Örgütü'ne göre probiyotik bakteriler sindirim ortamında, özellikle düşük pH değerinde, sindirim enzimleri ve safra asitlerinin etkisi altında canlı kalabilmelidir. Ayrıca probiyotikler patojen organizmalara karşı yüksek bağlanma kapasitesi ve antagonistik aktivite göstermelidir(Shiby ve Mishra, 2013; Kukhtyn, Vichko, Horyuk, Shved ve Novikov,2018).

Prebiyotikler ise kolondaki bakterilerin üreme ve aktivitesine olumlu etkileri olan, konakçıya fayda sağlayan, sindirilemeyen besin bileşenleri olarak tanımlanmaktadır. Sindirilemeyen karbonhidratlardan olan laktuloz, inülin, bazı oligosakkaritler ve tam sindirime uğramayan bazı nişastalar kolona dek ulaşmakta ve bakterilerce fermente edilebilir kaynaklar olarak karşımıza çıkmaktadır. Bir maddeye prebiyotik özellik atfedebilmek için sindirime direnç göstermesi, kolon bakterileri tarafından hidrolize edilmesi, bakterilerin çoğalmasını uyarması ve konakçı sağlığını olumlu etkilemesi gibi özelliklere sahip olması gerekmektedir (Taşdemir, 2017).

Fermantasyon, besini muhafaza eden, nutrasotik özelliklerini ve duyuşal yönünü geliştiren düşük maliyetli bir olaydır. Çünkü fermantasyon sonucu oluşan bakteriler zararlı mikroorganizmaların üremesini engeller ve pHdeğeri düştüğü için de bozulma gecikmiş olur, dolayısıyla süt benzeri içeceklerin raf ömrü uzar. Bu içecekler aynı zamanda sahip olduğı faydalı bakteriler (probiyotikler) sayesinde bağırsak florasının korunmasına yardımcı olur (Ayed, M'hir ve Hamdi, 2020; Gürsoy,Kocatürk, Dal,Yakalı ve Yılmaz, 2020; Carullo vd., 2022). Fermente süt ürünleri sindirimin iyileştirilmesi, laktoza karşı toleransın arttırılması, plazma glukoz kontrolü, antihipertansif, antiinflamatuvar, antioksidan, anti-alerjenik, anti-karsinojenik ve

antioksidan aktivite gösteren çok yönlü ürünlerdir. Bu sebeple probiyotik kaynakları ilgi çekmekte ve araştırmalara konu olmaktadır (Kukhtyn vd., 2018; Farag, Jomaa, Abd El-Wahed ve El-Seedi, 2020). Yoğurt, insanlar arasında en çok tüketilen fermente süt ürünü olarak bilinmektedir. Ancak kefir, probiyotik içerik bakımından yoğurttan ve süttten daha zengin bir içecektir. Yoğurttabirbirinden farklı, kolonizasyonu zayıf bakterilere karşın kefir tanelerinde bağırsakta polisakkarit ve protein matrisleri oluşturan, mikrobiyomu geliştirerek simbiyotik bir ortam sağlayan bakteri kolonizasyonları bulunur (Choi vd., 2017; Ak, 2018; Demir ve Gürses, 2022)

Türk Gıda Kodeksi (2022)’ne göre kefir “ Fermentasyonda, kefir danesine özgü karakteristik mikroorganizmalardan (*Lactobacillus kefir*, *L. kefiranofaciens*, *L. kefirgranum*) en az ikisini, laktozu fermente eden (*Kluyveromyces marxianus*) ve etmeyen mayaları(*Saccharomyces spp.*) zorunlu olarak içeren ve bunun yanında *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Acetobacter* ve benzeri bakteri cinslerine ait türler bulunduran kefir danelerinin veya starter kültürlerin kullanıldığı fermente süt ürünü” olarak tanımlanmaktadır. Tarihinin Kafkaslara kadar uzandığı düşünülen kefir, faydalı özellikleri keşfedilmeye başlanan bir içecektir. Kefiri diğer süt ürünlerinden farklı kılan laktik asit ve alkol fermentasyonlarının birlikte gerçekleşmesi ve sonucunda oluşan aromatik bileşiklerdir. Yine diğerlerinden farklı olarak mayalardan kaynaklanan kendine özgü tada ve asetik asit, etanol, CO<sub>2</sub> gibi bileşenlerden kaynaklı köpüklü ferah içime sahiptir (Barukčić, Gracin, Režek Jamrak ve Božanić, 2017; Demir ve Gürses, 2018; Ak, 2018).

Kefirde bulunan laktik asit bakterileri laktaz enzimi salgılar ve sonucunda laktozu glikoz ve galaktoza parçalar. Ana kompozisyonu laktik asit, etanol ve karbondioksit oluştururken yardımcı bileşenler olarak karşımıza diasetil, asetaldehit, düşük moleküllü serbest yağ asitleri ve aminoasitler çıkar. Sütün sahip olduğu temel besin öğelerinin de büyük bir kısmını içermektedir. Lökönostoklar laktozu monomerlerine parçaladıktan sonra laktik asit, CO<sub>2</sub>, asetoin, diasetil, asetaldehit ve aseton oluşturur. Böylelikle sütün sindirimi de daha kolay bir hal almış olur. Fermentasyon B1, B12, K vitaminleri, folik asit, kalsiyum ve amino asitlerin içeriğini zenginleştirerek kefirin faydalı özelliklerini artırır (Kezer, 2013; Farag vd., 2020; Akdan, Kınık ve İçier, 2020). İdeal bir kefir parlak, kıvamlı fakat pürüzsüz, akıcı ve homojen bir yapıda olmalıdır. Bu şartları sağlarken sahip olması gereken pH aralığı 4.2-4.6 arası olarak

belirtilmektedir. Kefir bileşiminde %1 süt asidi, %0,5-2,0 oranında etil alkol bulundurmaktadır, protein içeriği %3-4 arasında değişmektedir (Eryılmaz, 2018).

## 1.2. Kefir Üretim Yöntemleri

Kefir, sütünkefir taneleriyle veya tanelerin izolasyonu sonucu elde edilen starter kültür ile aşılınmasıyla elde edilmektedir. Kefirin bileşimini, faydalı etkilerini, sütün özelliği kadar uygulanan kültürün çeşidi de etkilemektedir. Mikroorganizmaların sayısı ve türlerinin birbirine oranı da kefirin özelliklerini etkileyen kritik faktörlerdendir (Güzel Seydim, Wyffels, Seydim ve Greene, 2005; Barukčić vd., 2017; Akdan vd., 2020).

Geleneksel kefir üretiminde kefir taneleri kullanılmaktadır. Bu taneler sarımtırak küçük karnabahar görünümüne sahiptir. Taneler, çapları 3-35 mm arasında değişen düzensiz granüllerden oluşur. Kefir tanelerindeki bakteri ve mayalar “kefiran” adı verilen sümüksü bir polisakkarit matrisinin içinde bulunmaktadır. Bu yapının laktobasiller tarafından üretildiği düşünülse de kefiranın oluşum yolları henüz netlik kazanmamıştır. Fakat yapısının glikoz ve galaktozdan meydana gelen dallı hekza ve heptasakkaritlerin tekrar eden birimlerinden oluştuğu bilinmektedir (Güzel Seydim vd., 2005; Farag vd., 2020). Mikrobiyal popülasyonu büyük oranda laktobasillerden(%65-80) oluşur ve bunların asitin yarıya yakın miktarı L(+) olarak gözlemlenmiştir. Bu kompozisyon kefirin faydalı özelliklerinin artmasını sağlamaktadır. Mikroflorasında barındırdığı laktik asitler *Lactobacillus(L.) brevis*, *L. helveticus*, *L. kefiranofaciens* ve *Leuconostoc mesenteroides* olarak sıralanabilir. Geri kalanı ise laktokoklar ve mayalardır. Genellikle laktozu fermente eden (*Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Pichia fermentans*) ve etmeyen (*Saccharomyces cerevisiae*) mayaları içerir (Liu, Lin, Chen, Chen ve Lin, 2005; GüzelSeydim vd., 2005; Çetinkaya ve Elal Muş, 2012; Ak, 2018; Benzer Gürel vd, 2021,). Tanelerin bünyesindeki bu maya ve bakteriler kefire probiyotik özelliği katan majör faktörlerdir. Mayalanma sırasında ortaya çıkan faydalı bileşikler kefirin besleyiciliğini artırmaktadır (Libudzisz ve Piatkiewicz, 1990). Geleneksel yöntemin zayıf yönlerine bakılırsa, ticari üretimde standardizasyonun ve kesintisiz üretimin sağlanamaması olarak karşımıza çıkar. Çünkü kefir taneleri birbirinden farklı içeriğe sahiptir ve sütün fermantasyonunda her zaman aynı bakteriler aynı etkinlikte rol alamazlar ve sonuçta oluşan ürünler de farklı olacaktır. Ayrıca geleneksel yöntemde

iki aşamalı mayalanma olduğu için kefir üretimi kesintiye uğramaktadır. Kefir üretim yöntemlerinde taneler, starter kültür ve sıcaklığın etkisini araştıran bir çalışmada kefir tanelerinin kullanılmasıyla fermantasyon süresinin arttığı ve daha yüksek miktarda etanol üretildiği gözlemlenmiştir. Duyusal analizde ise en yüksek puanlar starter kültür ve kefir tanesinin eşit miktarda kullanılarak üretildiği kefirler için beyan edilmiştir. Kefir tanelerinin miktarının artması ile panelist puanlarının da arttığı belirtilmiştir (Barukčić vd., 2017).

Ticari yöntemle kefir üretiminde ise starter kültürler kullanılmaktadır. Starter kültür kefir tanelerinden izole edilerek üretilmektedir. Püskürterek veya dondurularak kurutulan (liyofilize) kültürlerde meydana gelen mikroorganizma canlılığı kaybı bu yöntemin zayıf yönlerindendir. Çünkü faydalı bakterilerin kaybı kefirin probiyotik özelliğinin azalmasına sebep olmaktadır. Ayrıca mayalar karbondioksit oluşumunu artırdıkları için ambalaja zarar verirler ve bu yüzden ticari yöntemle üretimde maya kullanılmamaktadır. Maya yerine streptokoklar eklense de kefirin sahip olması gereken köpüksü yapıya ulaşılamamaktadır. Fakat bu yöntem sayesinde geleneksel üretime göre daha uzun raf ömrü ve kolay muhafaza şartları sağlanmaktadır (Frag vd., 2020; Akbulut Ataman, 2020). YılmazErsan, Akpınar Bayizit ve Sahin (2018) çalışmalarında kefir taneleri ile yapılan fermantasyonda DPPH(2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikali süpürme yeteneği fazlayken, starter kültür kullanıldığında ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) radikali süpürme yeteneği yüksek bulunmuştur. Bu farklılığın antioksidan özellik gösteren bileşenlerin çeşitliliğinden de kaynaklanabileceğini vurgulamışlardır.

Backslopping ise kullanılan başka bir yöntemdir ve geleneksel üretimin devamı niteliğindedir. Süt geleneksel yöntem ile mayalandırılarak kefir elde edilir. Bu elde edilen kefirde bir miktar eklenen süt ile kefir taneleri kullanılarak üretim yapılırsa bu basamak “backslopping” olarak adlandırılır. Bu yöntemle mikroorganizma hareketlerini ve metabolik değişimleri ivme kazandırarak fermantasyon sürecini hızlandırma amaçlanmaktadır (Frag vd., 2020).

Kefir genellikle inek sütünden üretilse de farklı hayvansal (inek, koyun, keçi, deve veya manda) ve bitkisel (yulaf, badem, soya) sütler de kullanılabilir. Kullanılan sütün türü ve birçok çevresel faktör kefirin fizikokimyasal, yapısal, duyusal, mikrobiyolojik ve fonksiyonel özelliklerini etkileme kapasitesine sahiptir. Dolayısıyla standardizasyonu sağlamak pek güçtür (Atalar, 2019). Gürsoy vd. (2020)

yaptıkları bir çalışmada Türkiye’de popüler olan ticari kefir markaları karşılaştırmış ve örnekler arasında fizikokimyasal özellikler açısından önemli farklılıklar bulunduğu belirtilmiştir. Sterilize edilmiş süte aktif kefir taneleri farklı oranlarda eklenerek aşılanmaktadır. Bu miktar çalışmalarda 50 g/litre olarak, 50 ml UHT süt için 1,3 gram şeklinde veya %10-%20 oranlarında olmak üzere kefir tanesine ve kullanılan süte göre değişiklik göstermektedir. Aşılanan sütler 18-25°C’de 20-24 saat arası mayalanmaya bırakılır, pH değeri 4,5-4,8 arasında ölçüldüğünde fermantasyon tamamlanır. Daha sonra taneler tekrar kullanılmak üzere süzüntüden ayrılır, elde edilen kefir ise 4°C’de muhafaza edilir. Ticari üretim adımları da kefir tanelerinin süzülme basamağı olmaksızın ilerlemektedir. Starter kültür miktarı firmaya göre farklılık gösterir ve kullanım önerileri dikkate alınmalıdır (Liu vd., 2005; Çetinkaya ve Elal Muş, 2012; Barukčić vd., 2017; Ak, 2018; Atalar, 2019; Akdan vd., 2020).

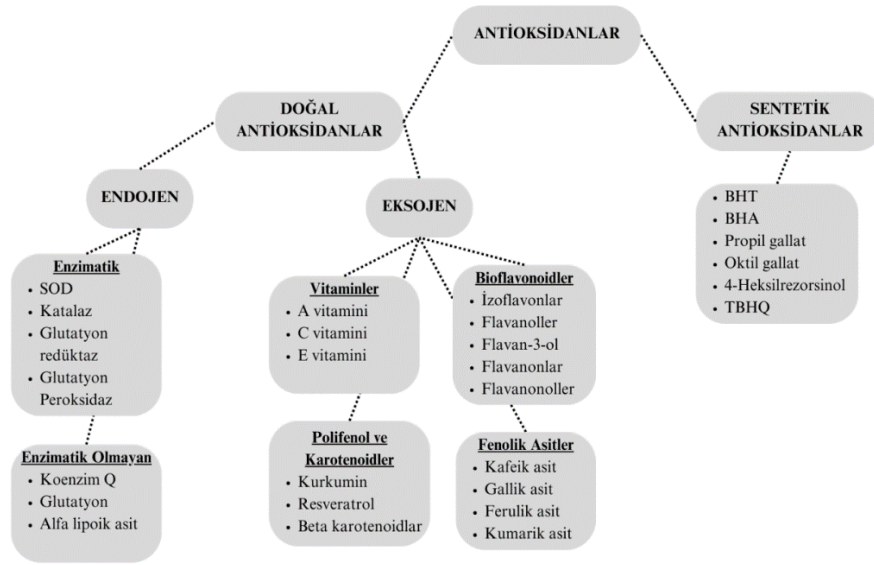
### **1.3. Kefirin İnsan Sağlığına Etkileri**

Kefirin sağlığı koruyucu ve tedavi edici birçok faydaları bulunmaktadır. Esansiyel bir aminoasit olan triptofanı ve Ca, Mg minerallerini içerdiği için sinir sisteminde etkilidir (Barukčić vd. 2017; Eryılmaz, 2018). Sütün fermantasyonu sırasında oluşan kefiran, laktik asitler ve biyoaktif peptitler kefire önemli antihipertansif, antioksidan, antialerjenik, antitümör, antimikrobiyal, antiinflamatuvar ve kolesterol düşürücü özellikler kazandırır (Shiby ve Mishra, 2013; Aiello vd., 2020).

#### **1.3.1. Kefirin Antioksidan Özelliği**

İnsan vücudunda antioksidan savunma ve serbest radikaller arasında meydana gelen dengesizlik sonucu oksidatif stres ortaya çıkar. Kararsız yapıda ve başka bileşenlerle hızlı reaksiyon verebilen, eşleşmemiş elektronlara sahip molekül veya iyonlar “serbest radikaller” olarak tanımlanmaktadır. Antioksidan savunmanın zayıf olduğu durumlar insan sağlığını tehdit etmektedir. Oksidatif stresin sebep olduğu membran fosfolipid, protein ve DNA hasarı, LDL modifikasyonu gibi çeşitli bozukluklar, kanser, diyabet, hipertansiyon gibi çeşitli hastalıklar belirtilmiştir. Oksidasyon basamaklarını engelleyen, duraksatan veya reaksiyon ürünlerinin zararını hafifleten maddeler antioksidan olarak tanımlanmaktadır. Antioksidanlar doğal, sentetik, endojen, eksojen, enzimatik gibi başlıklar altında kategorize edilmektedir (Şekil 2.1) (Yılmaz Ersan vd., 2018; Ayed vd., 2020; Gülçin, 2020; Kotha, Tareq, Yıldız ve

Luthria 2022; LosadaBarreiro, Sezgin Bayindir, Paiva-Martins, ve Bravo-Díaz, 2022).



Şekil 1.1. Antioksidanların Sınıflandırılması (Güneş ve Gökgez, 2024)

İnsanlar sentetik antioksidanları toksik ve kanserojen etkilerinden dolayı tercih etmemekte ve doğal antioksidanlara merak duymaktadır. Kefir, oksidatif hasardan sorumlu bileşenlerle etkileşime girme kapasitesi yüksek, antioksidan, fonksiyonel bir içecektir. Proton verme yetenekleri, indirgeme güçleri, DPPH ve ABTS serbest radikallerini süpürme özellikleri, lipid peroksidatif inhibisyon kapasitesi yapılan çalışmalarda beyan edilmiştir (Liu vd., 2005; Perna, Simonetti ve Gambacorta, 2019). Süt ve ürünlerinin antioksidan özellik göstermesini sağlayan bileşenler: peynir altı suyu proteinleri, kazein, bu proteinlerin katabolizması sonucu ortaya çıkan monomerler (özellikle peptitler), A, C ve E vitaminleri, karotenoidler, laktik asit bakterileri ve enzimler olarak sıralanmaktadır (Benzer Gürel, 2020). Kefir taneleri ile fermente edilen sütlerin, edilmeyen sütlere kıyasla DPPH aktivitesinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. *Lactobacillus casei* tarafından fermente edilen yağsız sütün DPPH radikal temizleme aktivitesini artırdığı gözlemlenmiştir. Bu durum da kazein kaynaklı peptitlerin radikal temizleme aktivitesini artıran faktörlerden biri olabileceğini akla getirmektedir. Dolayısıyla kefirin proton verme kapasitesinin daha yüksek olması sayesinde serbest radikallere karşı koruma sağlayabileceğini ortaya koymuşlardır (Liu vd., 2005)

Metal iyonları, serbest radikal oluşumunu artırdığı için lipid peroksidasyonuna, kardiyovasküler hastalıklara, kanser ve artirit gibi durumlara sebep olabilmektedir.

Metal iyon konsantrasyonunu azaltma yollarından birisi de bu iyonların şelatlanması/indirgenmesidir. Sütün bileşiminde bulunan laktoferrin ve serum albümininin yüksek oranda demir şelatlama kapasitesine sahip olduğu belirtilmiştir (Liu vd., 2005).

Fenolik bileşikler, bir veya daha fazla hidroksil kümesine sahip olan en az bir aromatik halka içeren bileşiklerdir. Kimyasal yapılarına, özellikle karbon atomu gruplarına ve karbon iskeletinin temel yapılarına göre kategorize edilebilirler(Çizelge 2.1) (Ayed vd., 2020). Fenolik ve flavonoid bileşikler besinlerin serbest radikallere karşı savunmasını güçlendiren maddelerdir. Miktarları arttıkça ürünlerin antioksidan kapasitesini de artırır. Bu sebeple besinlerin antioksidan kapasiteleri incelenirken hem fenolik hem flavonoid madde miktarına bakılmalıdır. Çalışmalar fenolik bileşikten zengin bitkilerin aynı zamanda güçlü antioksidanlar olduğunu söylemektedir (Basiri, 2015; Ayed vd., 2020).

**Çizelge 1.1.** Fenolik Bileşiklerin Grupları ve Sağlığa Olan Faydaları (Ayed vd., 2020)

| Fenolik Bileşikler | Gruplar                                                                                   | Sağlığa Faydaları                                                                                                                                                                                                              |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Fenolik Asitler    | Hidroksibenzoik<br>Hidroksisinnamik                                                       | Antioksidan<br>Antikanser<br>Anti-inflamatuar<br>Antimikrobiyal<br>Antidiyabetik<br>Antikolesterolemik<br>Antihipertansif                                                                                                      |
| Flavonoidler       | Antosiyaninler<br>Kalkonlar<br>Flavanonlar<br>Flavonlar<br>Flavanoller<br>İzoflavonoidler | Antioksidan<br>Antidiyabetik<br>Antikanser<br>Antimikrobiyal<br>Antidiyabetik<br>Antikolesterolemik<br>Kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi<br>Pankreatik ödemlerin azaltılması<br>Fito-östrojenik<br>Bağışıklığı artırması |
| Tanninler          | Hidrolize tanenler<br>Yoğunlaştırılmış tanenler                                           | Anti-inflamatuar<br>Antibakteriyel<br>Antidiyabetik<br>Antikolesterolemik<br>Antikanser                                                                                                                                        |
| Stilbenler         | -                                                                                         | Antioksidan<br>Anti-inflamatuar<br>Antialerjik, Antiaging<br>Antikanser                                                                                                                                                        |
| Liganlar           | -                                                                                         | Antioksidan<br>Antikanser                                                                                                                                                                                                      |

## 1.4. Meyve Yan Ürünleri

Tarımsal ve endüstriyel atıklar, çevresel ve ekonomik sorunlar olarak karşımıza çıkmaktadır. Halbuki bu atıklar son zamanlarda da görüldüğü üzere çok kıymetli ikincil metabolit rezervleridir. Özellikle bitkisel orijinli yan ürünler çevre dostu, daha ekonomik ve daha ulaşılabilir atıklardır. Bu ürünler, besinleri çeşitlendirmek, fonksiyonel özelliklerini geliştirmek gibi amaçlarla kullanılmaktadır. Ekstraktlar ve esansiyel yağ halinde kullanılan nutrasotik bitkiler, GRAS (Genel Olarak Güvenli Olarak Tanınan) olarak kabul edilir ve süt ürünleri de dahil olmak üzere besinlere dahil edilmeye uygundur (Aiello vd., 2020; Carullo vd., 2022b). Meyve yan ürünleri (MYÜ) meyvelerin işlenmesiyle ortaya çıkan sap, kabuk, tohum ve küspe gibi önemli besin öğeleri ve biyoaktif bileşikler içeren kısımlarıdır. Besinleri fermentasyona katkıda bulunarak ve fonksiyonel bileşenlerin oluşmasına yardımcı olarak zenginleştirme potansiyeli taşırlar. Örneğin mango kabuklarını fermentasyon aşamasına katarak kefir üretilmiş ve yapılan mikrobiyolojik analizler, DPPH, ABTS ve FRAP gibi antioksidan analizleri sonucunda probiyotik potansiyeli taşıyan antioksidan kapasitesi yüksek fonksiyonel içecek elde edildiği belirtilmiştir (Vicenssuto ve de Castro, 2020).

Son zamanlarda zenginleştirilmiş kefir bazlı içeceklerin sayısının arttığı görülmektedir. İçeriğin zenginleştirilmesi için meyve ve bitkisel ekstrakt kaynaklı antimikrobiyal ve antioksidan özellikteki biyoaktif moleküller, kefirin nutrasotik faydalarını artırabilecek uygun kaynaklar olarak önerilmiştir. Şarap yapımında kullanılan MYÜ, domates çekirdekleri ve mango kabuğunda bulunan önemli biyoaktif bileşikler kefir üretimi için önerilmektedir. Bu substratların kefirin antioksidan aktivitesini artırdığı, bağırsak mikrobiyotasını geliştirdiği ve duysal özelliklerini güçlendirdiği gösterilmiştir (Aiello vd., 2020). Yılmaz Ersan vd. (2024) kefir bazlı lahana ve ıspanaklı smoothiler hazırlayarak sindirim sürecini değerlendirmişlerdir. Besin değerlerinin zenginleştiğini, lahanalı smoothie'nin toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik içerik, DPPH, FRAP ve CUPRAC değerlerinin önemli ölçüde artırdığını beyan etmişlerdir. Vimercati vd. (2020) ise kahve aromalı kefir hazırlayarak etkilerini gözlemlemişler, besin kalitesini artırdığını ve antioksidan özelliğin geliştiğini belirtmişlerdir. Kefirin antioksidan özelliğinin geliştirdiği sonucuna varılan çalışmalarda kefire peynir altı suyu, süt, hurma özütü ve palmye özütü, soya sütü, *Acromia aculeata* bitki tozu ve inülin

takviyesi, *Arbutus unedo L.* ve *Tamarindus indica L.* meyveleri, stevia, keşiş meyvesi özü gibi çeşitli maddeler eklenmiştir (Silva, Santana, Almeida, Takeuchi ve Egea, 2021; Kulaksız Günaydı ve Ayar, 2022; M'hir, Ziadi, Mejri ve Ayed, 2023).

#### 1.4.1. Üzüm Çekirdekleri

Üzümlerin sahip olduğu biyoaktif bileşenler fenolik asitler, stilbenler, flavonoidler(flavonoller, flavanoller, antosiyaninler, kateşinler ve proantosiyanidinler), hidroksisinnamik ve hidroksibenzoik asit türevleri olarak belirtilir. Bu bileşenler sayesinde yüksek antioksidan, antifungal, trombosit agregasyonu ve insan LDL oksidasyonunun inhibisyonu gibi özellikler göstermektedir. Üzüm yan ürünleri (kabuk, tohum, sap) zengin bir fitokimyasal kaynağıdır. Avrupa'da yıllık üretiminin 24,5 milyon ton olduğu tahmin edilmektedir. Üzüm çekirdekleri polifenolden zengin, spesifik flavanoller barındıran,yüksek miktarda linoleik asit, oleik asit,oleanoik asit ve karotenoid içerenbir yan ürün örneğidir. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), üzüm çekirdeği veya ekstraktlarının besinlerde doğal bir antioksidan veya emülgatör olarak kullanılmasını GRAS olarak onaylamıştır(Chouchouli vd., 2013; Ayed vd., 2020; Carullo vd., 2022b).

Üzüm posası da şarap üretimi sonucunda ortaya çıkan endüstriyel atık ürünüdür. Sentetik olarak piyasada satılan antioksidanlara karşın doğal ve sağlıklı alternatif olarak gösterilmektedir. Son ürünün besinsel özelliklerini zenginleştirme potansiyeli göstermektedir. Örneğin *Vitis vinifera* vc. *Tannat*, dünyada bazı bölgelerde yetiştiriciliği yapılan kırmızı üzüm türüdür. Şarap üretiminde kullanıldıktan sonra posa kurutulup öğütülerek toz halinde getirilir ve bisküvi yapımında kullanılır. Sonuç olarak DPPH ve FRAP analizleri sonucu antioksidan kapasitede artış sağlandığıbelirtilmiştir (Carullo vd., 2020a).İkincil metabolitlerden olan polifenoller, serbest radikallerin temizliği, metal şelatlanması, lipid peroksidasyonu ve DNA hasarını önleyici etkileri ile güçlü antioksidan aktivitelere sahiptir. Yunan üzüm çeşitlerinin çekirdeklerindeki polifenollere bakıldığında %63-65 oranında epikateşin ve kateşinin baskın olduğunu gözlemlenmişlerdir (Chouchouli vd., 2013).

#### 1.4.2. Nar Çekirdekleri

Nar çekirdekleri, nar suyu endüstrisinin yan ürünleridir. E vitamini, punikalagin izomerleri, ellagik asit türevleri ve antosiyaninler (delphinidin, siyanidin ve pelargonidin 3-glikozitler ve 3,5-diglikozitler), steroller, punik asit, önemli yağ

asitleri, doğal östrojenler(estradiol, estron, andestriol), amino asitler, tokoferollergibi güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar bileşikler içerirler.Diyet lifi açısından zengin olması nedeniyle kardiyovasküler hastalık risikini azaltıcı özellik gösterirler. Nar çekirdeğinin 100 gramında 37,10 g protein, 21,25 g yağ, 7,20 mg fenolik madde, 2,44 g kül bulunmakta ve %50,93 kuru maddeden oluşmaktadır (Basiri, 2015; İrkin vd., 2023; Çalışkanlar vd., 2023).

Siyah üzüm ve nar çekirdekleri yoğurt kültürleri ile birlikte süte eklenmiş ve fermentasyona tabi tutulmuşlardır. Toplam fenolik bileşiklere bakıldığında sade yoğurdun fenolik değerinin en düşük, nar çekirdeği içerenin en yüksek değere sahip olduğu, DPPH ve ABTS analizleri yapılarak antioksidan kapasitenin de arttığı belirtilmiştir (Çalışkanlar vd., 2023).Başka bir çalışmada (Elaltunkara, 2018) nar kabukları ve çekirdekleri yoğurtla birlikte kullanılmış fizikokimyasal ve antioksidan özellikleri araştırılmıştır. Bu çalışmada ürünlerin prebiyotik potansiyel taşıdığı, ürünlerin eklenmesiyle yoğurtların antioksidan aktivitesini ve toplam fenolik bileşik miktarını artırdığı, fonksiyonel bir ürün elde edildiği sonuçlarına varılmıştır. Nar kabuğu tozu farklı oranlarda eklenerek deve sütünden üretilen kefire katılmış, ABTS, DPPH ve FRAP değerlerine bakılarak antioksidan özelliği artırdığı, fizyolojik ve duyuşal değerlendirmelerinin olumlu sonuçlandığı tespit edilmiştir (Mortazavi, Jalali, ve Ziaolhagh,2021). Nar suları birçok çalışmada kefire eklenerek veya kefir mayası ile fermente edilerek kullanılmış, yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve duyuşal olarak da yüksek puan aldığı gözlemlenmiştir (Aiello vd., 2020).

#### **1.4.3. Kuşburnu Çekirdeği**

Kuşburnu ülkemizde yetişen bir meyve türüdür ve birçok alanda farklı şekillerde (marmelat, reçel, bitki çayı, kurutulmuş, dondurulmuş vb.) kullanılmaktadır. C vitamini açısından zengin, fenolik madde(hidroksisinamik asit, kateşin, kuarsetin) ve karotenoid (likopen,  $\beta$ -karoten ve ksantofil) içeriği yüksek bir besindir. Sahip olduğu çeşitli biyoaktif bileşenler sayesinde birçok hastalığın tedavisinde ve önlenmesinde yardımcı bir besin potansiyeli taşımaktadır (Demir ve Gürses, 2022).Kuşburnu birçok meyve ve sebzeden daha fazla C vitamini içermektedir. Bu sebeple Avrupa'da çay ve vitamin takviyesi olarak tüketime sunulmaktadır. Kuşburnu yan ürünü olan çekirdekleri ise hayvan beslenmesinde kullanılmaktadır. Çekirdek kısmının meyvesinden daha düşük miktarda karbonhidrat, daha yüksek oranda

protein ve lipid içeriğine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Kuşburnu tohumunun toplam fenolik içeriği nar çekirdeğinden daha fazla, antioksidan kapasitesi üzüm çekirdeğinden daha az, askorbik asit içeriği ise turuncgillerden daha fazla olduğu beyan edilmiştir. Yüksek besin değeri ve enerji kapasitesi ile besin takviyesi olarak kullanımı önerilmektedir. Ayrıca yüksek oranda diyet lifi, polifenoller, vitamin ve mineraller içerdiği için prebiyotik özellik taşımaktadır (İlyasoğlu, 2014).

Kuşburnu çekirdekleri probiyotik özellikli yoğurda eklenmiş ve yoğurdun protein, toplam fenolik içerik ve DPPH analizleri sonucu antioksidan değerlerini artırdığı, ancak duyuşal puanları daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Gürbüz ve Demirci, 2023). Özçelik vd. (2021) yaptıkları çalışmada kuşburnu, nar, kırmızı erik, alıç ve kızılıçık gibi meyvelerin suları su kefir ile fermente edilerek farklı içecekler üretilmiştir. Bu çalışmada en yüksek fenolik bileşik ve DPPH radikali temizleme yeteneği kuşburnu ve nar, en yüksek probiyotik bakteri ise kuşburnu içeceğinde saptanmış, duyuşal analizde de nar ve kuşburnunun daha yüksek puanlar aldığı, elde edilen fonksiyonel içeceklerin yüksek antioksidan kapasitede olduğu, meyve sularının kefir bakterileri ile sinerjistik ilişki gösterdiği ve olumlu fizikokimyasal sonuçlar doğurduğu belirtilmiştir. Çeşitli bitki ekstraktlarının süt ürünlerine farklı kombinasyonlarla eklenerek elde edilen fonksiyonel ürünlerin duyuşal, fizikokimyasal ve antioksidan özellikleri incelenmiş, kuşburnu çekirdeği ve acı portakal kabuğu ile zenginleştirilmiş kefirin, sade ürünlere kıyasla daha yüksek antioksidan ve fenolik içeriğe sahip olduğu beyan edilmiştir (Kandyliari vd., 2023).

## 1.5. Fonksiyonel Besinler

“Fonksiyonel gıda/besin” terimi ilk olarak 1984 yılı Japonya’da ortaya çıkmış ve insan sağlığını iyileştirme amacıyla sunulmuş, ilerleyen zamanlarda Avrupa’da yaygınlaşmıştır. “Belirli bir besin değerini artırmak veya vurgulamak amacıyla besin öğelerinin veya bileşenlerin eklendiği besinler” olarak tanımlanmaktadır. Normal besinlerden farklı anılması hastalık risklerini azaltma, yaşam kalitesini artırma, besleyici olma ötesinde tedaviye katkıda bulunma özelliklerini taşımasındandır (Domínguez Díaz, Fernández Ruiz ve Cámara, 2020). Bu besinler doğal formlarında veya faydalı bileşenler eklenmiş veya biyotransformasyon ya da genetik modifikasyona uğramış şekilde karşımıza çıkabilir. Antiinflatuar, antikanser, antikolesterolemik, antioksidan, antihipertansif, bağışıklık güçlendirici,

kalp sağlığını koruyucu gibi daha da zenginleştirilebilen etkileri bulunmaktadır. Bitkisel, hayvansal kaynaklı veya mikrobiyal olarak gruplandırılmıştır (Kayode, Ohanaka, Kolawole, Afolabi ve Iyobhebhe, 2023).

Fermantasyon, besinlerdeki diyet polifenollerinin aktivitelerini artıran ve bu bileşiklerden daha fazla yararlanmamızı sağlayan etkin bir yöntemdir. Probiyotik strnleri bileşimindeki mikrobiyota sayesinde fonksiyonel besin olarak değerlendirilebilmektedir. Dolayısıyla bazı ekstrakt takviyeleriyle veya kefir taneleri kullanılarak ko-fermentasyon işlemiyle zenginleştirilmiş kefirler elde edilmektedir (Akdan vd., 2020; Aiello vd., 2020).

zm, nar ve kuşburnu çekirdekleri farklı oranlarda(%10, %20, %30) unlara eklenerek erişte yapılan ve bu yeni ürünlerin antioksidan, duysal ve fiziksel özellikleri incelenen bir çalışmada(Koca vd., 2018) antioksidan özellik üzüm çekirdeğinde, protein ve lipit oranı nar çekirdeğinde, oleik, linoleik ve linolenik asitlerin ise kuşburnu ve üzüm çekirdeğinde daha yüksek olduğu,çekirdeklerin miktarları arttıķa antioksidan aktivitelerinin de doğru orantılı arttığı belirtilmiştir. Bu çalışmada toplam fenolik bileşik, DPPH, FRAP ve ABTS analizlerine bakılarak antioksidan kapasiteleri artırılmış birbirinden farklı fonksiyonel ürünler elde edilmiştir. En yüksek duysal puanı ise nar çekirdeği kullanılan erişte almıştır.

Kefir, bakliyat yan rnlerinindeğerlendirilmesinde(bileşenleri taşıma ve tarımsal israfı azaltmada) kullanılabilecek işlevsel bir araç sayılmaktadır. Bakla yan ürünlerinin(kabuk ve enek kısımları) kefire eklenmesiyle yapılan çalışmada takviyenin toplam fenolik bileşenleri(gallik ve protokatekuik asitler), flavonoidleri(kateşin, epikateşin ve rutin) ve antioksidan aktiviteyi artırdığı belirtilmiştir. Bakliyat bileşenlerinin potansiyel prebiyotikler olduğu, kefir bünyesindeki faydalı bakterilerin çoğalmasını sağladığı ve polifenoller sayesinde güçlü antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Saadi vd., 2017).

Benzer amaçlarla kefire havuç lifleri, enkapsüle zeytin yaprağı ekstraktı eklenmiş ve duysal özelliklerin geliştiği açıklanmıştır (Mutluer, 2021; Akçay Salık vd., 2023). Eşek sütü kullanılarak üretilen kefir çalışmasında sulla balı ve biberiye yağı takviyeleri kullanılmış, FRAP ve ABTS analizlerinde yüksek değerler saptanmıştır. Biberiye yağının polifenol içeriğinin daha zengin olduğu, duysal olarak sulla balının daha çok tercih edildiği tespit edilmiştir (Perna vd., 2019). Keçi sütü kullanılan bir

diğer çalışmada ise tarçın ve zencefil ile zenginleştirilen kefir üretilmiş, DPPH değeri ve yağ içeriğinin artış gösterdiği, duyusal olarak kabul edilebilir olduğu belirtilmiştir (Setiyoningrum, Priadi ve Afiati,2019). Demir ve Gürses (2022) %0, %10 ve %15 oranlarında kuş burnu marmelatı içeren kefir geliştirerek bileşimindeki C vitamini konsantrasyonunu artırdığı ve hem probiyotik hem de prebiyotik özellikte fonksiyonel bir besin ürettikleri sonuçlarına varmışlardır. Bu çalışmada kefire farklı oranlarda elma ve limon lifleri eklenerek fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal açıdan kefiri olumlu etkilediği belirtilmiştir. Sonuçların diyet lifi artışına bağlı olarak iyileşme gösterdiği, %0,25 veya %0,5 oranlarında elma ve limon lifi takviyesinin başarılı sonuç verdiği gözlemlenmiştir (Göncü vd., 2017).

## **1.6. Tezin Amacı**

Canlı vücudunun serbest radikallere maruziyetinin artması sonucu antioksidan savunma sistemi yetersiz kalmakta ve insan sağlığını tehdit eden oksidatif stres vücudumuzda birçok rahatsızlığa sebep olmaktadır. Kefir, barındırdığı probiyotik bakteri ve mayalar, bileşimindeki çeşitli moleküller ile antioksidan savunmasını destekler. Meyvelerin işlenmesinden arda kalan kabuk, posa, çekirdek gibi yan ürünler yüksek antioksidan kapasitesine sahiptir. Bu tez çalışmasında Delice Beyazı üzümü (DBÜ), siyah üzüm, nar ve kuşburnu meyve çekirdekleri tozlarının, kefirin ve meyve çekirdeklerinin kefirle birleşiminden elde edilen fonksiyonel besinlerin çeşitli yöntemlerle (DPPH, ABTS, FRAP ve CUPRAC) antioksidan özelliklerinin incelenmesi ve içerdikleri toplam fenolik ve flavonoid bileşik miktarlarının belirlenmesi amaçlanmaktadır. Sonuçta elde edilen fonksiyonel besin karışımının hastalıklara karşı koruyucu etkisinin ve laktoz intoleranslı bireylere alternatif kaynak sunması açısından ümit verici olabileceği düşünülmektedir.

## 2. MATERİYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Sarf Malzemeler

Çalışmada kullanılan cihaz ve sarf malzemeler Çizelge 2.1 ve 2.2’ de verildi.

**Çizelge 2.1. Sarf Malzeme Listesi**

| Sarf Malzeme                                                                        | Marka&Menşei                            |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| Kefir mayası                                                                        | Endanem, Türkiye                        |
| İnek sütü (UHT)                                                                     | Tarım Kredi Kooperatifi, Türkiye        |
| Delice beyazı üzümü                                                                 | Delice Tarım Kredi Kooperatifi, Türkiye |
| Siyah üzüm, nar ve kuşburnu çekirdeği tozu                                          | Glokim, Türkiye                         |
| Diklorometan                                                                        | 24233 Sigma, ABD                        |
| Hekzan                                                                              | 208752 Sigma, ABD                       |
| Metanol                                                                             | 32213 Sigma, ABD                        |
| Etanol                                                                              | 493511 Sigma, ABD                       |
| Sodyum hidroksit (NaOH)                                                             | 72068 Sigma, ABD                        |
| Fenolftalein                                                                        | 105945 Sigma, ABD                       |
| Sodyum nitrat (NaNO <sub>3</sub> )                                                  | S5506 Sigma, ABD                        |
| Sodyum karbonat (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )                                  | 223530 Sigma, ABD                       |
| Amonyum asetat (CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> NH <sub>4</sub> )                   | 431311 Sigma, ABD                       |
| Hidroklorik asit (HCl)                                                              | 258148 Sigma, ABD                       |
| Dimetil sülfoksit ((CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO)                              | D2650 Sigma, ABD                        |
| Bakır (II) klorür (CuCl <sub>2</sub> )                                              | 751944 Sigma, ABD                       |
| Potasyum persülfat (K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> )                  | 216224 Sigma, ABD                       |
| Folin-ciocalteu                                                                     | F 9252 Sigma, ABD                       |
| 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil                                                        | D9132 Sigma, ABD                        |
| 2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine                                                    | 93285 Sigma, ABD                        |
| Neokuprin (C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> )                         | N1501 Sigma, ABD                        |
| Glacial asetik asit(CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> H)                              | 71251 Sigma, ABD                        |
| ABTS(C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub> S <sub>4</sub> ) | A1888 Sigma, ABD                        |
| Otomatik pipet                                                                      | Eppendorf, Almanya                      |
| 96 kuyucuklu mikropłaka                                                             | Well Cell Culture Plates, ABD           |

**Çizelge 2.2. CihazlarListesi**

| Cihazlar                               | Marka&Menşei                      |
|----------------------------------------|-----------------------------------|
| Etüv                                   | Nüve-EN 055, Türkiye              |
| Hassas analitik terazi                 | Precisa XB 220A SCS, İsviçre      |
| Hububat öğütücü                        | Demsan 500g, Türkiye              |
| Ultrasonik banyo                       | Wisd WiseClean, Almanya           |
| Biyolojik güvenlik kabini              | Esco Airstream Class II, Singapur |
| Spektrofotometre                       | Allsheng AMR-100, Türkiye         |
| pH metre                               | Hanna HI 2020-02 Edge, Rusya      |
| Karıştırma cihazı                      | IKA Vortex 4 Basic, Türkiye       |
| Sirkülasyon Pompası                    | Lauda ECO SILVER, Türkiye         |
| Evaporatör                             | Buchi Rotary, İsviçre             |
| Otomatik azot ve protein analiz cihazı | Velp NDA 701, İtalya              |
| Masaüstü santrifüj cihazı              | Nüve NF 200 , Türkiye             |

### **2.1.2. Kefir Üretimi**

Kefir geleneksel yöntem ve backslopping yöntemi ile üretildi. İlk önce 45 g kefir mayası (Şekil 2.1.) 250 ml UHT süt ile karıştırıldı ve 25°C’de 12 saat bekletilerek aktifleştirildi. Aktif hale gelen kefir taneleri plastik süzgeçte süzüldü ve distile su ile yıkandı. Oda sıcaklığındaki 500 ml UHT süte 45 g kefir tanesi eklendi. Cam kavanoz içerisinde üzeri steril bez ile kapatılarak etüvde 25°C’de 20-25 saat boyunca karanlıkta inkübasyona bırakıldı. pH değeri 4,5-4,7 aralığına düştüğündefermantasyon sonlandırıldı, kefir taneleri süzüldü ve 4°C’de bir gün boyunca dinlendirildi. Aynı yöntemle yeni kefir üretmek için oda sıcaklığındaki 500 ml UHT süte 45 g kefir tanesi ve 80 ml önceki hazırlanmış kefirten ilave edildi. Bu karışım cam kavanoza koyularak etüvde 25°C’de 20-25 saat boyunca karanlıkta inkübasyona bırakıldı ve pH değeri 4,5-4,7’de aralığına düştüğünde fermentasyon sonlandırıldı. Kefir taneleri süzüldü ve 4°C’de süt-kefir karışımı içerisinde tekrar kefir üretiminde kullanılmak üzere muhafaza edildi.Backslopping denilen bu besleme yöntemi geleneksel yöntemin bir parçası olmakla birlikte mikroorganizma hareketlerini hızlandırır ve fermentasyonu geliştirir (Farag vd., 2020).



**Şekil 2.1.** Kefir Mayası

### **2.1.3. MYÜ'nün Eldesi**

Delice beyazı üzümü (*Vitis Vinifera* vc Delice) (Şekil 2.2) Kırıkkale ili Delice ilçesinden temin edildi. Üzümler sap ve yapraklarından ayrılarak distile su ile yıkandı ve steril ortamda çekirdekleri çıkarıldı. Çekirdekler de distile su ile yıkandı ve 40°C'de etüvde kurumaya bırakıldı. Çekirdekleri ayrıldıktan sonra geriye kalan meyve kısmı dadistile su ile yıkandı ve 40°C'de etüvde kurumaya bırakıldı. Delice beyazı üzüm çekirdekleri (Şekil 3.3) ve meyvesi nemi uçurulduktan sonra hububat öğütücüsünde (Şekil 3.9) toz hale (Şekil 3.4 ve Şekil 3.5) gelinceye dek öğütüldü. Siyah üzüm (Şekil 3.6), nar (Şekil 3.7) ve kuşburnu (Şekil 3.8) meyvelerinin çekirdek tozları ise tekrar öğütülerek partikülleri inceltildi.



**Şekil 2.2.**Delice Beyazı Üzümleri



**Şekil 2.3.**Beyaz Üzüm Çekirdeği



**Şekil 2.4.**Öğütölmüş Beyaz Üzüm Çekirdeği Tozu



**Şekil2.5.** Öğütölmüş Beyaz Üzüm Meyvesi Tozu



**Şekil 2.6.**Öğütülmüş Siyah Üzüm Çekirdeği Tozu



**Şekil 2.7.** Öğütülmüş Nar Çekirdeği Tozu



**Şekil 2.8.** Öğütülmüş Kuşburnu Çekirdeği Tozu



**Şekil 2.9.** Hububat Öğütücü

#### **2.1.4. MYÜ'nün Kefire Eklenmesi**

100 ml kefire önce 0,1g, 0,3g ve 0,5g olacak şekilde farklı miktarlarda ürün eklendi ve doku, kıvam ve lezzet açısından değerlendirilerek ideal oranın 0,5 g olduğuna karar verildi. Sonrasında 100 ml kefire 0,5 g miktarında beyaz üzüm, siyah üzüm, nar ve kuşburnu çekirdeği tozlarından ayrı ayrı ilave edilerek vortekslendi. Karışımlar kefirdeki probiyotik bakteriler ile prebiyotik özellikli tozların etkileşime girmesi için bir gün boyunca 4°C'de muhafaza edildi (Eryılmaz, 2018).

## **2.2. Yöntem**

### **2.2.1. Çözeltilerin Hazırlanması**

- %5 Folin-Ciocalteu (FC) reaktifi:

5 ml Folin-Ciocalteu reaktifi distile su ile karıştırılarak toplam hacmi 100 ml'ye tamamlandı.

- %20'lik Sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) çözeltisi:

Sodyum karbonattan 20g tartıldı, toplam hacmi 100 ml olacak şekilde distile suda çözüldü.

- %5'lik Sodyum nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ) çözeltisi:

1,25 g  $\text{NaNO}_2$  toplam hacmi 25 ml olacak şekilde distile suda çözüldü.

- %10'luk Alüminyum klorid heksahidrat ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) çözeltisi:

1,8 g  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  toplam hacmi 50 ml olacak şekilde metanolde çözüldü.

- 1 M Sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi:

40 g NaOH toplam hacmi 1000 ml olacak şekilde distile suda çözüldü.

- DPPH reaktifi:

2,56 mg 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), 65 ml metanolde çözüldü.

- 140 mM Potasyum persülfat çözeltisi:

3,78 g potasyum persülfat toplam hacmi 100 ml olacak şekilde ultra saf suda çözüldü.

- 7 mM ABTS reaktifi:

18,0117 mg 2,2-azinobis(3-etilbenzothiazollin-6-sulfonik asit (ABTS) 5 ml saf suda çözüldü.

- 10 mM Bakır (II) klorür ( $\text{CuCl}_2$ ) çözeltisi:

0,08067 g  $\text{CuCl}_2$  60 ml suda çözüldü.

- 7,5 mM Neokuprin çözeltisi:

0,0937 g neokuprin 60 ml etanolde çözüldü.

- 1 M Amonyum asetat çözeltisi:

4,62 g amonyum asetat toplam hacmi 60 ml olacak şekilde distile suda çözüldü. 1 M NaOH ve HCl kullanılarak pH değeri 7 olarak ayarlandı.

- 30 mM Asetat tamponu:

3,10 g sodyum asetat trihidrat, 16 ml susuz asetik asit ile karıştırıldı ve toplam hacmi 1000 ml olacak şekilde distile suda çözüldü. pH değeri NaOH ile 3,6 olarak ayarlandı.

- 10 mM TPTZ çözeltisi:

3,123 g 2,4,6-tripiridyl-s-triazine (TPTZ) ve 40 mM HCl'de çözüldü.

- 20 mM Demir (III) klorür heksahidrat ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) çözeltisi:

5,406 g  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  toplam hacmi 1L olacak şekilde distile suda çözüldü.

### 2.2.2. Kefirin pH Tayini

Kefir pH değeri dijital pH metre kullanılarak ölçüldü.

### 2.2.3. Titrasyon Asitliği

25 ml kefir erlene koyuldu ve üzerine 1 ml fenolftalein indikatörü ilave edilerek, 0,1 N NaOH çözeltisi ile rengi pembeleştirinceye kadar damla damla eklenerek titre edildi. Titrasyon asitliği aşağıdaki formül ile hesaplandı (Harcanan 1ml 0,1 N NaOH çözeltisi 0.009 g laktik aside eşdeğerdir) (Eryılmaz, 2018).

$$\% = \frac{V \times 0,009 \times F \times E}{m} \times 100$$

V: harcanan NaOH hacmi

F: NaOH normalitesi

E: NaOH'ın miliekivalan ağırlığı

m: numune miktarı

### 2.2.4. Protein Tayini

Kefirin ve çekirdeklerin protein miktarı, Velp NDA 701 otomatik azot ve protein analiz cihazı kullanılarak Dumas yöntemi ile AACCI Method (2000)46-30 sistemine göre ölçüldü.



Şekil2.10. Otomatik Azot ve Protein Analiz Cihazı

### 2.2.5. Yağ Tayini

Kefirin yağ miktarı Soxhlet-ekstraksiyonu yöntemi ile ölçüldü. Örnekler, etüvde nemleri uçuncaya kadar bekletildi. Kuruyan numuneler den 10 g tartılarak filtre kağıdına sarıldı ve ekstraktör haznesine yerleştirildi. 250 ml n-hekzan eklenen balon öncesinden sabit tartıma gelecek şekilde ayarlanarak soğutucu ve ekstraktör ile birleştirildi ve yuvalı ısıtıcıya yerleştirildi. 5 saatlik ekstraksiyon işlemi

tamamlandıktan sonra balon, döner buharlaştırıcıya bağlandı ve çözücü buharlaştırılarak ham yağ elde edildi. Sonrasında çözücüü uzaklaştırmak için yağlı karışım etüvde kurutuldu ve ağırlığı sabit kalıncaya kadar bekletildi. Numunedeki yağ miktarı, balonda biriken ham yağ kütlesinin numunenin kütlesine bölünmesiyle hesaplandı ve sonuç yüzde olarak ifade edildi (Kaya, 2012).

#### **2.2.6. Kuru Madde Tayini**

Kuru madde tayini için 30 g örneğin nemi etüvde uçuruldu ve desikatörde soğutulduktan sonra tartılarak kuru madde miktarı hesaplandı.

#### **2.2.7. Kefirin Mikroorganizma İçeriği ve Çeşitliliği**

Danem firmasının beyanına göre “Büyüdanem” kefir mayası içerisinde *Lactobacillus kefir*, *L. kefiranofaciens subsp. kefiranofaciens*, *L. kefiranofaciens subsp. kefirgranum*, *L. parakefir*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. reuteri*, *L. bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces lactis* bulunan bakteri ve maya çeşitliliğine sahiptir. Maya ile üretilen 200 ml’lik kefirin mikroorganizma çeşitliliği ise yaklaşık 20 milyar (10,54 log kob/ml) *Lactobacillus*, yaklaşık 20 milyar (10,62 log kob/ml) *Lactococcus*, yaklaşık 20 bin (2,89 log kob/ml) toplam maya, yaklaşık 200 milyon (8,25 log kob/ml) *Lactobacillus acidophilus*, yaklaşık 20 milyon (7,78 log kob/ml) *Bifidobacterium* olarak belirtilmiştir.

#### **2.2.8. Kefir ve MYÜ’nün Ekstraksiyonu**

##### **2.2.8.1. Kefir Ekstraksiyonu**

50 ml kefirüzerine heksan ve metanol-su (9:1) eklenerek 20 dk boyunca ultrasonik banyoda bekletildi ve oluşan fazlar ayrıldı. Bu işlem üç kez tekrarlandıktan sonra diklorometan ve distile su ilave edilerek tekrar aynı işlemlere tabi tutuldu. Elde edilen son çözelti filtre kâğıdı ile süzüldü ve safsızlıklarından uzaklaştırıldı. Ekstraksiyon karışımı beherlere konularak, biyolojik güvenlik kabini içinde çözücüleri uçana kadar bekletildi. Sonrasında elde edilen ekstraktlar beherlerden alınarak tüplerde +4°C’de muhafaza edildi.

Sulu ekstraksiyonları için örneklerden 50 ml santrifüj tüplerine alındı ve üzerine 50 ml distile su eklenerek, 30 dk boyunca 5000 *rpm* devirde santrifüj edildi. Süpernatantlar ayrılır ve tekrar santrifüj edilerek falkonlarda +4°C’de muhafaza edildi.

#### **2.2.8.2. MYÜ’nün Ektstraksiyonu**

MYÜ’nün ektstraksiyonu Sargenti ve Vichnewski (2000)’nin önerdiği yöntemin modifiye edilmiş hali kullanılarak yapıldı. Meyve çekirdeklerinden ayrı ayrı 50 mg tartıldıktan sonraheksan ve metanol-su(9:1) eklenerek 20 dk boyunca ultrasonik banyoda bekletildi ve oluşan fazlar ayrıldı. Bu işlem üç kez tekrarlandıktan sonra diklorometan ve distile su ilave edilerek tekrar aynı işlemlere tabi tutuldu. Elde edilen son çözelti filtre kâğıdı ile süzülerek ekstraksiyon tamamlandı. Ekstraksiyon karışımları beherlere koyularak, biyolojik güvenlik kabininde çözücüleri uçana kadar bekletildi. Sonrasında beherlerden alınarak falkon tüplere 4°C’de muhafaza edildi.

Sulu ekstraksiyon işleminde ise meyve çekirdeklerinden ayrı ayrı 50 mg örnek alınarak distile su ile karıştırıldı ve aynı adımlardan geçirilerek tüplerde +4°C’de muhafaza edildi.

#### **2.2.8.3. MYÜ Eklenen Kefirlerin Ekstraksiyonu**

MYÜ ile kefir karışımının ekstraksiyonu da Sargenti ve Vichnewski (2000)’nin önerdiği yöntemin modifiye edilmiş hali kullanılarak yapıldı.DBÜ, siyah üzüm, nar ve kuşburnu çekirdeklerinin tozları ilave edilen kefirlerden 50 ml alındı, hekzan ve metanol-su(9:1) eklenerek 20 dk boyunca ultrasonik banyoda bekletildi ve oluşan fazlar ayrıldı. Bu işlem üç kez tekrarlandıktan sonra diklorometan ve distile su ilave edilerek tekrar aynı işlemlere tabi tutuldu. Elde edilen son çözelti filtre kâğıdı ile süzüldü ve safsızlıklarından uzaklaştırıldı. Ekstraksiyon karışımları beherlere konularak, biyolojik güvenlik kabininde çözücüleri uçana kadar bekletildi. Sonrasında beherlerden alınarak tüplerde +4°C’de muhafaza edildi.

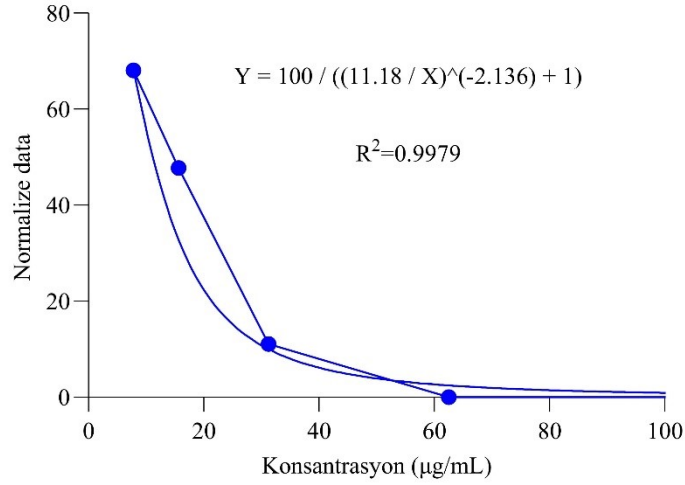
Sulu ekstraksiyonları için örneklerden 50 ml santrifüj tüplerine alındı ve üzerine 50 ml distile su eklenerek, 40 dk boyunca 11000 *rpm* devirde santrifüj edildi. Süpernatantlar ayrıldı ve tekrar santrifüj edilerek falkonlarda +4°C’de muhafaza edildi.

### 2.2.9. Örneklerin Antioksidan Analizleri

Antioksidan analiz yöntemlerinin prensipleri ve reaksiyon koşulları değişiklik gösterdiği için tek bir analiz yöntemi numunelerin antioksidan özelliklerini belirlemede yetersiz kalmaktadır (Manconi vd., 2016). Bu sebeple bu çalışmada örneklerin indirgeyici özelliklerine (CUPRAC ve FRAP) ve radikal süpürme kapasitesine (DPPH ve ABTS) birlikte bakılarak sade kefir, Delice beyaz üzüm çekirdeği (DBÇ), siyah üzüm çekirdeği (SÜÇ), nar çekirdeği (NÇ), kuşburnu çekirdeği (KÇ), Delice beyaz üzüm meyvesi (DBM) ve DBÇ, SÜÇ, KÇ, NÇ tozlarının ilave edildiği kefirlerin antioksidan aktiviteleri spektrofotometrik yöntemle belirlendi. Bütün antioksidan testlerde absorbans değerleri normalize edilerek standart eğri grafikleri oluşturuldu.

#### 2.2.9.1.DPPH Analizi

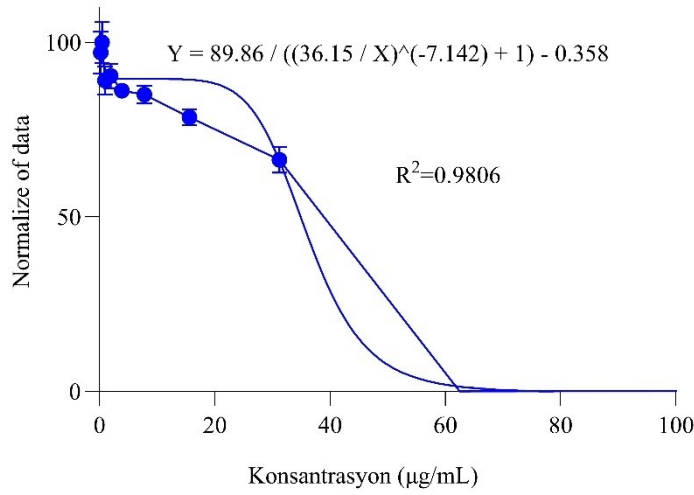
DPPH analizi örneklerdeki antioksidan bileşenlerinin DPPH radikalini süpürme kapasitesini ölçme esasına dayanır. Prensip olarak bileşiklerin proton veya elektron vermesiyle mor renkli radikalın renginin açılması ve absorbans değerinin düşmesiyle ilişkilidir. Bu renk değişimi serbest radikalleri giderici gücü yansıtır (Özdil, 2018). DPPH analizi, Auzanneau, Weber, Kosińska-Cagnazzo ve Andlauer (2018)'ın önerdiği yöntemlerde bazı modifikasyonlar yapılarak tamamlandı. Tüm örneklerden 20 mg/ml'lik numuneler hazırlandı ve her numune seri dilüsyona tabi tutuldu. Mikroplatelere (96 kuyucuklu) üç tekrarlı olacak şekilde her kuyucuğa 13 µL numuneden 247 µL DPPH radikalinden eklendi. Örnekler karanlık ortamda, oda sıcaklığında 30 dk boyunca inkübe edildi, absorbans değerleri 517 nm'de mikrolaka okuyucu (Allsheng AMR-100, Türkiye) ile saptandı. DPPH radikalini süpürme kapasitesi standart eğri grafiğine (Şekil 2.11.) göre g kuru ağırlıkta (g ka) mg Troloks Eđdeđeri (TE) olarak ifade edildi (mg TE/g ka) (Yırtıcı, 2019).



**Şekil 2.11. DPPH Standart Eğri Grafiği**

#### **2.2.9.2. ABTS Analizi**

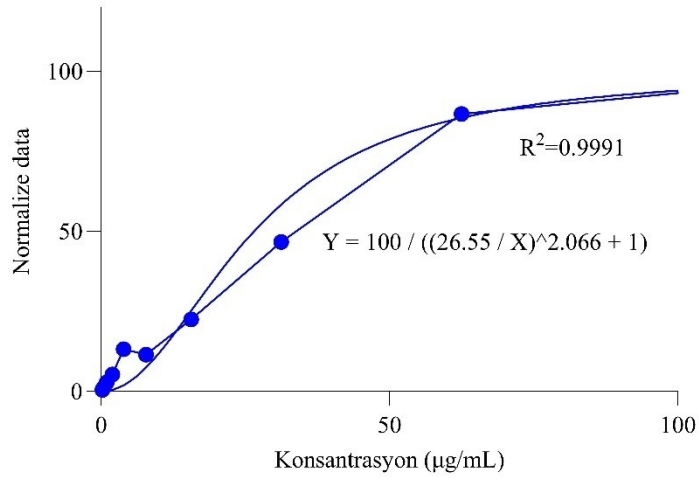
Örneklerin ABTS analizi bazı farklılıklarla Auzanneau vd. (2018) metoduna göre yapıldı. Tüm örneklerden 20 mg/ml’lik numuneler hazırlandı ve her numune seri dilüsyona(örnekler 8 kez seyreltili) tabi tutuldu. Erlen içerisinde 5 ml 7 mM ABTS çözeltisi ile 88 µL 140 mM potasyum persülfat karıştırılarak 16 saat boyunca karanlık ortamda oda sıcaklığında inkübe edildi. Numunelerin absorbans değeri  $0,70 \pm 0,02$  olana dek 743 nm’lik dalga boyunda 1:50 oranında etanol ile dilüe edilerek okundu. Daha sonra kuyucuklara 13 µL numuneden 247 µL ABTS reaktifinden eklendi, 6 dakika beklendikten sonra 743 nm’de mikropilaka okuyucuda (Well Cell Culture Plates, ABD) absorbansları okundu. Standart eğri grafiğine (Şekil 2.12.) göre sonuçlar g kuru ağırlıktan mg Troloks Eşdeğeri (TE) olarak ifade edildi (mg TE/g ka) (Yırtıcı, 2019).



**Şekil 2.12.** ABTS Standart Eğri Grafiği

### 2.2.9.3. FRAP Analizi

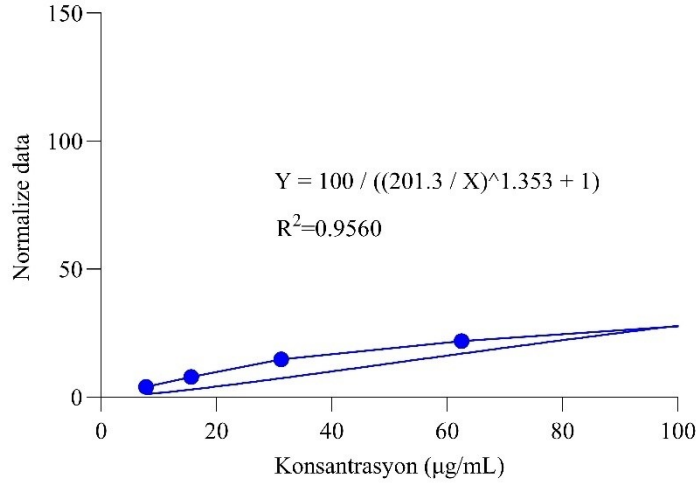
FRAP analizinin prensibi; ferrik-tripiridil triazin kompleksinin, antioksidanların varlığında TPTZ-Fe (III) bileşiğini TPTZ-Fe(II) bileşiğine indirgeme yeteneğine ve renk değişimine dayanmaktadır (Basiri, 2015). Analiz, Guo vd. (2003)'nin metodunu modifiye edilerek gerçekleştirildi. FRAP reaktifi 30 mM asetat tamponu (pH=3), 10 mM TPTZ ve 20 mM  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  çözeltilerinin 10:1:1 oranında karıştırılması ile elde edildi. 96 kuyucuklu mikropiplate seri dilüsyona tabi tutulmuş 20 mg/ml'lik örneklerden 12,5 µL ve FRAP reaktifinden 312,5 µL eklenerek üç tekrarlı olarak çalışıldı. TPTZ-Fe (III) bileşiğinin indirgeme yeteneği Standart eğri grafiğine (Şekil 2.13.) göre g kuru ağırlıkta mg Trolox Eşdeğeri (TE) olarak ifade edildi (mg TE/g ka) (Yırtıcı, 2019).



**Şekil 2.13.FRAPStandart Eğri Grafiği**

#### **2.2.9.4. CUPRAC Analizi**

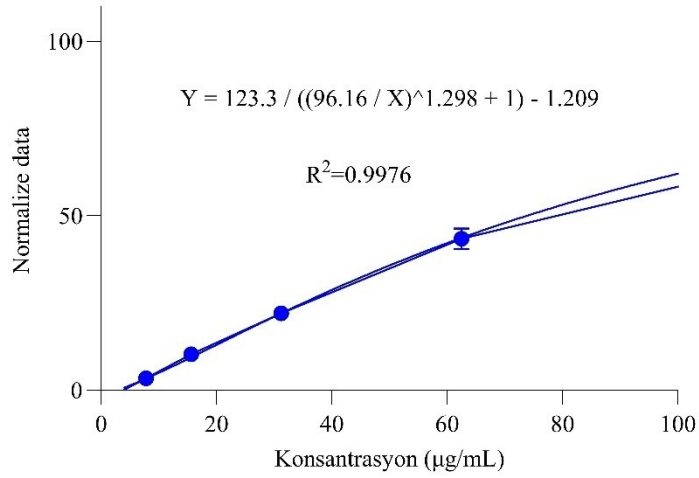
CUPRAC analizi Apak, Güçlü, Özyürek ve Karademir(2004) metodu modifiye edilerek uygulandı.CUPRAC analizi ekstraktların bakır indirgeyici gücünü saptamak amacıyla yapıldı. 10 mM bakır (II) klorür çözeltisi, 7,5 mM neokuprin çözeltisi ve pH değeri 7 olan 1 M'lık amonyum asetat tamponunun 1:1:1 oranında karıştırılarak hazırlanan reaktif 30 dk karanlık ortamda, oda sıcaklığında inkübe edildi. 96 kuyucuklu mikropalakalara seri dilüsyon ile seyreltilmiş 8 mg/ml'lik örneklerden 25 µL ve reaktiften 175 µL eklenerek üç tekrarlı çalışıldı. Numunelerin absorbansları mikropalaka okuyucuda 450 nm'de ölçüldü.Ekstrelerin CUPRAC değeri standart eğri grafiğine (Şekil 2.14.) göre g kuru ağırlıktamg Troloks eşdeğeri (TE) olarak belirtildi (mg TE/g ka) (Eryılmaz, 2018; Yırtıcı, 2019).



Şekil 2.14. CUPRAC Standart Eğri Grafiği.

#### 2.2.9.5. Toplam Fenolik Bileşik Miktarı

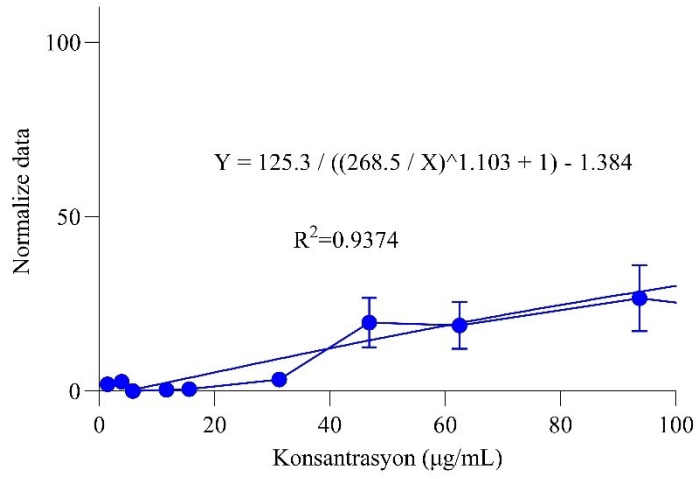
Ekstraktlardaki fenolik bileşiklerin aromatik halkalarındaki hidroksil grupları, hidrojen verme potansiyellerine göre radikalleri temizleme etkinliği gösterebilmektedir (Basiri, 2015). Toplam fenolik bileşik miktarı Folin-Ciocalteu metodu modifiye edilerek saptandı. Konuk ve Forel'in (2015) yöntemi baz alındı. Toplam fenolik bileşiklerin miktarının belirlenmesi, fenolik bileşiklerin folin-ciocalteu reaktifini indirgemesi sonucu kendisinin yükseltgenmesiyle oluşan renk değişimlerinin fotometrik olarak okunması prensibine dayanır (Karaarslan, 2022). Mikroplakara dilüe edilmiş 10 mg/ml'lik örneklerden 25 µL miktarınca üç tekrarlı olarak eklendi, üzerine %5'lik 12,5 µL folin reaktifi eklenerek karanlık ortamda 6 dk inkübe edildi. Sonra %20'lik 25 µL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ilave edilerek 2 saat karanlık ortamda, oda sıcaklığında bekletildi ve mikroplaka okuyucuda 760 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü. Toplam fenolik bileşik tayininde elde edilen absorbans değerleri normalize edilerek standart eğri grafikleri oluşturuldu. Sonuçların yorumlanmasında gallik asit standardı kullanıldı. Ekstrelerin fenolik bileşik miktarları standart eğri grafiğine (Şekil 2.15.) göre g kuru ağırlık (ka) başına düşen mg gallik asit miktarı (mg GAE/g ka) olarak okundu (Bucić-Kojić, Sovová, Planinić ve Tomas, 2013).



**Şekil 2.15.** Toplam Fenolik Madde Miktarı Standart Eğri Grafiği.

#### 2.2.9.6. Toplam Flavonoid Miktarı

Flavonoid miktarı kolorimetrik bir yöntemle saptandı (Tian, Shi, Zhou, Ge ve Upur, 2011). Bu yöntem flavonoidlerin  $AlCl_3 \cdot 6H_2O$  bileşiği ile oluşturduğu kararlı ve kararsız komplekslerin meydana getirdiği renk değişimlerinin absorbansının ölçülmesi ilkesine dayanır (Karaarslan, 2022). Örneklerden 10 mg/ml alınarak seri dilüsyona tabi tutulduktan sonra üç tekrarlı olacak şekilde mikrolakaların kuyucuklarına 31 µL miktarınca eklendi. Üzerine 125 µL ultra saf su, 12,5 µL %5'lik  $NaNO_2$  (5 dakika bekletildi), 31 µL %10'luk  $AlCl_3 \cdot 6H_2O$  (5 dakika bekletildi) ve 1 M'lık 62,5 µL NaOH ilave edildi. Mikrolaka okuyucuda 510 nm'de köre karşı absorbans değerleri okundu ve sonuçların yorumlanmasında rutin standart olarak kullanıldı. Toplam flavonoid tayininde elde edilen absorbans değerleri normalize edilerek standart eğri grafikleri oluşturuldu. Toplam flavonoid miktarı standart eğri grafiğine (Şekil 2.16.) göre g kuru ağırlıkta mg rutin eşdeğeri (RE) olarak belirtildi (mg RE/g ka) (Yırtıcı, 2019).



Şekil 2.16. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Standart Eğri Grafiği.

### 2.3. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar, ortalama değerler ve standart sapma (SS) olarak ifade edildi. Test edilen gruplar arasındaki farklar, Kruskal-Wallis testi sonrası  $P < 0,05$  seviyesinde Mann Whitney U testi ile belirlendi. Analizler, R v.4.4.0 programı kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm deneyler üç kez tekrarlandı.

### 3. BULGULAR

Kefir örneklerinin pH değerleri Çizelge 3.1.'de, kefirin titrasyon asitliği, kuru madde, yağ, protein ve azot miktarları Çizelge 3.2.'de, kefirin metanol ve su ekstraktlarının DPPH ve ABTS analiz sonuçları Çizelge 3.3.'de, kefirin farklı ekstraktlarının toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları Çizelge 3.4.'de, MYÜ'nün azot ve protein yüzdeleri Çizelge 3.5.'te, Delice beyazı çekirdek ve meyvesinin CUPRAC analiz sonuçları Çizelge 3.6.'da, FRAP analiz sonuçları ise Çizelge 3.7.'de, MYÜ ekstraktlarının DPPH analiz sonuçları Çizelge 3.8'de, ABTS analiz sonuçları ise Çizelge 3.9.'da, MYÜ ekstraktlarının toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları Çizelge 3.10. ve Çizelge 3.11.'de, zenginleştirilmiş kefirlerin antioksidan analiz sonuçları Çizelge 3.12.'de verildi.

#### 3.1. Kefir Örneklerinin pH Değeri Sonuçları

Geleneksel yöntemle üretilen kefirin en yüksek pH değerine sahip olduğu görüldü. Backslopping yöntemi daha düşük pH değeri vererek olması gereken kefir pH aralığında gözlemlendi (4,2-4,7), üretim yöntemi açısından daha uygun sonuçlar verdi. Çekirdek tozlarının kefire ilave edilmesiyle pH değerlerinde anlamlı bir değişim görülmedi ( $P>0,05$ ). Depolamaya bağlı olarak da anlamlı pH değişimleri gözlemlenmedi ( $P>0,05$ ) (Çizelge 3.1.).

**Çizelge 3.1. Örneklerin pH Değerleri**

| Grup    | 1. Gün                    | 2. Gün                    | 3. Gün                    |
|---------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Kefir   | 4,75 ± 0,01 <sup>aA</sup> | 4,86 ± 0,01 <sup>aA</sup> | 4,83 ± 0,02 <sup>aA</sup> |
| Kefir-1 | 4,56 ± 0,03 <sup>aA</sup> | 4,54 ± 0,02 <sup>aA</sup> | 4,58 ± 0,04 <sup>aA</sup> |
| Kefir-2 | 4,35 ± 0,02 <sup>aA</sup> | 4,12 ± 0,05 <sup>aA</sup> | 4,03 ± 0,07 <sup>aA</sup> |
| Kefir-3 | 4,43 ± 0,02 <sup>aA</sup> | 4,28 ± 0,06 <sup>aA</sup> | 4,15 ± 0,05 <sup>aA</sup> |
| Kefir-4 | 4,37 ± 0,04 <sup>aA</sup> | 4,35 ± 0,04 <sup>aA</sup> | 4,35 ± 0,05 <sup>aA</sup> |
| Kefir-5 | 4,48 ± 0,02 <sup>aA</sup> | 4,32 ± 0,03 <sup>aA</sup> | 4,40 ± 0,03 <sup>aA</sup> |

(Kefir: Geleneksel yöntemle üretilmiş kefir, Kefir-1: Backslopping yöntemiyle üretilen kefir, Kefir-2: DBÇ eklenen kefir, Kefir-3: SÜÇ eklenen kefir, Kefir-4: NÇ eklenen kefir, Kefir-5 KÇ eklenen kefir) İfade edilen değerler, üç paralel ölçümün ortalama ± SS'sidir.

Aynı sütundaki aynı küçük harfler (a), kefir gruplarına ait önemli fark olmadığını gösterir ( $P>0,05$ ).

Aynı satırdaki aynı büyük harfler ise (A), kefirlerin farklı günlere ait uygulamaları sonrası önemli bir fark olmadığını gösterir ( $P>0,05$ ).

### 3.2. Kefir Örneklerinin Titrasyon Asitliği, Kuru Madde, Yağ, Protein ve Azot Miktarları

Kefirin titrasyon asitliği, kuru madde, yağ, protein ve azot miktarları Çizelge 3.2.'de verildi.

**Çizelge 3.2.** Kefirin Titrasyon Asitliği, Kuru Madde ve Yağ, Protein ve Azot Miktarları

|                        |               |
|------------------------|---------------|
| Titrasyon Asitliği (%) | 0,644 ± 0,04  |
| Kuru Madde Miktarı (%) | 13,53 ± 0,06  |
| Yağ Miktarı (%)        | 1,86 ± 0,03   |
| Protein Miktarı (%)    | 29,055 ± 0,07 |
| Azot Miktarı (%)       | 4,64 ± 0,03   |

### 3.3. Kefirin Antioksidan Analiz Sonuçları

Kefir serbest radikalleri süpürücü etki gösterdi ve ABTS aktivitesi açısından ekstreler arasında anlamlı farklı belirlenirken ( $p<0.05$ ), DPPH testi açısından ekstreler arasında farklılıkların olmadığı görüldü ( $P>0,05$ ). (Çizelge 3.3.).

**Çizelge 3.3.** Kefir Ekstrelerinin DPPH ve ABTS Analiz Sonuçları (mg TE/g ka)

|      | Metanol Ekstresi          | Su Ekstresi               |
|------|---------------------------|---------------------------|
| DPPH | 21,57 ± 0,02 <sup>a</sup> | 21,72 ± 0,01 <sup>a</sup> |
| ABTS | 31,91 ± 0,03 <sup>a</sup> | 27,53 ± 0,02 <sup>b</sup> |

Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b), farklı ekstrelerin antioksidan uygulamaları sonrası önemli farkları ifade eder ( $P<0,05$ ).

### 3.4. Kefirin Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde Miktarı Sonuçları

Kefirin içerdiği fenolik ve flavonoid miktarları her çözücü için farklı miktarlarda bulundu. Toplam fenolik madde miktarının metanol ekstresinde DCM ve Su ekstrelerine göre, flavonoid madde miktarının ise metanol ekstresinde sadece DCM ekstresine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu, fenolik ve flavonoid madde tayininde metanol ekstraktı kullanılmasının analiz sonuçlarında daha etkili olduğu görüldü ( $P<0,05$ ) (Çizelge 3.4.)

**Çizelge 3.4.** Kefirin Farklı Ekstrelerinin Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde Miktarı

|                                     | DCM Ekstresi             | Metanol Ekstresi         | Su Ekstresi              |
|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Toplam Fenolik Madde (mg GAE/g ka)  | 2,1 ± 0,01 <sup>a</sup>  | 6,55 ± 0,02 <sup>b</sup> | 4,3 ± 0,01 <sup>c</sup>  |
| Toplam Flavonoid Madde (mg RE/g ka) | 1,34 ± 0,01 <sup>a</sup> | 3,2 ± 0,01 <sup>b</sup>  | 2,3 ± 0,02 <sup>ab</sup> |

Aynı satırdaki farklı küçük harfler (a, b), farklı ekstrelerin toplam fenolik ve toplam flavonoidmadde içerikleri arasındaki önemli farkları ifade eder (P<0,05).

### 3.5. MYÜ'nün Azot ve Protein Miktarları

Protein miktarlarına bakıldığında NÇ'nin en yüksek değere sahip olduğu görüldü. DBÇ'ninSÜÇ'den daha yüksek protein içerdiği, en düşük protein miktarının iseKB'ndeolduğu belirlendi(Çizelge 3.5.).

**Çizelge 3.5.**MYÜ'nün Azot ve Protein Yüzdeleri

| Grup | Protein Miktarı (%) | Azot Miktarı(%) |
|------|---------------------|-----------------|
| DBÇ  | 39,11               | 6,25            |
| SÜÇ  | 38,71               | 6,19            |
| NÇ   | 40,46               | 6,47            |
| KB   | 37,80               | 6,04            |

### 3.6. MYÜ'nün Antioksidan Analizleri

MYÜ'den CUPRAC miktarı en yüksek DCM ekstraktında DBÇ olarak bulundu. FRAP miktarı ise en yüksek metanol ekstraktlarında gözlendi.DPPH radikali süpürme seviyesi metanol ekstraktlarında suya göre daha yüksek seviyede iken, SÜÇ'nin diğer MYÜ'ne göre daha etkili olduğu belirlendi.ABTS radikali süpürme aktivitesine su ekstraktlarında metanole göre daha düşük iken en yüksek aktivite NÇ'nin metanol ekstraktında bulundu.

#### 3.6.1. DBÜ'nün Antioksidan Analiz Sonuçları

DBÇ'nin CUPRAC miktarı hekzan ekstresinde DCM, metanol ve su ekstrelerine göre önemli düzeyde düşük, metanol ekstresinde ise diğer ekstrele göre önemli düzeyde yüksek bulundu (P<0,05). DBM'nin CUPRAC miktarı metanol ve su ekstrelerine göre hekzan ve DCM ekstrelerinde önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edildi (P<0,05). DBÇ ile DBM karşılaştırıldığında DCM, Metanol ve su ekstrelerinin CUPRAC miktarının DBÇ'de DBM'ye göre önemli düzeyde yüksek olduğu saptandı (P<0,05) (Çizelge 3.6.)

**Çizelge 3.6.**DBÇ ve DBM'nin CUPRAC Analizi Sonuçları

|                  | DBÇ<br>(mg TE/g ka)         | DBM<br>(mg TE/g ka)         |
|------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Hekzan Ekstresi  | 53,10 ± 0,03 <sup>aA</sup>  | 58,17 ± 0,01 <sup>aAB</sup> |
| DCM Ekstresi     | 148,16 ± 0,01 <sup>bA</sup> | 59,85 ± 0,05 <sup>aB</sup>  |
| Metanol Ekstresi | 299,11 ± 0,08 <sup>cA</sup> | 2,05 ± 0,06 <sup>bB</sup>   |
| Su Ekstresi      | 128,23 ± 0,04 <sup>dA</sup> | 2,53 ± 0,03 <sup>bB</sup>   |

Aynı sütundaki farklı küçük harfler (a, b), farklı ekstrele ait önemli farkları gösterir (P<0,05). Aynı satırdaki farklı büyük harfler ise (A, B), aynı ekstre için delice beyazı üzüm çekirdeği ve delice beyazı üzüm meyvesi arasındaki önemli bir fark olduğunu gösterir (P<0,05).

DBÇ ve DBM tozlarının metanol ekstresinin FRAP miktarının diğer ekstrele göre önemli düzeyde yüksek olduğu, üzüm çekirdeğinde hekzan ve DCM ekstrelerinin üzüm meyvesinde ise hekzan ekstresinin FRAP miktarının önemli düzeyde düşük olduğu saptandı (P<0,05). DBÇ ile DBM karşılaştırıldığında Metanol ve su ekstrelerinin FRAP miktarının üzüm çekirdeğinde üzüm meyvesine göre önemli düzeyde yüksek olduğu belirlendi (P<0,05) (Çizelge 3.7.)

**Çizelge 3.7.**DBÇ ve DBM'nin FRAP Analizi Sonuçları

|                  | Delice Beyazı Üzüm<br>Çekirdeği<br>(mg TE/g ka) | Delice Beyazı Üzüm<br>Meyvesi<br>(mg TE/g ka) |
|------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Hekzan Ekstresi  | 34,84 ± 0,03 <sup>aA</sup>                      | 16,07 ± 0,02 <sup>aA</sup>                    |
| DCM Ekstresi     | 31,04 ± 0,02 <sup>aA</sup>                      | 40,07 ± 0,03 <sup>bAB</sup>                   |
| Metanol Ekstresi | 219,64 ± 0,07 <sup>bA</sup>                     | 115,16 ± 0,08 <sup>cB</sup>                   |
| Su Ekstresi      | 89,51 ± 0,03 <sup>cA</sup>                      | 50,58 ± 0,02 <sup>dB</sup>                    |

Aynı sütundaki farklı küçük harfler (a, b), farklı ekstrele ait önemli farkları gösterir (P<0,05). Aynı satırdaki farklı büyük harfler ise (A, B), aynı ekstre için delice beyazı üzüm çekirdeği ve delice beyazı üzüm meyvesi arasındaki önemli bir fark olduğunu gösterir (P<0,05).

Ürünlerin içerisindeki antioksidan maddelerin yapıları farklılık göstermektedir. Bu sebeple ekstraksiyon işleminde birbirinden farklı çözücüler kullanıldı. En yüksek verim analiz ve ürün çeşidine göre değişmekle birlikte bulgulara bakıldığında metanol ekstreleri kullanımının daha etkili olduğu görüldü. Üzüm meyvesi için FRAP analizinde metanol ve su, CUPRAC analizinde DCM ve hekzan çözücülerine geçen antioksidan madde miktarı anlamlı olarak yüksek bulundu. Üzüm çekirdeği için her iki analizde metanol ve su çözücülerini daha etkili sonuçlar verdi. Bu sebeple araştırma sonuçlarında yapılan diğer analizler için metanol ve su çözücülerini dikkate alındı.

### 3.6.2. Meyve Çekirdeklerinin Antioksidan Analiz Sonuçları

Meyve çekirdeklerinin DPPH radikali süpürme seviyesi ile antioksidan potansiyeli belirlendi. Çekirdeklerin hepsi antioksidan özellik gösterdi. SÜÇ'nin metanol ekstresi ile NÇ'nin su ekstresi önemli düzeyde etkili bulundu ( $P<0,05$ ). Ekstraksiyon bazında değerlendirdiğimizde DPPH radikalini süpürücü bileşenlerin yoğunluğu metanol çözücüsü kullanıldığında daha anlamlı sonuçlar verdi. SÜÇ için kullanılan çözücüye bağlı analiz sonuçlarında önemli farklılıklar görüldü. Kullanılan solventin DPPH analizinde sonucu etkilediği görüldü ( $P<0,05$ ) (Çizelge 3.8.)

**Çizelge 3.8. MYÜ Ekstrelerinin DPPH Analizi Sonuçları (mg TE/g ka)**

|     | Metanol Ekstresi            | Su Ekstresi                |
|-----|-----------------------------|----------------------------|
| DBÇ | 31,25 ± 0,05 <sup>aA</sup>  | 33,3 ± 0,08 <sup>aA</sup>  |
| SÜÇ | 45,43 ± 0,04 <sup>bA</sup>  | 26,05 ± 0,04 <sup>bB</sup> |
| NÇ  | 37,84 ± 0,07 <sup>abA</sup> | 30,68 ± 0,05 <sup>aB</sup> |
| KÇ  | 36,81 ± 0,01 <sup>abA</sup> | 24,45 ± 0,02 <sup>aB</sup> |

Aynı sütundaki farklı küçük harfler (a, b), farklı çekirdeklere ait önemli farkları gösterir ( $P<0,05$ ).

Aynı satırdaki farklı büyük harfler ise (A, B), aynı çekirdek için metanol ve su ekstresi arasında önemli bir fark olduğunu gösterir ( $P<0,05$ ).

ABTS radikali süpürme aktivitesine bakılarak örneklerin antioksidan kapasitesi gözlemlendi. NÇ'nin süpürme aktivitesi her iki çözücü için de yüksek bulundu ( $P<0,05$ ). DBÇ, NÇ ve KÇ tozlarının metanol ekstresinin su ekstresine göre yüksek olduğu saptandı ( $P<0,05$ ). NÇ'nin metanol ve su ekstresi diğer çekirdeklerden anlamlı olarak daha yüksek sonuç verdi ( $P<0,05$ ). Solvent olarak metanol kullanımı ABTS analizi için etkili bulundu ( $P < 0,05$ ) (Çizelge 3.9.)

**Çizelge 3.9. MYÜ Ekstrelerinin ABTS Analizi Sonuçları (mg TE/g ka)**

|     | Metanol Ekstresi            | Su Ekstresi                 |
|-----|-----------------------------|-----------------------------|
| DBÇ | 159,69 ± 0,02 <sup>aA</sup> | 68,39 ± 0,01 <sup>aB</sup>  |
| SÜÇ | 126,79 ± 0,03 <sup>bA</sup> | 169,38 ± 0,01 <sup>bB</sup> |
| NÇ  | 306,17 ± 0,01 <sup>cA</sup> | 228,65 ± 0,04 <sup>cB</sup> |
| KÇ  | 151,57 ± 0,04 <sup>aA</sup> | 94,97 ± 0,06 <sup>dB</sup>  |

Aynı sütundaki farklı küçük harfler (a, b), farklı çekirdeklere ait önemli farkları gösterir ( $P<0,05$ ).

Aynı satırdaki farklı büyük harfler ise (A, B), aynı çekirdek için metanol ve su ekstresi arasında önemli bir fark olduğunu gösterir ( $P<0,05$ ).

### 3.7. Meyve Çekirdeklerinin Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde Tayini

Meyve çekirdeklerinin özellikle metanol ekstralarında önemli miktarda fenolik maddeye rastlandı. En yüksek fenolik madde miktarı DBÇ'nin metanol ve DCM ekstralarında saptandı ( $P<0,05$ ). Analizde metanol ekstralarının diğer solventlere göre daha etkili olduğu görüldü ( $P<0,05$ ) (Çizelge 3.10.).

**Çizelge 3.10.** MYÜ Ekstrelerinin Toplam Fenolik Madde Miktarı (mg GAE/g)

|     | DCM Ekstresi                   | Metanol Ekstresi               | Su Ekstresi                     |
|-----|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| DBÇ | 32,35 $\pm$ 0,04 <sup>aA</sup> | 41,92 $\pm$ 0,06 <sup>aB</sup> | 11,40 $\pm$ 0,02 <sup>aC</sup>  |
| SÜÇ | 11,41 $\pm$ 0,03 <sup>bA</sup> | 25,44 $\pm$ 0,04 <sup>bB</sup> | 15,24 $\pm$ 0,02 <sup>bAC</sup> |
| NÇ  | 11,95 $\pm$ 0,03 <sup>bA</sup> | 25,84 $\pm$ 0,03 <sup>bB</sup> | 18,97 $\pm$ 0,03 <sup>bcC</sup> |
| KÇ  | 16,82 $\pm$ 0,02 <sup>cA</sup> | 28,3 $\pm$ 0,03 <sup>bcB</sup> | 26,95 $\pm$ 0,04 <sup>dB</sup>  |

Aynı sütundaki farklı küçük harfler (a, b), farklı çekirdeklere ait önemli farkları gösterir ( $P<0,05$ ). Aynı satırdaki farklı büyük harfler ise (A, B), aynı çekirdek için DCM, metanol ve su ekstresi arasında önemli bir fark olduğunu gösterir ( $P<0,05$ ).

MYÜ'nün flavonoid maddelerden zengin olduğu gözlemlendi. DCM ve metanol ekstralarında DBÇ'nin flavonoid miktarı diğer çekirdeklerden anlamlı olarak yüksek bulundu ( $P<0,05$ ). KÇ hariç diğer MYÜ'nün metanol ekstralarında toplam flavonoid madde miktarının önemli düzeyde yüksek olduğu gözlemlendi ( $P<0,05$ ) (Çizelge 3.11.). Toplam flavonoid madde tayininde KÇ için diklorometan çözücüsü, diğer çekirdekler için metanol çözücüsünün kullanılması daha etkili bulundu.

**Çizelge 3.11.** MYÜ Ekstrelerinin Toplam Flavonoid Madde Miktarı (mg RE/g)

|     | DCM Ekstresi                    | Metanol Ekstresi                | Su Ekstresi                      |
|-----|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| DBÇ | 21,73 $\pm$ 0,02 <sup>aA</sup>  | 37,71 $\pm$ 0,04 <sup>aB</sup>  | 9,2 $\pm$ 0,01 <sup>aC</sup>     |
| SÜÇ | 8,88 $\pm$ 0,01 <sup>bA</sup>   | 19,8 $\pm$ 0,03 <sup>bB</sup>   | 13,71 $\pm$ 0,02 <sup>bC</sup>   |
| NÇ  | 10,81 $\pm$ 0,02 <sup>bcA</sup> | 18,46 $\pm$ 0,03 <sup>bB</sup>  | 7,52 $\pm$ 0,01 <sup>acAC</sup>  |
| KÇ  | 16,36 $\pm$ 0,03 <sup>dA</sup>  | 12,11 $\pm$ 0,01 <sup>cAB</sup> | 11,94 $\pm$ 0,03 <sup>abAB</sup> |

Aynı sütundaki farklı küçük harfler (a, b), farklı çekirdeklere ait önemli farkları gösterir ( $P<0,05$ ). Aynı satırdaki farklı büyük harfler ise (A, B), aynı çekirdek için DCM, metanol ve su ekstresi arasında önemli bir fark olduğunu gösterir ( $P<0,05$ ).

### 3.8. Zenginleştirilmiş Kefirin Antioksidan Analiz Sonuçları

MYÜ ile zenginleştirilmiş kefirler DPPH ve ABTS radikallerini süpürme aktivitesi gösterdi fakat sade kefire göre antioksidan özellikte anlamlı düzeyde artış görülmedi ( $p > 0,05$ ) (Çizelge 3.12.).

**Çizelge 3.12.** Zenginleştirilmiş Kefirlerin Antioksidan Analiz Sonuçları

|         | DPPH<br>(mg TE/g ka)       | ABTS<br>(mg TE/g ka)       |
|---------|----------------------------|----------------------------|
| Kefir-1 | 21,57 ± 0,02 <sup>a</sup>  | 31,91 ± 0,01 <sup>a</sup>  |
| Kefir-2 | 23,23 ± 0,05 <sup>ab</sup> | 34,11 ± 0,08 <sup>ab</sup> |
| Kefir-3 | 24,31 ± 0,04 <sup>ab</sup> | 35,05 ± 0,04 <sup>ab</sup> |
| Kefir-4 | 21,46 ± 0,07 <sup>a</sup>  | 30,37 ± 0,05 <sup>a</sup>  |
| Kefir-5 | 21,76 ± 0,06 <sup>a</sup>  | 31,07 ± 0,03 <sup>a</sup>  |

(Kefir-1: Backslopping yöntemiyle üretilen kefir, Kefir-2: DBÇ eklenen kefir, Kefir-3: SÜÇ eklenen kefir, Kefir-4: NÇ eklenen kefir, Kefir-5: KÇ eklenen kefir)

Aynı sütundaki farklı küçük harfler (a, b), farklı kefir örneklerine ait önemli farkları gösterir (p <0,05).

## 4. TARTIŞMA

Kefiri laktik asit ve alkol fermantasyonlarının birlikte gerçekleştiği bir süt ürünüdür (Demir ve Gürses, 2018). Kefirin temel kompozisyonu laktik asit, etanol ve karbondioksit oluştururken yardımcı bileşenler olarak karşımıza diasetil, asetaldehit, düşük moleküllü serbest yağ asitleri ve aminoasitler çıkar. Ayrıca B1, B12, K vitaminleri, folik asit, kalsiyum ve amino asitlerin içeriğini zenginleştirerek kefirin faydalı özelliklerini artırır(Kezer, 2013; Farag vd., 2020; Akdan vd., 2020).

Farklı markalara sahip ticari sade kefirlerin fizikokimyasal ve reolojik özelliklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada (Gürsoy vd., 2020)kefirlerin kuru madde içeriklerinin % 9,49-11,97, protein içeriklerinin % 2,30-2,44, yağ içeriklerinin %2,50-3,00 ve pH değerlerinin 3,86-4,06 arasında olduğu belirtilmiştir. Atalar (2019) kefirin yağiçeriğini  $1,53 \pm 0,03$ g/100g, proteiniçeriğini  $9,32 \pm 0,04$ g/100g olarak tespit etmiştir. Aynı çalışmada 1., 7., 14. ve 21. günlerde ölçülen pH değerlerinin sırasıyla  $4,63 \pm 0,02$ ,  $4,55 \pm 0,02$ ,  $4,53 \pm 0,01$  ve  $4,33 \pm 0,01$  olduğu belirtilmiş v zamana bağlı olarak azaldığı görülmüştür. Kezer (2013) kefirin ortalama protein değerini % 2,74 – 4,02 arasında olduğunu saptanmıştır. Barukčić vd. (2017) kefir taneleriyle mayalanma sonucu titrasyon asitliğini  $0,808 \pm 0,048$  olarak bulmuşlardır. Bursa ilindeki farklı perakende pazarlarından 50 kefir örneği toplanıp incelendiğinde kefir numunelerinin pH değerinin ortalama 4,3, yağ oranının % 0,3 ila % 4,5 arasında ve kuru madde içeriğinin %8,0 ile %16,5 arasında olduğu, titre edilebilir asitlik değerlerinin ortalama %0,8 LA olarak bulunmuştur (Çetinkaya ve Elal Muş, 2012). Eryılmaz (2018)'ın farklı türdeki süt ve kültürlerle elde edilen kefirleri karşılaştırdığı çalışmasında kefirlerin titrasyon asitliği değerleri (laktik asit cinsinden) %0,42 ile %0,86 arasında bulunmuştur. Bu tez çalışmada kullanılan kefir ve MYÜ eklenmiş kefir örneklerinin pH değerleri yukarıda verilen literatürlerdeki kefir örneklerinin pH değerleri ile benzerlik göstermektedir. Protein oranlarında göze çarpan farklılığın kullanılan yöntemlerin ve cihazların farklı olmasından ileri gelebileceği düşünülmektedir. Çünkü bahsedilen çalışmalarda Kjeldahl metodu ile protein analizi

yapılırken sıvı numunelerle çalışılmış, sunulan çalışma yönteminde ise cihaza bağlı kuru maddenin protein miktarı ölçülmüştür.

İnsan vücudunda antioksidan savunma ve serbest radikaller arasında meydana gelen dengesizlik sonucu oksidatif stres ortaya çıkar. Antioksidanlar oksidatif stresin sebep olduğu hastalıkları engeller, duraksatır veya oksidasyon reaksiyon ürünlerinin zararını hafifletebilirler (Yılmaz Ersan vd., 2018; Ayed vd., 2020; Gülçin, 2020). Kefir, oksidatif hasardan sorumlu bileşenlerle etkileşime girme kapasitesi yüksek, antioksidan bir besindir. Kefirin proton verme yeteneklerinin, indirgeme güçlerinin, DPPH ve ABTS serbest radikallerini süpürme özellikleri ile lipid peroksidasyonunu engelleme kapasitesinin olduğu bilinmektedir (Liu vd., 2005; Perna vd., 2019).

Yılmaz-Ersan vd. (2018) kefirin DPPH aktivitesini  $6,25 \pm 0,010$  mg TE/100 ml, ABTS aktivitesini  $11,05 \pm 0,066$  mg TE/100 ml olarak beyan etmişlerdir. Baniasadi, Azizkhani, Saris ve Tooryan(2022) kefir metanol ekstresinin DPPH radikal temizleme aktivitesini  $4,15 \pm 0,17$  mg TE/100 ml olarak belirtmişlerdir. Özcan, Sahin, Akpınar Bayizit ve Yılmaz-Ersan (2019) kefir metanol ekstresinin ABTS aktivitesini 11,86 mg TE/100 ml olarak, Barat ve Özcan (2017) ise DPPH aktivitesini 4,84 TE/100 ml olarak raporlamıştır.

Barat ve Özcan (2017) kefir metanol ekstresi fenolik bileşik değerini 3,87 mg GAE/100 g ka olarak raporlamıştır. Papademas, Ioannou ve Aspri(2023) kefirin toplam fenolik madde miktarını 20-25 mg GAE/100 g ka arasında, toplam flavonoid madde miktarını 0-1 mg RE/100 g ka değerleri arasında belirtmişlerdir. Kefirin toplam fenolik madde miktarını Yılmaz-Ersan vd. (2018)  $67,41 \pm 0,141$  mg GAE/100 mL, Özcan vd. (2019) metanol ekstresi için 79,63 mg GAE/100 mL olarak beyan etmişlerdir.

Meyvelerin işlenmesiyle ortaya çıkan sap, kabuk, tohum ve küspeler biyoaktif bileşikler içeren MYÜ'dür. Besinleri fermentasyona katkıda bulunarak ve fonksiyonel bileşenlerin oluşmasına yardımcı olarak zenginleştirme potansiyeli taşırlar(Vicenssuto ve de Castro, 2020).

Siyah üzüm çekirdeği tozunun protein miktarını Sur, Zengin ve Gökçe (2022) %18,83, Aras (2020) %11, Silici, Güçlü ve Kanber (2011) %16,9 olarak tespit etmişlerdir. Mutlu (2002) siyah üzüm çekirdeği tozu için %8,42, beyaz üzüm çekirdeği tozu için %8,8 oranında protein oranı saptamıştır. Beyaz üzüm

çeşitlerinden olan Ata Sarısı ve Hatun Parmağı üzüm çekirdeklerinin protein oranları sırasıyla %9,0 ve %9,62 olarak, siyah üzüm çeşitlerinden Red Globe, Trakya İlkeren, Horoz Karası protein oranları sırasıyla %6,87, %8,05, %7,51 olarak belirtilmiştir (Odabaşıoğlu ve Gürsöz, 2020). Nar çekirdeği tozu protein bileşimini Gölükcü, Tokgöz ve Çelikyurt (2002) % 37,10  $\pm$  0,82, Yücepete (2020) %11,03, Tuna (2015) %22,37, Noğay (2014) %18,46 olarak belirtmişlerdir. Kuşburnu çekirdeği tozlarının protein miktarlarını Macit, Demirel, Bakırcı ve Erdoğan (2003) % 8,72, Okcu, Kerse ve Yavuz (2017) %6,89-8,64, Cingöz ve Şahin (2023) %12,93, Milala vd. (2023) %15 olarak beyan etmişlerdir. Yukarıda bahsedilen literatür taraması sonuçları ile sunulan çalışma bulguları çekirdeklerin protein içeriği sıralaması yönüyle paralellik göstermiş olup, oransal olarak görülen uyumsuzlukların metot farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Siyah üzüm, beyaz üzüm, nar ve kuşburnu çekirdekleri; doğal antioksidan olarak bilinen zengin MYÜ'dür (Göncü vd., 2017). Adamez, Samino, Sánchez ve González-Gómez (2012) FRAP analizinde sulu ekstraktları kullanılan üzüm çekirdeğinin meyvesinden daha yüksek değere sahip olduğunu belirtmişlerdir. Yine Ünal vd. (2022) araştırmalarında çekirdek kısmının meyve suyundan daha yüksek antioksidan özellik gösterdiğini saptamışlardır. Duran (2014) Tahannebi, Amasya ve Kureys yöresel beyaz üzüm türlerinin FRAP değerlerinin sırasıyla 74,21 $\pm$ 6,96, 130,84 $\pm$ 3,17, 88,26 $\pm$ 7,72 mg/ TE g olarak, kırmızı- mor üzümlerde ise Banaz Karası, Köhnü, Karaoğlan türlerini de sırasıyla 107,68 $\pm$ 21,65, 167,89  $\pm$  28,33, 61,17 $\pm$ 8,65 mg/ TE g olduğunu bulmuştur. Dumbravă, Raba, Moldovan, Radu ve Popa (2016) Victoria türü SÜÇ'nin CUPRAC değerini 18,85 mg/TE g olarak belirtmişlerdir. Beyaz üzüm çeşitlerinin antioksidan kapasitesinin araştırıldığı bir çalışmada (Elejalde vd., 2022) CUPRAC değerleri 45,54  $\pm$  2,63 ile 189,49  $\pm$  8,21  $\mu$ mol TE/g arasında, FRAP değerleri ise 14,36  $\pm$  0,33 ile 114,06  $\pm$  10,44 arasında tespit edilmiştir. Li, Wang, Li, Li ve Wang (2008) üzüm çekirdeklerinin CUPRAC analizi sonuçlarını metanol ekstresi için su ekstraktlarından daha yüksek bulmuşlardır. Sunulan çalışmada hem DBÇ'nin hem de DBM'nin CUPRAC ve FRAP analiz sonuçlarının yüksek bulunması sebebiyle bazı çalışmalarda (Güler ve Turgut, 2021; Güler vd., 2022) kullanılan beyaz üzüm türlerinden daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olabileceği düşünülmektedir. Dolayısıyla bu çalışmada kullanılan DBÇ'nin

potansiyel bir antioksidan kaynağı ve fonksiyonel besinlere takviye edilebilecek değerde bileşenler olabileceği düşünülmektedir.

Mevcut çalışmada araştırılan meyve çekirdeklerinin DPPH ve ABTS radikallerini süpürme potansiyeli literatürlerle (Gül ve Şen, 2017; Yamini vd., 2023; Pedriali vd., 2010, Başyigit, 2023; Koca vd., 2018; İlyasoğlu, 2014) uyumlu olarak yüksek bulunmuştur. Ünal vd. (2022) yöresel üzüm çekirdeklerinin ABTS radikali süpürme kapasitesini beyaz üzüm çekirdekleri (BÜÇ) için  $12,89 \pm 0,5$  ile  $15,30 \pm 0,7$   $\mu\text{mol TE/g TA}$  (taze ağırlık) arasında, SÜÇ için  $15,56 \pm 0,6$  ile  $18,12 \pm 1,1$   $\mu\text{mol TE/g TA}$  arasında olduğunu ve SÜÇ'nin daha yüksek antioksidan özellik gösterdiğini belirtmişlerdir. Sunulan çalışmada Koca vd. (2018) bulgularına paralel olarak DPPH analizinde en yüksek radikal temizleme oranının üzüm çekirdeğine, sonra sırasıyla kuşburnu çekirdeği ve nar çekirdeğine ait olduğu bulundu. Yine sunulan çalışmanın sonuçlarına benzer olarak Basiri (2015) nar çekirdeğinin antioksidan analizlerinde (DPPH, ABTS) çözücü olarak metanol kullanmanın en iyi sonuçlarını verdiğini, sonrasında su ve hekzanın sıralandığını belirtmiştir.

Yöresel üzümlerin çekirdeklerinin toplam fenolik bileşik miktarı Ünal vd. (2022) tarafından araştırılmış ve BÜÇ için  $1,90 \pm 0,08$  ile  $3,01 \pm 0,09$  mg GAE/g TA arasında, SÜÇ için  $2,45 \pm 0,12$  ile  $3,46 \pm 0,15$  mg GAE/g TA arasında değerler bulunmuştur. Sunulan çalışmanın aksine Ünal vd. (2022) çalışmalarında siyah üzüm çekirdeklerinin daha fazla fenolik madde içerdiği belirtmişlerdir. Ky, Lorrain, Kolbas, Crozier ve Teissedre (2014) SÜÇ'nin fenolik bileşik miktarının  $36,6 \pm 0,8$  ile  $49,7 \pm 4,1$  mg GAE/g ka arasında olduğunu tespit etmişlerdir. NÇ'nin toplam fenolik madde miktarını Basiri (2015)  $27,93 \pm 0,3$  mg GAE/L olarak, Gül ve Şen (2017) ise  $40,60$  g GAE/kg olarak rapor etmiştir. Kandyliari vd. (2023) KÇ'nin toplam fenolik bileşik miktarını  $5,08 \pm 0,52$  mg GAE/g olarak saptamışlardır. Koca vd. (2018) toplam fenolik madde miktarının en çok üzüm çekirdeğinde ( $17,93$  mg GAE/g), daha sonra sırasıyla kuşburnu çekirdeği ( $4,6$  mg GAE/g) ve nar çekirdeğinde ( $1,81$  mg GAE/g) bulunduğunu belirtmişlerdir. Sunulan çalışmada da Koca vd. (2018)'nin bulgularına paralel olarak sonuçlar elde edildi. Mevcut çalışmada kullanılan meyve çekirdeklerinin yüksek oranda fenolik ve flavonoid bileşiğe sahip olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (Yamini vd., 2023; Pedriali vd., 2010; Başyigit, 2023; İlyasoğlu, 2014). Basiri (2015) NÇ'nin toplam fenolik bileşik analizi için en yüksek sonuçların metanol çözücüsünde elde edildiğini belirtmiştir. Mevcut araştırma ile

sonuçlarında bazı farklılıklar bulunan çalışmalardaki farklılıkların meyve çekirdeklerinin türü, elde edilme yöntemi, ekstraksiyon metotları, kullanılan çözücüler gibi birçok etkenlerden(Başyiğit, 2023) kaynaklanabileceği düşünülmektedir.



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kefir içerdği probiyotik bakteri ve mayalar, bileşimindeki çeşitli moleküller ile antioksidan özelliğe sahip bir besindir. Meyvelerin işlenmesi sonucunda arda kalan kabuk, posa, çekirdek gibi yan ürünlerin yüksek antioksidan kapasitesine sahip olduğu bilinmektedir. Bu nedenle sunulan çalışma DBÇ, SÜÇ, NÇ ve KÇ tozlarının, kefirin ve meyve çekirdeklerinin kefirle birleşiminden elde edilen fonksiyonel besinlerin çeşitli yöntemlerle (DPPH, ABTS, FRAP ve CUPRAC) antioksidan özelliklerinin ve içerdikleri toplam fenolik ve flavonoid bileşik miktarlarının belirlenmesi amacıyla yapıldı.

Bu çalışmada kefir üretiminde kullanılan backslopping yönteminin kefir üretimini kolaylaştırdığı ve kalitesini artırdığı gözlemlendi.

Meyve çekirdeği tozlarının (DBÇ, SÜÇ, KÇ, NÇ) eklenmesiyle kefirin asitliğinin arttığı, depolamaya bağlı olarak kefirin pH değerlerinde azalma olduğu tespit edildi. En yüksek protein oranı NÇ’nde, en düşük ise KÇ’nde görüldü.

Sunulan çalışmada DBÜ’nün meyve ve çekirdeklerinin hem demir hem de bakır indirgeme gücü açısından etkin olduğu bulundu. Bu nedenle DBÜ’nün potansiyel bir antioksidan kaynağı ve fonksiyonel besinlere takviye edilebilecek değerde bileşenler olabileceği düşünülmektedir.

Delice Beyazı üzümünün çekirdeğinin, meyvesinden anlamlı olarak daha yüksek antioksidan özellik gösterdiği, dolayısıyla besinlerin faydalı özelliklerini geliştirmek için çekirdeklerin kullanılabileceği kanaatine varıldı.

Araştırmada kullanılan meyve çekirdeklerin yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu görüldü. Siyah üzüm çekirdeğinin DPPH radikali süpürme aktivitesi, nar çekirdeğinin de ABTS radikali süpürme aktivitesi diğer örneklerden anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptandı.

Bu çalışmada DBÇ’nin diğer çekirdeklerden anlamlı olarak daha yüksek miktarda fenolik ve flavonoid madde içerdği saptandı. Toplam fenolik ve flavonoid madde

tayini için ekstraksiyon işleminde metanol kullanılması sonuçları anlamlı olarak etkilediği tespit edildi.

Sonuç olarak sunulan çalışmada kullanılan MYÜ'nün antioksidan kapasitesi, toplam fenolik ve flavonoid madde miktarı ve protein miktarı kefirde daha yüksek olduğu bulundu.

Zenginleştirilmiş kefirlerin antioksidan kapasitesinin kefire göre bir miktar yüksek olduğu ancak kefirin antioksidan özelliklerinde daha anlamlı artışlar görülebilmesi için eklenen çekirdek oranının artırılması gerektiği düşünülmektedir.

Ayrıca çalışılan çekirdek tozlarının prebiyotik potansiyelinin yüksek olduğu, laktik asit bakterilerinin aktivitesini artırarak kefirin probiyotik özelliğini geliştirici kapasiteye sahip olduğu, bunları doğrulamak için mikrobiyolojik analizlere ihtiyaç olduğu ve yeni bir araştırma konusu olarak değerlendirilme potansiyeli taşıdığı kanaatine varıldı.

## KAYNAKLAR

- AACC International, AACCI Method 46-30, Crude Protein-Combustion Method, 2000.
- Abdel-Rahim, E. A., El-Beltagi, H. S., Romela, R. M., & Box, P. (2013). White Bean seeds and Pomegranate peel and fruit seeds as hypercholesterolemic and hypolipidemic agents in albino rats. *Grasasy aceites*, 64, 1.
- Adamez, J. D., Samino, E. G., Sánchez, E. V., & González-Gómez, D. (2012). In vitro estimation of the antibacterial activity and antioxidant capacity of aqueous extracts from grape-seeds (*Vitis vinifera* L.). *Food Control*, 24(1-2), 136-141.
- Aiello, F., Restuccia, D., Spizzirri, U. G., Carullo, G., Leporini, M., & Loizzo, M. R. (2020). Improving kefir bioactive properties by functional enrichment with plant and agro-food waste extracts. *Fermentation*, 6(3), 83.
- Akbulut Ataman, F. (2020). Laktozlu ve laktozsuz süttten kefir danesi ilavesiyle üretilen kefirlerle çilek püresi katılarak fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuusal özelliklerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. *Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya*.
- Akçay Salık, R., Bitim, E., Köprüalan-Aydın, Ö., Selçuk, E., Altay, Ö., & Kaymak-Ertekin, F. (2023). Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon Yöntemi ile Elde Edilen Zeytin Yaprığı Ekstraktının İyonik Jelasyon Yöntemi ile Enkapsülasyonu ve Kefir İçeceğinde Kullanılması. *GIDA: The Journal of Food*, 48(1).
- Akdan, C., Kınık, Ö., & İçier, F. (2020). Manda Sütü ve Diğer Süt Karışımlarıyla Üretilen Kefirlerin Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 39-50.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- Aras, Ö. (2020). Sağlıklı yaşamda üzüm ve üzüm ürünleri. *Bilge International Journal of Science and Technology Research*, 22-32.
- Sur, A., Zengin, M., & Gökçe, Z. (2022) Üzüm çekirdeği tozu ve ununun lipofilik vitamin ve fitosterol içeriklerinin belirlenmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 9(4), 1152-1156.
- Atalar, I. (2019). Functional kefir production from high pressure homogenized hazelnut milk. *Lwt*, 107, 256-263.

Auzanneau, N., Weber, P., Kosińska-Cagnazzo, A., & Andlauer, W. (2018). Bioactive compounds and antioxidant capacity of *Lonicera caerulea* berries: Comparison of seven cultivars over three harvesting years. *Journal of Food Composition and Analysis*, 66, 81-89.

Ayed, L., M'hir, S., & Hamdi, M. (2020). Microbiological, biochemical, and functional aspects of fermented vegetable and fruit beverages. *Journal of Chemistry*, 2020, 1-12.

Baniasadi, M., Azizkhani, M., Saris, P. E. J., & Tooryan, F. (2022). Comparative antioxidant potential of kefir and yogurt of bovine and non-bovine origins. *Journal of Food Science and Technology*, 59(4), 1307-1316.

Barat, A., & Ozcan, T. (2018). Growth of probiotic bacteria and characteristics of fermented milk containing fruit matrices. *International Journal of Dairy Technology*, 71, 120-129.

Barukčić, I., Gracin, L., Režek Jambrak, A., & Božanić, R. (2017). Comparison of chemical, rheological and sensory properties of kefir produced by kefir grains and commercial kefir starter. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 67(3), 169-176.

Basiri, S. (2015). Evaluation of antioxidant and antiradical properties of Pomegranate (*Punica granatum* L.) seed and defatted seed extracts. *Journal of food science and technology*, 52(2), 1117-1123.

Başıyigit, B. (2023). Yağı Alınmış Nar Çekirdeklerinden Fenolik Antioksidanların Özütlemeinde Ultrases Sisteminin Kullanımı. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 26(6), 1346-1357.

Bucić-Kojić, A., Sovová, H., Planinić, M., & Tomas, S. (2013). Temperature-dependent kinetics of grape seed phenolic compounds extraction: Experiment and model. *Food Chemistry*, 136(3-4), 1136-1140.

Carullo, G., Governa, P., Spizzirri, U. G., Biagi, M., Sciubba, F., Giorgi, G., ... & Restuccia, D. (2020b). Sangiovese cv pomace seeds extract-fortified kefir exerts anti-inflammatory activity in an in vitro model of intestinal epithelium using caco-2 cells. *Antioxidants*, 9(1), 54.

Carullo, G., Sciubba, F., Governa, P., Mazzotta, S., Frattaruolo, L., Grillo, G., ... & Aiello, F. (2022b). Mantonico and pecorello grape seed extracts: Chemical characterization and evaluation of in vitro wound-healing and anti-inflammatory activities. *Pharmaceuticals*, 13(5), 97.

Carullo, G., Spizzirri, U. G., Loizzo, M. R., Leporini, M., Sicari, V., Aiello, F., & Restuccia, D. (2020a). Valorization of red grape (*Vitis vinifera* cv. Sangiovese) pomace as functional food ingredient. *Italian Journal of Food Science*, 32(2).

Carullo, G., Spizzirri, U. G., Montopoli, M., Cocetta, V., Armentano, B., Tinazzi, M., ... & Restuccia, D. (2022a). Milk kefir enriched with inulin-grafted seed extract from white wine pomace: chemical characterisation, antioxidant profile and in vitro

gastrointestinal digestion. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(7), 4086-4095.

Cetinkaya, F., & Elal, M. T. (2012). Determination of microbiological and chemical characteristics of kefir consumed in Bursa. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 59(3), 217-221.

Choi, J. W., Kang, H. W., Lim, W. C., Kim, M. K., Lee, I. Y., & Cho, H. Y. (2017). Kefir prevented excess fat accumulation in diet-induced obese mice. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 81(5), 958-965.

Chouchouli, V., Kalogeropoulos, N., Konteles, S. J., Karvela, E., Makris, D. P., & Karathanos, V. T. (2013). Fortification of yoghurts with grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *LWT-Food Science and Technology*, 53(2), 522-529.

Cingöz, A., & Şahin, N. (2023). Determination of Rheological and Chemical Properties of Hemp, Rosehip Seed and Safflower Flours. *Journal of Agricultural Sciences*, (Early View), 10-10.

Çalışkanlar, S., Saygılı, D., Karagözlü, N., & Karagözlü, C. (2023). Utilization of pomegranate and black grape seed by-products in yogurt production: Effects on phenolic compounds and antioxidant activity. *Food Science & Nutrition*.

Demir, B., & Gürses, M. (2022). Determination of Antioxidant Activities of Rosehip Marmalade Added Kefir During Its Storage Process. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 12(2), 761-768.

Domínguez Díaz, L., Fernández-Ruiz, V., & Cámara, M. (2020). The frontier between nutrition and pharma: The international regulatory framework of functional foods, food supplements and nutraceuticals. *Critical reviews in food science and nutrition*, 60(10), 1738-1746.

Dumbravă, D. G., Raba, D. N., Moldovan, D. C., Radu, F., & Popa, M. V. (2016). The Antioxidant Activity of Some Grapes Varieties. *International Multidisciplinary Scientific GeoConference: SGEM*, 1, 791-797.

Duran, Z. (2014). Malatya ve Elazığ illerinde yetiştirilen bazı üzüm çeşitlerinin organik asit, şeker ve fenolik madde bileşikleri ile antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya).

Elaltunkara, Z. (2018). Nar çekirdeği ve nar kabuğu tozunun probiyotik yoğurt üretiminde prebiyotik olarak kullanım olanaklarının araştırılması. Doktora Tezi. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.

Elejalde, E., Villarán, M. C., Lopez-de-Armentia, I., Ramón, D., Murillo, R., & Alonso, R. M. (2022). Study of unpicked grapes valorization: A natural source of polyphenolic compounds and evaluation of their antioxidant capacity. *Resources*, 11(3), 33.

Eryılmaz, H. (2018). Farklı kefir kültürleri ve sütlerle elde edilen kefirlerin mineral içeriklerinin ve antioksidan özelliklerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. *Munzur Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tunceli*.

Esgin, Ö.ve Özçelik, A. (2021). 20-35 Yaş Arası Bireylerde Fonksiyonel Besinlere Yönelik Tutum, Davranış ve Bilgi Düzeyinin Değerlendirilmesi. *Ankara Sağlık Bilimleri Dergisi*, 10(2), 67-82.

Farag, M. A., Jomaa, S. A., Abd El-Wahed, A., & R. El-Seedi, H. (2020). The many faces of kefir fermented dairy products: Quality characteristics, flavour chemistry, nutritional value, health benefits, and safety. *Nutrients*, 12(2), 346.

G, Ak. (2018). Yenilebilir kıvamda üretilen meyveli kefirlerin fizikokimyasal, duyu ve mikrobiyolojik özellikleri. Yüksek Lisans Tezi. *Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya*.

Gölükçü, M., Tokgöz, H., & Çelikyurt, M. A. (2005). Nar Çekirdeğinin Bazı Özellikleri ve Nar Çekirdeği Yağının Yağ Asiti Bileşimi. *Derim*, 22(2), 33-40.

Göncü, B., Çelikel, A., Güler-Akın, M. B., & Serdar Akın, M. (2017). Some properties of kefir enriched with apple and lemon fiber. *Mljekarstvo: časopis za unapređenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 67(3), 208-216.

Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., & Jiang, Y. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition research*, 23(12), 1719-1726.

Gül, H., & Şen, H. (2017). Effects of pomegranate seed flour on dough rheology and bread quality. *CyTA-Journal of Food*, 15(4), 622-628.

Gülçin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of toxicology*, 94(3), 651-715.

Güler, A., & Turgut, D. Y. (2021). Fatty acids, phenolic compounds and antioxidant capacity of the seeds from nine grape cultivars (*Vitis vinifera* L.). *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 36(2), 116-125.

Güler, A., Candemir, A., Özaltın, K. E., Aşıklar, F. B., & Saygıç, S. (2022). Determination of Biochemical Characteristics, Antioxidant Activities, and Individual Phenolic Compounds of 13 Native Turkish Grape Juices. *Erwerbs-Obstbau*, 64(Suppl 1), 25-35.

Güneş, M. ve Gökgöz, M. (2024). *Vitis vinifera* vc. Delice meyvesi ve çekirdeğinin antioksidan özelliklerinin araştırılması. 13. *Uluslararası Bilimsel Çalışmalar Kongresi*, Sakarya, Türkiye, 27-28 Şubat.

Gürbüz, B., & Demirci, A. S. (2023). Probiotic yoghurt fortified with rosehip seed powder: Viability, physicochemical, and sensorial properties. *International Food Research Journal*, 30(5).

Benzer Gürel D., Ildız, M., Sabancı, S., Koca, N., Çağındı, Ö., & İçier, F. (2021). The Effect of Using Cow and Goat Milk on Antioxidant, Rheological and Sensory

Properties of Kefir. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 9(1), 7-14.

Gürsoy, O., Kocatürk, K., Güler Dal, H. Ö., Yakalı, H. N., & Yılmaz, Y. (2020). Physicochemical and rheological properties of commercial kefir drinks. *Akademik Gıda*, 18(4), 375-381.

Güzel Seydim, Z. Wyffels, J. T., Seydim, A. C., & Greene, A. K. (2005). Turkish kefir and kefir grains: microbial enumeration and electron microscobic observation. *International Journal of Dairy Technology*, 58(1), 25-29.

İlyasoğlu, H. (2014). Characterization of rosehip (*Rosa canina* L.) seed and seed oil. *International Journal of Food Properties*, 17(7), 1591-1598.

İrkin, R., Kızıl, M., Nevruz, C. İ. N., & Küçük, A. N. (2023). Meyve Atıklarının Besin Zenginleştirmede Kullanımı. *Sağlık Bilimlerinde Öncü ve Çağdaş Çalışmalar*, 805-836.

Kandyliari, A., Potsaki, P., Bousdouni, P., Kaloteraki, C., Christofilea, M., Almpounioti, K., ... & Koutelidakis, A. E. (2023). Development of Dairy Products Fortified with Plant Extracts: Antioxidant and Phenolic Content Characterization. *Antioxidants*, 12(2), 500.

Karaarslan, S. (2022). Türk Propolis Preparatlarının Kolon Kanseri Hücreleri (Caco-2) Hattında Sitotoksik ve Antioksidan Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. *Kırıkkale Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kırıkkale*.

Kaya, F. (2012). Menengiç tohumlarından yağ ekstraksiyonu şartlarının belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. *Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ*.

Kayode, O., Ohanaka, N. J., Kolawole, I. O., Afolabi, O. A., & Iyobhebhe, M. E. (2023). Reproductive health-promoting effects of functional foods. *Functional Foods in Health and Disease*, 13(9), 448-458.

Kezer, G. (2013). İnek ve keçi sütü karışımından yapılan kefirlerin fizikokimyasal, mikrobiyal ve duyuşal özellikleri üzerine yağ ikame maddelerinin etkisi. Yüksek Lisans Tezi *Öndokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun*.

Koca, I., Tekgüler, B., Yılmaz, V. A., Hasbay, I., & Koca, A. F. (2018). The use of grape, pomegranate and rosehip seed flours in Turkish noodle (erişte) production. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1), e13343.

Konuk, D., & Korel, F. (2015). Kurutma sıcaklığının üzüm çekirdeklerinin toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasitesi üzerine etkisi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*. 21(9).

Kotha, R. R., Tareq, F. S., Yildiz, E., & Luthria, D. L. (2022). Oxidative stress and antioxidants—A critical review on in vitro antioxidant assays. *Antioxidants*, 11(12), 2388.

Kukhtyn, M., Vichko, O., Horyuk, Y., Shved, O., & Novikov, V. (2018). Some probiotic characteristics of a fermented milk product based on microbiota of “Tibetan

kefir grains” cultivated in Ukrainian household. *Journal of food science and technology*, 55, 252-257.

Kulaksız Günaydı, Z. E., & Ayar, A. (2022). Phenolic compounds, amino acid profiles, and antibacterial properties of kefir prepared using freeze-dried *Arbutus unedo* L. and *Tamarindus indica* L. fruits and sweetened with stevia, monk fruit sweetener, and aspartame. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(8), e16767.

Ky, I., Lorrain, B., Kolbas, N., Crozier, A., & Teissedre, P. L. (2014). Wine by-products: Phenolic characterization and antioxidant activity evaluation of grapes and grape pomaces from six different French grape varieties. *Molecules*, 19(1), 482-506.

Lee, S. B., Cosmas, B., & Park, H. D. (2020). The antimutagenic and antioxidant activity of fermented milk supplemented with *Cudrania tricuspidata* powder. *Foods*, 9(12), 1762.

Li, H., Wang, X., Li, P., Li, Y., & Wang, H. (2008). Comparative study of antioxidant activity of grape (*Vitis vinifera*) seed powder assessed by different methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 16(6), 12.

Libudzisz, Z., & Piatkiewicz, A. (1990). Kefir production in Poland. *Dairy Industries International*, 55(7), 31-33.

Liu, J. R., Lin, Y. Y., Chen, M. J., Chen, L. J., & Lin, C. W. (2005). Antioxidative activities of kefir. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 18(4), 567-573.

Losada-Barreiro, S., Sezgin-Bayindir, Z., Paiva-Martins, F., & Bravo-Díaz, C. (2022). Biochemistry of antioxidants: Mechanisms and pharmaceutical applications. *Biomedicines*, 10(12), 3051.

Macit, M., Demirel, M., Bakırcı, Y., & Erdoğan, S. (2011). Kuşburnu Çekirdeğinin Rumende Parçalanabilirliğinin Naylon Kese Yöntemi ile Belirlenmesi/Determination of Rumen Degradability of Rosa Canina Seed by Nylon-Bag Technique. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 34(3), 233-237.

Manconi, M., Marongiu, F., Castangia, I., Manca, M. L., Caddeo, C., Tuberoso, C. I. G., ... & Fadda, A. M. (2016). Polymer-associated liposomes for the oral delivery of grape pomace extract. *Colloids and surfaces B: biointerfaces*, 146, 910-917.

M'hir, S., Ziadi, M., Mejri, A., & Ayed, L. (2023). Mixture of whey-milk and palm sap for novel kefir beverage using simplex-centroid mixture design. *Kuwait Journal of Science*, 50(4), 690-696.

Milala, J., Kosmala, M., Sójka, M., Kołodziejczyk, K., Klewicki, R., Król, M., ... & Rój, E. (2023). *Rosa rugosa* Low Caloric Fiber Protein Preparations Rich in Antioxidant Flavanols and Ellagitannins. *Molecules*, 28(24), 8021.

Mortazavi, S. M., Jalali, H., & Ziaolhagh, S. (2021). Production of a probiotic camel milk enriched with pomegranate peel powder. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 16(6), 123-132.

Mutlu, B. M. (2002). Yağı alınmış, öğütülmüş üzüm çekirdeği ile diğer bazı ticari lif kaynaklarının fiziko kimyasal özelliklerinin karşılaştırılması Yüksek Lisans Tezi. *İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul*.

Mutluer, M. (2021). Havuç lifi ile zenginleştirilmiş kefirin bazı özellikleri. Doktora tezi. *Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa*.

Noğay, O. (2014). Farklı yöntemlerle elde edilen nar çekirdek tozlarının muffin kek kalite özelliklerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi. *Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli*.

Odabaşıoğlu, M. İ., & Gürsöz, S. (2020). Yarı Kurak İklim Koşullarında Farklı Anaçlar Üzerinde Yetiştirilen Sofralık Üzüm Çeşitlerinin Bazı Çekirdek Özellikleri ile Yağ Asidi Kompozisyonlarının Belirlenmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 7(1), 73-86.

Okcu, Z., Kerse, S., & Yavuz, Y. (2017). Kuşburnu meyvesinin değişik ürünlere işlenirken besinsel kalitesindeki değişim. *Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitü Dergisi*, 46(1), 89-96.

Özcan, T., Şahin, S., Akpınar-Bayizit, A., & Yılmaz-Ersan, L. (2019). Assessment of antioxidant capacity by method comparison and amino acid characterisation in buffalo milk kefir. *International Journal of Dairy Technology*, 72(1), 65-73.

Özçelik, F., Akan, E., & Kinik, O. (2021). Use of Cornelian cherry, hawthorn, red plum, roship and pomegranate juices in the production of water kefir beverages. *Food Bioscience*, 42, 101219.

Özdil, K. M. (2018). Endemik Centaurea fenclii reichardt türünün antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesi. Yüksek Lisans Tezi, *Kırıkkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kırıkkale*.

Papademas, P., Ioannou, I., & Aspri, M. (2023). Enrichment of Fermented Milk Drinks with Mespilus germanica and Crataegus azarolus Fruit Extracts. *Applied Sciences*, 13(16), 9243.

Pedriali, C. A., Fernandes, A. U., Santos, P. A. D., Silva, M. M. D., Severino, D., & Silva, M. B. D. (2010). Antioxidant activity, cito-and phototoxicity of pomegranate (Punica granatum L.) seed pulp extract. *Food Science and Technology*, 30, 1017-1021.

Perna, A., Simonetti, A., & Gambacorta, E. (2019). Phenolic content and antioxidant activity of donkey milk kefir fortified with sulla honey and rosemary essential oil during refrigerated storage. *International Journal of Dairy Technology*, 72(1), 74-81.

Saadi, L. O., Zaidi, F., Oomah, B. D., Haros, M., Yebra, M. J., & Hosseinian, F. (2017). Pulse ingredients supplementation affects kefir quality and antioxidant capacity during storage. *LWT*, 86, 619-626.

Sargenti, S. R., & Vichnewski, W. (2000). Sonication and liquid chromatography as a rapid technique for extraction and fractionation of plant material. *Phytochemical*

*Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 11(2), 69-73.

Setiyoningrum, F., Priadi, G., & Afiati, F. (2019, November). Supplementation of ginger and cinnamon extract into goat milk kefir. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2175, No. 1). AIP Publishing.

Shiby, V. K., & Mishra, H. N. (2013). Fermented milks and milk products as functional foods—A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 53(5), 482-496.

Silici, S., Güçlü, B. K., & Kanber, K. (2011). Yumurtacı Damızlık Bildircin (*Coturnix Coturnix Japonica*) Yemlerine Öğütülmüş Üzüm Çekirdeği İlavesinin Verim Ve Kuluçka Performansı İle Yumurta Kalitesine Etkisi. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 20(1), 68-76.

Silva, J. C. D. M., Santana, R. V., Almeida, A. B. D., Takeuchi, K. P., & Egea, M. B. (2021). Changes in the Chemical, Technological, and Microbiological Properties of Kefir-Fermented Soymilk after Supplementation with Inulin and *Acrocomia aculeata* Pulp. *Applied Sciences*, 11(12), 5575.

Taşdemir, A. (2017). Probiyotikler, prebiyotikler, sinbiyotikler. *Sağlık Akademisi Kastamonu*, 2(1), 71-88.

Tian, S., Shi, Y., Zhou, X., Ge, L., & Upur, H. (2011). Total polyphenolic (flavonoids) content and antioxidant capacity of different *Ziziphora clinopodioides* Lam. extracts. *Pharmacognosy magazine*, 7(25), 65.

Tuna, H. E. (2015). Gıda atığı olan vişne, nar, kabak ve kayısı çekirdeklerinin kek üretiminde değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. *İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul*.

Türk Gıda Kodeksi (2022). Tarım Tarım ve Orman Bakanlığından: Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği(Tebliğ No: 2022/44).<https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2022/11/20221130-5.htm>

Ünal M., Gundesli, M. A., Ercisli, S., Kupe, M., Assouguem, A., Ullah, R., ... & Najda, A. (2022). Cultivar differences on nutraceuticals of grape juices and seeds. *Horticulturae*, 8(3), 267.

Vicenssuto, G. M., & de Castro, R. J. S. (2020). Development of a novel probiotic milk product with enhanced antioxidant properties using mango peel as a fermentation substrate. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24, 101564.

Vimercati, W. C., da Silva Araújo, C., Macedo, L. L., Fonseca, H. C., Guimarães, J. S., de Abreu, L. R., & Pinto, S. M. (2020). Physicochemical, rheological, microbiological and sensory properties of newly developed coffee flavored kefir. *Lwt*, 123, 109069.

Yamini, S., Paswan, V. K., Shehata, A. M., Choubey, M., Bunkar, D. S., & Venkatesh, V. (2023). Pomegranate (*Punica granatum*L.) seed: A review on

nutritional profile, functional food properties, health benefits, and safety aspects. *Annals of Phytomedicine*, 12(1), 93-104.

Yırtıcı, Ü. (2019). Centaurea fenzlii reichardt özütünün antioksidan özellikleri ve enzim inhibisyon etkisinin belirlenmesi. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1), 66-73.

Yılmaz-Ersan, L., Özcan, T., Usta-Görgün, B., Ciniviz, M., Keser, G., Bengü, I., & Keser, R. A. (2024). Bioaccessibility and antioxidant capacity of kefir-based smoothies fortified with kale and spinach after in vitro gastrointestinal digestion. *Food Science & Nutrition*.

Yılmaz-Ersan, L., T., Akpınar-Bayizit, A., &Şahin, S. (2018). Comparison of antioxidant capacity of cow and ewe milk kefirs. *Journal of dairy science*, 101(5), 3788-3798.

Yirmibeşoğlu, S. S. S., & Öztürk, B. E. T. (2020). Comparing microbiological profiles, bioactivities, and physicochemical and sensoryproperties of donkey milk kefir and cow milk kefir. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 44(4), 774-781.

Yüce-tepe, M. (2020). Nar Çekirdeğinden Protein Tozu Üretimi ve Nar Çekirdeği Yağının Mikroenkapsülasyonunda Kullanımı. Yüksek Lisans Tezi. *Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa*.

